



RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN



PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE

Pardubice, 19. - 20. března 2025

www.rank.cz



NGS
GEEKS
DIVISION

Realtime analýza nukleových kyselin



GridION

Stolní sekvenátor s integrovanou výpočetní silou umožňující komplexní real-time analýzu až v 5 nezávislých experimentech
Ideální pro rychlou diagnostiku nebo cílené sekvenování



PromethION 2 Integrated

Špičkové all-in-one sekvenační řešení s integrovaným výkonným GPU pro real-time basecalling a analýzu dat
Dvě nezávislé pozice pro flowcellu typu PromethION, každá s kapacitou přes 100Gb
Vhodný i pro celogenomové sekvenování



MIC

RT PCR Cycler

Rychlý výkon bez kompromisů na výsledcích

Okamžitá zpětná vazba a kompletní analýza kdykoliv

35 cyklů pod 25 minut



Oficiální distributor

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

Černokostecká 616/143, Praha 10, 108 00 ADRESA

+420 224 810 196 TELEFON

ita@ita-intertact.com EMAIL

www.ita-intertact.com WEB



RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN

PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE RANK 2025

RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN
MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÝMI TECHNIKAMI

19. a 20. března 2025
v prostorách hotelu Zlatá Štika, Pardubice

ISBN 978-80-87436-24-0

OBSAH

Zajištění konference 4

Partneři konference 5

PROGRAM KONFERENCE

Celkový program konference 7

SBORNÍK

Abstrakty přednášek 13

Abstrakty posterů 45

Firemní inzerce 69



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

VĚDECKÝ VÝBOR

Prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.

RNDr. Pavel Hložek

Mgr. Martin Kašný, Ph.D.

Doc. RNDr. Martin Pešta, Ph.D.

Mgr. Jan Richter, Ph.D.

ORGANIZAČNÍ VÝBOR

Ing. František Štumr, Ph.D. - předseda

Mgr. Jitka Beerová

Ján Korecký

Mgr. Ondřej Morávek

Ing. Hana Skalická

Ladislava Štefčková

Ing. Barbara Štumrová

Ing. Šárka Vondrová

GENERÁLNÍ PARTNER KONFERENCE



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

Černokostelecká 616, 108 00 Praha

PARTNEŘI KONFERENCE



BioTech a.s.

Služeb 4, 108 00 Praha 10



ELISABETH PHARMACON, spol. s r. o.

Rokycanova 4437/5, 615 00 Brno

GeneProof®

Molecular diagnostics for your routine

GeneProof, a.s.

Vídeňská 101/119, Brno 619 00



STAPRO s. r. o.

Pernštýnské nám. 51, 530 02 Pardubice

VYSTAVOVATELÉ

Allgene s.r.o.

Altium International s.r.o.

ASCO-MED, spol. s r. o.

BAG Diagnostics GmbH, organizační složka

BIOMEDICA ČR, s.r.o.

BioVendor - Laboratorní medicína a.s.

Carolina Biosystems, s.r.o.

DiaSorin Czech s.r.o.

DISPOLAB, spol.s.r.o.

DYNEX TECHNOLOGIES, spol. s r.o.

GENERI BIOTECH s.r.o.

Institute of Applied Biotechnologies a.s.

Life M s.r.o.

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

MEDISTA spol.s r.o.

SVEN BioLabs, s.r.o

PROGRAM KONFERENCE



STŘEDA 19. BŘEZNA 2025

- 10:00 – 12:30 **Registrace**
- 13:00 – 13:15 **Zahájení**
- 13:15 – 14:15 **Úvodní sdělení**
Prof. RNDr. Jan Konvalinka, CSc.
Chemie proti virům: vývoj virostatik proti HIV, Ebolě, HCV a koronaviru (45 + 15 min.)
- 14:15 – 14:30 **Přestávka**
- 14:30 – 15:40 **DNA - zapřít se nemůžeme**
předsedající: Doc. RNDr. Martin Pešta, Ph.D.
Prof. Mgr. Jiří Drábek, Ph.D.
Otec blejsklí patou: určování otcovství včera a dnes (25 + 5 min.)
Mgr. Lucie Kotková
Forenzní fenotypování DNA: potenciál a vlastní zkušenosti (15 + 5 min.)
Mgr. Zdenka Dudová, Ph.D.
Sekundární využití zdravotních dat (15 + 5 min.)
- 15:40 – 15:55 **Přestávka**
- 15:55 – 17:15 **Ve všech zeměpisných délkách i šířkách**
předsedající: RNDr. Pavel Hložek
MUDr. Hana Orliková
Epidemiologická situace ve výskytu tropických onemocnění přenášených vektory v Evropě a ČR (15 + 5 min.)
MUDr. Hana Zelená, Ph.D.
Současné možnosti a úskalí laboratorní diagnostiky virových infekcí přenášených vektory (15 + 5 min.)
Mgr. Jan Kollár, Ph.D.
DNA, okno do světa antarktických mikrobu (15 + 5 min.)
Mgr. Tomáš Strečanský
MinION as a Point-of-Care Test: Development of Rapid Identification of Pathogens and their AMR based on Nanopore Sequencing (15 + 5 min.)
- 17:15 – 17:30 **Přestávka**

- 17:30 – 18:30 **Hledání cest**
předsedající: RNDr. Martin Kašný, Ph.D.
- Mgr. Ema Ruzzová, Ph.D.**
Molekulárně biologické stanovení stavu HER2 pomocí přístupů jak na úrovni DNA tak RNA. Konkordanční studie s hodnocením dle guidelines (IHC/FISH). (10 + 5 min.)
- Mgr. Vilma Hofmanová**
Nádory slinivky břišní, populace v riziku a možné řešení pro budoucí screening v ČR (10 + 5 min.)
- Lukáš Valihrach, Ph.D.**
Současné trendy v transkriptomové analýze (10 + 5 min.)
- Ing. Jakub Vašek, Ph.D.**
Využití masivního paralelního sekvenování pro identifikaci jedlého hmyzu v potravinách (10 + 5 min.)
- 19:30 – 23:00 **Společenský večer a posterová sekce**

ČTVRTEK 20. BŘEZNA 2025

- 8:30 – 09:35 **Nejsme tu sami**
předsedající: Mgr. Jan Richter, Ph.D.
- Mgr. Petr Králík, Ph.D.**
Lze vůbec někdy dohnat a předejnat Červenou královnu? (15 + 5 min.)
- Mgr. Radka Dziedzinská, Ph.D.**
Zoonotická agens u divokých savců v urbanizovaných oblastech (10 + 5 min.)
- Doc. Dr. Ing. Pavel Vejl**
Multiplexové end-point PCR markery určené pro autentizaci potravin a krmiv obsahujících faremně chované druhy hmyzu (10 + 5 min.)
- Mgr. Petra Vašíčková, Ph.D.**
Divočina ve městě: Co nám přináší nečekání sousedé? (10 + 5 min.)
- 09:35 – 09:50 **Přestávka**

- 09:50 – 11:05 **Infekcím navzdory**
předsedající: RNDr. Pavel Hložek
Prof. RNDr. Omar Šerý, Ph.D.
Co víme o putování koronaviru SARS-CoV-2 lidským tělem
z pitevních nálezů: mozek a srdce (25 + 5 min.)
Mgr. Pavel Trubač
PCR detekce bakteriálních původců atypických
pneumonií (15 + 5 min.)
Bc. Sarah Sýkorová
Spôsoby stanovenia antimikrobiálnej rezistencie:
Metódy a interpretácia výsledkov (15 + 5 min.)
- 11:00 – 11:15 **Přestávka**
- 11:15 – 12:00 **DNA - vhlad do budoucího osudu**
předsedající: Doc. RNDr. Martin Pešta, Ph.D.
Mgr. Kateřina Zettlová
Předoperační diagnostika FCD pacientů pomocí
změn metylačních markerů
(představení výzkumného projektu) (10 + 5 min.)
RNDr. Martina Hajdušková, Ph.D.
Patogenní či nepatogenní - to je, oč tu běží (10 + 5 min.)
RNDr. Hana Kučerová, Ph.D.
Aktuální trendy v prenatalní diagnostice v ČR (10 + 5 min.)
- 12:00 – 12:30 **Vyhodnocení soutěží, 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. 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. Agáta Čermáková

Ing. Eliška Čermáková, Ph.D.

RNDr. Kateřina Houfková, Ph.D.

Mgr. Kristýna Janoušková

Ing. Kristýna Kliková

Ing. Henrietta Ottová

NOMINOVANÍ AUTOŘI - PŘEDNÁŠKY

Mgr. Vilma Hofmanová

Mgr. Jan Kollár, Ph.D.

Mgr. Lucie Kotková


Mgr. Tomáš Strečanský

Bc. Sarah Sýkorová

Mgr. Kateřina Zettlová

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.....
2. DNA - zapřít se nemůžeme
3. Ve všech zeměpisných délkách i šířkách
4. Hledání cest
5. Nejsme tu sami
6. Infekcím navzdory.....
7. DNA - vhléd do budoucího osudu

Prof. RNDr. Jan Konvalinka, CSc.

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.
Flemingovo náměstí 542/2
160 00 Praha 6

tel: +420 220 183 333
e-mail: jan.konvalinka@uochb.cas.cz

Chemie proti virům: vývoj virostatik proti HIV, Ebole, HCV a koronaviru

Konvalinka J.
ÚOCHB AV ČR, v.v.i.

Ústav organické chemie a biochemie (ÚOCHB) je přední české vědecké pracoviště, které se významně podílí na vývoji léků proti různým onemocněním, včetně virů. V oblasti vývoje virostatik se ÚOCHB zaměřuje na několik klíčových oblastí:

1. Výzkum a vývoj nových antivirotik
2. Studium mechanismů účinku virů
3. Strukturální biologie
4. Testování a preklinické studie

Konkrétní příklady výzkumu ÚOCHB v oblasti virostatik:

- HIV: ÚOCHB se dlouhodobě zabývá výzkumem a vývojem nových inhibitorů HIV proteázy, což je klíčový enzym pro replikaci viru.
- Ebola: Vědci z ÚOCHB se podíleli na vývoji experimentálních léků proti viru Ebola, které se ukázaly jako účinné v klinických studiích.
- HCV: ÚOCHB se zaměřuje na výzkum a vývoj nových inhibitorů HCV proteázy a NS5A proteinu, což jsou klíčové cíle pro léčbu hepatitidy C.
- Koronavirus: V reakci na pandemii COVID-19 se ÚOCHB aktivně zapojil do výzkumu a vývoje léků proti SARS-CoV-2. Vědci se zaměřují na vývoj inhibitorů virové proteázy a RNA dependentní RNA polymerázy.

Přednáška bude prezentovat aktuální stav řešení této problematiky v ÚOCHB i ve světě.

Prof. Mgr. Jiří Drábek, PhD.

Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc
Hněvotínská 5
779 00 Olomouc

tel: +420 776 150 344

e-mail: jiri_drabek@seznam.cz

Otec blejskl patou: určování otcovství včera a dnes

Drábek, J.

*Laboratoř experimentální medicíny, Ústav molekulární a translační medicíny,
Lékařská fakulta Univerzity Palackého*

Laboratoř molekulární medicíny, Ústav klinické a molekulární patologie, Fakultní nemocnice Olomouc

Zatímco mateřství má rodina a okolní společnost možnost sledovat již v průběhu těhotenství matky dle růstu objemu jejího břicha a potom stvrdit fyziologickým aktem porodu, otcovství zůstává do určité míry imaginární. Pro mnohé muže bylo a doposud je důležité, jestli byli zploditeli dítěte, které berou za své. Nicméně v průběhu staletí se na otcovství nahlíželo rozdílnými pohledy: pohledem biologickým, právním, sociálním, kulturním a nyní i politickým. Přestože by ideální situací bylo, kdyby se všechny pohledy střetly, doposud se to stávalo zřídka. Převažoval pohled tu sociální, tu kulturní. Přitom biologické přístupy se používají už drahnou řádku let. Přednáška ve vymezeném čase vybírá zajímavé přístupy k určování otcovství v historii, aby se dopracovala k nynějšímu state-of-the-art, kdy výsledky vyšetření, ať bodových variant nebo délkových variant na DNA úrovni, jsou analyzovány bayesovským způsobem a poskytnuty soudu nebo jinému zadavateli ve formě věrohodnostního poměru. Finální verdikt ohledně otcovství zůstává nadále na zadavateli vyšetření. Dlužno podotknout, že dosáhnout 100% jistoty je z principu nemožné, přestože hummelovské predikáty „otcovství je prakticky vyloučeno“, popřípadě „otcovství je prakticky prokázáno“ mohou soudní znalci ve většině forenzních případů beze strachu použít. Poděkování

Tato přednáška vznikla v rámci těchto projektů: SALVAGE, reg. č. CZ.02.01.01/00/22_008/0004644, podpořeného z OP JAK, se spolufinancováním z EU a Státního rozpočtu; projekt Národní ústav pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU; projekt velkých výzkumných infrastruktur BMBRI.cz, reg. č. LM2023033; projekt ENOCH (reg.č.: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000868), podpořený z Evropského fondu pro regionální rozvoj; IGA LF UP 2024_007.

Seznam základní literatury

- 1) Brenner CH. Symbolic kinship program. *Genetics*. 1997;145(2):535-42.
- 2) Drabek J. Validation of likelihood ratio calculating software for parentage and kinship in accordance with ISO17025:2005 requirements - prednaska na konferenci Forensica 2008, Praha, 24.4.2008 aš 26.4.2008. 2008.

- 3) Drabek J, Cereda G. Interpreting noninvasive prenatal paternity tests. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*. 2014;16(10):793-4.
- 4) Drabek J. Interpretace DNA profilu při urcování otcovství a příbuznosti. Simkova H, Zidkova A, editors. Brno: Tribun EU, s.r.o.; 2011. 1-95 p.
- 5) Drabek J. Vyjádření síly expertního důkazu při urcování otcovství [Way to express an expert evidence in paternity testing]. *Casopis Lékařů Českých*. 2002;141(12):371-5.
- 6) Essen-Moller E. Die Beweiskraft der Ähnlichkeit im Vaterschaftsnachweis - Theoretische Grundlagen [The evidential value of similarity as proof of paternity, fundamental principles]. *Mitteilungen der Anthropologischen Gesellschaft*. 1938;68:9-53.
- 7) Egeland T, Mostad PF, Mevag B, Stenersen M. Beyond traditional paternity and identification cases. Selecting the most probable pedigree. *Forensic Science International*. 2000;110(1):47-59.
- 8) Fung WK. User-friendly programs for easy calculations in paternity testing and kinship determinations. *Forensic Science International*. 2003;136(1-3):22-34.
- 9) Gjertson DW, Brenner CH, Baur MP, Carracedo A, Guidet F, Luque JA, et al. ISFG: Recommendations on biostatistics in paternity testing. *Forensic Science International: Genetics*. 2007;1(3-4):223-31.
- 10) Lenhart K, Luks A, Bartova A, Lenhartova E, Jaros A. Determination of HLA phenotypes of relatives - a contribution to the assessment of paternity probability. I. *Acta Universitatis Palackianae Olomucensis Facultatis Medicae*. 1988;119:223-8.

Mgr. Lucie Kotková

Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta Univerzity Palackého
Hněvotínská 5
77900 Olomouc

tel: +420 605 882 878

e-mail: lucie.kotkova01@upol.cz

Forenzní fenotypování DNA: potenciál a vlastní zkušenosti

Kotková L, Drábek J

*Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta Univerzity Palackého
a Fakultní nemocnice Olomouc*

Tradiční role analýzy DNA ve forenzním prostředí je komparativní a v trestním řízení figuruje jako důkazní materiál. Pokud profil DNA zajištěný na místě činu neodpovídá profilu žádného z podezřelých ani žádnému z profilů v policejní databázi, alternativou k plošnému testování DNA může být fenotypování DNA stopy. Tento přístup umožňuje predikci různých fenotypových charakteristik zůstavitele stopy na základě testované DNA.

Nejjednodušším fenotypovacím nástrojem je určení pohlaví a biogeografického původu. Na základě analýzy vybraných SNP je možné s danou mírou pravděpodobnosti určit také barvu vlasů, kůže a očí zájmového jedince.

Predikce mnoha dalších fenotypových vlastností (výška, váha, fyzická kondice, rysy tváře) je v současné době otázkou aktivního výzkumu a validace, stejně jako odhalení zlovyků jako je kouření, konzumace alkoholu nebo návykových látek.

Všechny tyto informace mají potenciál zúžit skupinu osob, mezi kterými je nutné hledat zůstavitele stopy.

Na našem pracovišti se zabýváme predikcí věku na základě změn metylace DNA vybraných CpG oblastí genomu, ke kterým dochází přirozeně v průběhu života. Na rozdíl od velkých predikčních modelů, obvykle označovaných jako epigenetické hodiny (S. Horvath, 2013; G. Hannum, 2013), schopných určit takzvaný biologický věk, jsme se zaměřili na CpG oblasti, u kterých je změna metylace spojena výhradně s chronologickým věkem, bez vlivu faktorů životního stylu a zdravotního stavu. Zároveň bylo nutné vytvořit model analyzující méně CpG oblastí, protože mezi hlavní omezení forenzních metod patří nízká kvalita i kvantita DNA.

Vzhledem k tkáňové specifitě DNA metylace bylo nutné vyvinout specifické modely pro různé zdroje DNA. Námi vyvinutý predikční model MethAge je v současné době vhodný pro analýzu DNA ze vzorků krve a ejakulátu.

Varianta pro vzorky krve analyzuje 7 CpG v 5 genech a umožňuje věkovou predikci s průměrnou absolutní odchylkou 3,14 roku, zjištěnou na nezávislé skupině validačních vzorků. Při vývoji modelu vhodného pro analýzu DNA ze vzorků ejakulátu je nutné se vyrovnat s několika dodatečnými překážkami, mezi které patří zejména nízký počet vzorků a dobrovolných dárců, tkáňová heterogenita a používání různých aditiv s potenciálem ovlivnit metylační profil při skladování vzorků. Varianta modelu pro ejakulát v současné době prochá-

zí validací, ale průměrná absolutní odchylka trénovací a testovací sady vzorků je 2,6 roku. Tato práce byla financována projektem Národní ústav pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU a Grantovou agenturou České republiky GAČR (21-00902S). Zároveň byla práce podpořena Českým národním uzlem Evropské infrastruktury pro translační medicínu (<https://starfos.tacr.cz/cs/projekty/LM2023053>), LM2023033 BBMRI.CZ, TN02000109 a IGA LF UP 2025_006. Vzorky byly poskytnuty bankou biologického materiálu.

Mgr. Zdenka Dudová, Ph.D.

Masarykova univerzita; CESNET; BBMRI.cz
 Šumavská 525/33
 602 00 Brno

tel: +420 776 097 561
 e-mail: dudova@ics.muni.cz

Sekundární využití zdravotních dat

Dudová Z.^{1,2,3}, Juráček J.¹, Gütter Z.⁴

¹ Masarykova univerzita, Ústav výpočetní techniky; Šumavská 525/33, 602 00 Brno

² CESNET, odd. datových úložišť; Šumavská 15, 602 00 Brno

³ Masarykův onkologický ústav, Banka biologického materiálu; Žlutý kopec 7, 656 53 Brno

⁴ Ministerstvo zdravotnictví; odbor IKT, Palackého náměstí 375/4, 128 00 Praha 2

Evropský prostor pro zdravotní data (European Health Data Space, EHDS1) představuje významnou iniciativu Evropské unie zaměřenou na sdílení elektronických zdravotních dat (včetně genomických dat) pro efektivnější léčbu pacientů a zpřístupnění dat pro jiné účely včetně vědeckého výzkumu. EHDS umožní jak klinickým pracovištím, tak vědecké obci bezpečný a důvěryhodný přístup k elektronickým zdravotním datům s respektem k GDPR a právům duševního vlastnictví a zachovávání obchodních tajemství, což je zásadní pro vytvoření důvěry u fyzických osob a dalších subjektů v nový systém při jeho rutinním provozu, který je zaměřen na podporu výzkumu, inovací a též zlepšení poskytování zdravotní péče dalším osobám a tvorbu politik.

Tento příspěvek se zaměřuje na vybrané aspekty implementace nařízení o EHDS a koncepci FAIR principů² (Findable, Accessible, Interoperable, Reusable) v rámci životního cyklu citlivých dat. Dále představuje vznikající Národní repozitářovou platformu³ (NRP) a Národní datovou infrastrukturu (NDI) v České republice. V kontextu rutinní analýzy nukleových kyselin, zejména lidských genomických dat, je klíčové zajistit, aby tato data byla spravována v souladu s legislativními požadavky na ochranu osobních údajů a bezpečnost dat, a zároveň byla dostatečně popsána a připravena pro sekundární využití.

Cílem tohoto příspěvku je poskytnout přehled o současném stavu a budoucích plánech v oblasti správy citlivých (zdravotních) dat v ČR a EU, a zdůraznit význam prezentovaných iniciativ pro komunitu pracovišť zabývajících se analýzou nukleových kyselin.

Prezentovaná témata jsou součástí projektů EHDS2 Pilot (101079839), TEHDAS2 (101176773) a Národní repozitářová platforma pro výzkumná data (CZ.02.01.01/00/23_014/0008787).

Literatura

1. <https://data.consilium.europa.eu/doc/document/PE-76-2024-INIT/en/pdf>
2. <https://www.go-fair.org/fair-principles/>
3. <https://www.eosc.cz/projekty/narodni-repozitarova-platforma-pro-vyzkumna-data-os-i-nrp/nrp>

MUDr. Hana Orlíková

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

tel: +420 267 082 980
e-mail: hana.orlikova@szu.cz

Epidemiologická situace ve výskytu tropických onemocnění přenášených vektory v Evropě a ČR

Orlíková H.

Oddělení epidemiologie infekčních nemocí, CEM, Státní zdravotní ústav

V posledních letech sledujeme narůstající trend počtu importovaných, ale i autochtonních případů onemocnění s místním přenosem na území Evropy, vyskytujících se původně v tropických a subtropických oblastech na jiných kontinentech světa. Jedná se převážně o nemoci přenášené vektory.

Invasivní druhy komárů rodu *Aedes*, *Ae. aegypti* a zejména *Ae. albopictus* se v souvislosti se změnami klimatu velmi rychle rozšiřují v některých oblastech zemí jižní i střední Evropy. Při importu původců nákaz do těchto oblastí došlo k následnému místnímu přenosu horečky dengue (původce *Orthoflavivirus*) a Chikungunya (původce *Alphavirus*, čeleď *Togaviridae*). Velká epidemie horečky dengue s téměř 2300 nemocnými postihla v letech 2012-2013 ostrov Madeira, kde se usadil *Ae. aegypti*. Od roku 2010, kdy byla hlášena ohniska dengue v Chorvatsku a Francii, se zvyšuje počet onemocnění i lokalit s místním přenosem dengue komárem *Ae. albopictus* ve Francii, Itálii a ve Španělsku a v letech 2022-2024 byly hlášeny v Evropě již desítky až stovky autochtonních případů dengue. Lokální epidemie horečky Chikungunya se stovkami případů byly v Itálii v letech 2007 a 2017 a v některých dalších letech byly menší výskyty v různých lokalitách Francie. Existuje potenciál pro šíření i jiných nákaz přenášených invazivními komáry *Aedes* v Evropě, v ČR byli komáři *Ae. albopictus* opakovaně zachyceni podél dálnic.

Stoupající trend výskytu pozorujeme i u infekcí, přenášených převážně komáry rodu *Culex* (zejména *Cx. pipiens*, *Cx. modestus*), kteří se vyskytují běžně na našem území. Jedná se o flavivirové náказы, západonilskou horečku (původce *West-Nile virus* – WNV) a Usutu (původce *Usutu virus* – USUV). Existují nepřímé i přímé důkazy cirkulace WNV na území ČR, nejvíce na jižní Moravě, u ptáků, koní, komárů a osob. U lidí byla hlášena autochtonní WNV infekce na severní Moravě v roce 2013, dále několik potvrzených případů neuroinvasivní formy západonilské horečky u lidí s místním přenosem na jižní Moravě, pět případů WNV infekce v roce 2018, jeden v roce 2019 a dva v roce 2024. Sporadické případy náказы USUV u lidí byly diagnostikovány v roce 2018 a v roce 2024. Každoročně se západonilská horečka vyskytuje poměrně hojně v některých oblastech jižní a střední Evropy, v roce 2024 bylo hlášeno 1436 případů onemocnění způsobených WNV s místním přenosem v EU/EHP.

K tropickým nemocem přenášeným vektory patří Krymsko-konžská haemorhagická horečka - CCHF (původce *Orthonairovirus*), s nákazou primárně přisátím klíštět *Hyalomma* s možností sekundárního mezilidského přenosu kontaktem s tělními tekutinami nemoc-

ného. V ČR se CCHF nevyskytuje a ze zemí EU byly hlášeny případy ze Španělska, Portugalska a Bulharska, a dalších Balkánských zemí.

Místní přenos malárie (původci prvoci rodu Plasmodium) na území kontinentální Evropy se uskutečňuje jen výjimečně pouze v souvislosti s importovanými případy malárie u cestovatelů a migrantů v některých oblastech s přítomností přenašečů komárů Anopheles. Byl zaznamenán nozokomiální přenos malárie ve zdravotnickém zařízení, jsou známy případy letištní malárie.

V rámci evropského systému surveillance jsou hlášeny i importované infekční nemoci ze zemí celého světa. Kromě výše uvedených nálezů byly do EU i ČR importovány případy onemocnění Zika (původce flavivirus Zika), s rizikem závažných poškození plodu u těhotných žen a kromě přenosu nákazy komáry Aedes s možností sexuálního přenosu. V roce 2018 byl v ČR hlášen případ žluté zimnice (původce Flavivirus) importovaný z Brazílie, kde nákazu přenáší Ae. aegypti. V roce 2024 v letním období bylo importováno z Kuby a Brazílie do zemí EU/EHP 41 případů onemocnění Oropouche (původce Orthobunyavirus, séroskupina Simbu), hlavním přenašečem je pakomárec, tiplík Culicoides parensis.

Monitorování arbovirových nálezů vyžaduje komplexní surveillance, opatření zahrnují bezpečnost krve. Před cestou do endemických zemí je doporučeno očkování proti žluté zimnici a dengue, antimalarická profylaxe a individuální ochrana proti poštípání komáry či přisátí klíštěte. Repelenty s účinnými látkami (DEET, IR 3535 nebo Icaridin), vhodný oděv, zabezpečení obydlí před vniknutím komárů, mohou snížit riziko nákazy.

MUDr. Hana Zelená, Ph.D.

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

tel.: +420 606 738 322
e-mail: hana.zelena@zuova.cz

Současné možnosti a úskalí laboratorní diagnostiky virových infekcí přenášených vektory

Zelená H.

NRL pro arboviry, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

Na celém světě je známo více než 300 druhů komárů, přes 100 druhů klíšťat a 25 druhů flebotomů (ang. sandfly) přenášejících virové infekce. Souhrnně se viry přenášené členovci označují termínem arboviry a zahrnují přes 500 virových species náležejících do několika čeledí, z nichž přibližně 150 vyvolává lidská či zvířecí onemocnění. Nejdůležitější původci liských onemocnění patří do čeledí Flaviviridae, Phenuiviridae a Togaviridae. Klinické projevy těchto infekcí jsou rozmanité: od bezpříznakových, přes nespecifická horečnatá onemocnění někdy doprovázená exantémem, artritidy, až po závažné až život ohrožující encefalidity a krvácivé horečky. Jejich výskyt se odvíjí od přítomnosti vektorů a z toho důvodu mají tyto infekce zejména v mírném a subtropickém podnebí sezónní výskyt.

Diagnostika onemocnění je relativně dostupná pro běžně se vyskytující arbovirové infekce, avšak pro vzácnější z nich je problémem nedostupnost komerčních diagnostik a málo klinických zkušeností. Pro diagnostiku lze využít přímé detekce antigenu nebo virové RNA metodou PCR, která je rychlá, citlivá a přesná, avšak komerční certifikované soupravy jsou k dispozici pouze pro některé z nich. Lze využít rovněž univerzálních primerů specifických pro celou virovou čeleď s následnou sekvenací, tyto metody jsou však zatíženy nižší citlivostí, delší dobou trvání a nedostatečnou standardizací, jelikož se jedná převážně o in house metody. Pouze na několika málo vysoce specializovaných pracovištích lze provést kultivaci virů na tkáňových kulturách nebo průkaz pomocí transmisní elektronové mikroskopie. Tyto postupy ovšem mají nízkou citlivost a v případě kultivace nesplňují požadavek na rychlou diagnostiku.

Další možností je průkaz specifických protilátek, zde ovšem narážíme na obtížnou interpretaci výsledků z důvodu velmi častých nespecifických a zkřížených reakcí v rámci jednotlivých čeledí, především u virů z čeledi Flaviviridae. Proto je vhodné diagnostiku doplnit také virusneutralizačním testem. Problém zkřížených reakcí nastává především u osob, které v minulosti prodělaly některou flavivirovou infekci nebo byly proti nim očkovány. Optimálním postupem ke stanovení správné diagnózy je kombinace přímých a nepřímých metod. V nejasných případech doporučujeme opakovaný odběr vzorků a paralelní vyšetření cílená na více možných patogenů na základě znalosti klinických příznaků, cestovatelské a vakcinační anamnézy.

Pro identifikaci případů a povinné hlášení do celostátních a evropských databází jsou pro laboratoře závazné definice případů (tzv. case definice) uvedené v dokumentu vydaném Evropskou komisí v roce 2018. V současné době se připravuje aktualizace tohoto dokumentu, protože kritéria zde uvedená jsou již nevyhovující a zastaralé.

V NRL pro arboviry bylo v r. 2024 vyšetřeno 3071 vzorků na průkaz protilátek proti arbovirům a 149 vzorků metodou PCR. Nejvíce vzorků bylo vyšetřeno na klíšťovou encefalitidu (1909), dále dengue (369), West Nile (240), Zika (202), chikungunya (157). Prokázaných případů splňujících kritéria evropské definice případu bylo: 69 klíšťová encefalitida, 47 dengue, 7 West Nile, 2 Zika, 2 chikungunya. Dále byly diagnostikovány 4 případy Toscana, 2 Usutu a 1 Ťahyňa. Jsou prezentovány vybrané kazuistiky z roku 2024.

1. Socha W, Kwasnik M et al. Vector-Borne Viral Diseases as a Current Threat for Human and Animal Health-One Health Perspective. *J Clin Med.* 2022 May 27;11(11):3026. doi: 10.3390/jcm11113026. PMID: 35683413; PMCID: PMC9181581.
2. Commission Implementing Decision (EU) 2018/945 of 22 June 2018 on the communicable diseases and related special health issues to be covered by epidemiological surveillance as well as relevant case definitions (Text with EEA relevance.) http://data.europa.eu/eli/dec_impl/2018/945/oj

Mgr. Jan Kollár, Ph.D.

Katedra ekologie PŘF UK
Viničná 7
128 44 Praha 2

tel: +420 731 905 056
e-mail: kollarjan@natur.cuni.cz

DNA, okno do světa antarktických mikrobů

Kollár J.

Katedra ekologie PŘF UK

Antarktida je jedním z nejizolovanějších, nejnehostinějších a nejméně dotčených míst naší planety. Přesto i ona se v důsledku globálních klimatických změn dramaticky proměňuje, a to včetně místní bioty, která je zcela dominantně mikrobiální. To představuje nejen mnoho výzev, ale i mnoho unikátních vědeckých příležitostí, které jinde nenajdeme. V této přehledové přednášce Vám stručně představím, jak při našem výzkumu antarktické mikrobiální diverzity využíváme (nejen) environmentální DNA a jaké vědecké hádanky nám to pomáhá rozluštit.

Mgr. Tomáš Strečanský

Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského
Sasinkova 4
811 08 Bratislava, Slovenská republika

tel: +421 910 691 095

e-mail: tomas.strecansky@imbm.sk

MinION as a Point-of-Care Test: Development of Rapid Identification of Pathogens and their AMR based on Nanopore Sequencing

Strečanský T.¹, Stoláriková D.^{1,3}, Hodosy J.^{1,2,3}

¹*Institute of Molecular Biomedicine, Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava, Slovakia*

²*Institute of Physiology, Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava, Slovakia*

³*BORY Hospital, Bratislava, Slovakia*

Background: Infections are one of the leading causes of death. The only effective treatment available is antibiotics. Microbiological cultures are the gold-standard diagnosis for identifying the causative pathogen and its anti-microbial resistance. However, sample-to-result time is 2-7 days, and cultures remain negative in 30-60% of cases. Therefore, there is an urgent need to develop new, more rapid, more sensitive diagnostic tests.

Methods: Firstly, we optimized microbial DNA whole-genome amplification by comparing multiple-displacement and rolling-circle amplification. Next, we optimized selective host depletion by comparing charge-based filtration and selective lysis depletion methods. Finally, we collected nine urine and four sputum samples from patients with respiratory or urinary infections admitted to the emergency department, processed them using previously optimized steps, and sequenced them on MinION Flongle flow cells using Rapid Sequencing Kit for 16 hours. Data were analyzed using MinKNOW, Epi2me Labs, and BugSeq.

Results: Charge-based filtration followed by rolling circle amplification are the most suitable for sample processing. Pathogens were identified in seven of the thirteen samples within 3-4 hours post-collection. However, 16 hours of sequencing were required for AMR gene detection, which was not achieved for all samples. Frozen samples exhibited a higher proportion of human reads. Increased genome coverage improved AMR gene detection.

Discussion: The nanopore-based method on Flongle flow cells enables rapid pathogen identification within 3-4 hours. While AMR gene detection requires longer sequencing times and was inconsistent, the rapid pathogen identification offers significant potential. Future studies with larger MinION flow cells and more clinical samples are necessary to validate this method's clinical utility for point-of-care diagnostics.

Sources of research support:

The project was supported by a grant from Slovak Research and Development Agency No.: APVV-20-0472 and APVV-21-0378.

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

Molekulárně biologické stanovení stavu HER2 pomocí přístupů jak na úrovni DNA tak RNA. Konkordanční studie s hodnocením dle guidelines (IHC/FISH).

Ruzsová, E., Špůrková Z., Vlčanová K., Khaznadar Z.

Laboratoř lékařské genetiky a Patologicko-anatomické oddělení jako součást komplementu Centrálních laboratoří FN Bulovka

Analýzy ISH a IHC pro hodnocení HER2 jsou nyní doporučovány Americkou společností klinických onkologů a CAP (College of American Pathologists), ale existuje stále více publikovaných studií popisujících alternativní diagnostiky na molekulární úrovni. Inspirováni těmito studiemi jsme zavedli laboratorně vyvinutý test (LDT) k analýze stavu HER2 validovaný nejen na sledování změn v genové expresi, ale také na úrovni určování počtu kopií genu. Výsledky byly hlášeny podle shodných výsledků jak ze stanovení DNA tak RNA. Získali jsme také plně konkordantní výsledky u deseti slepě analyzovaných vzorků pomocí kvantitativní metody PCR v reálném čase a IHC. Téma tohoto krátkého sdělení podporuje myšlenku, aby IVDR-certifikovaná metodika založená na profilu exprese genů nebo počtu kopií mohla být testována i v České republice, jako možná třetí alternativa k IHC a FISH/CISH technikám.

Podpořeno: 3. LF UK a Carolina Biosystems s.r.o.

Mgr. Vilma Hofmanová

Lipidica, a.s.
Pernštýnské náměstí 51
530 02, Pardubice

tel.: +420 737 916 739
e-mail: vilma.hofmanova@lipidica.cz

Nádory slinivky břišní, populace v riziku a možné řešení pro budoucí screening v ČR

Hofmanová V., Dolečková Z., Dosoudilová M., Kašparová K.

Lipidica, a.s.

Nádory slinivky břišní (PaC) představují závažné onkologické onemocnění s vysokou mortalitou a rostoucí incidencí. Převážnou většinu případů tvoří pankreatický duktální adenokarcinom (PDAC) charakterizovaný genetickou heterogenitou a častými mutacemi onkogenu KRAS. Rizikovými faktory pro vznik PaC jsou kouření, obezita, nezdravý životní styl, genetické predispozice a rodinná anamnéza. Mezi predispozice patří hereditární pankreatitida nebo familiární nádory pankreatu, mutace v genu STK11, CDKN2A, dále například mutace v genu APC, ATM, BRCA1, BRCA2 nebo PALB2.

Aktuální diagnostické metody zahrnují zobrazovací vyšetření. Biomarkery, přestože se zkoumají jako možný nástroj diagnostiky, zatím nejsou vhodné pro rutinní screening kvůli omezené specifitě a senzitivitě. Oproti tomu lipidomická analýza představuje slibný přístup, založený na změnách koncentrací specifických lipidů v plazmě, které jsou charakteristické pro pacienty s PaC.

Společnost Lipidica, a.s. v současnosti realizuje multicentrickou studii funkční způsobilosti lipidomického testu a softwaru Lipidica, s cílem ověřit jejich schopnost rozlišovat mezi pacienty s diagnostikovaným PaC a osobami bez této diagnózy, avšak ve zvýšeném riziku z důvodu predispozic. Tento screening má potenciál zvýšit časnou detekci a tím zlepšit prognózu.

Lukáš Valíhrach, Ph.D.

Biotechnologický ústav AV ČR, v. v. i.
Průmyslová 595
252 00 Vestec

tel: +420 325 873 747
e-mail: lukas.valihrach@ibt.cas.cz

Současné trendy v transkriptomové analýze

Valíhrach, L.

Laboratoř gliové biologie a omických technologií & GeneCore Facility, Biotechnologický ústav AV ČR, v. v. i.

Transkriptomová analýza prošla za poslední dekádu výrazným rozvojem, který zásadně proměnil možnosti studia genové exprese napříč různými biologickými disciplínami. Tato přednáška nabídne komplexní přehled současných transkriptomických technologií, od tradiční bulkové transkriptomiky až po nejmodernější metody analýzy na úrovni jednotlivých buněk a prostorové transkriptomiky.

Základním pilířem moderní analýzy genové exprese zůstává bulková transkriptomika, která díky své robustnosti a nákladové efektivitě často představuje první volbu při studiu tkání či populací buněk. Její nevýhodou je však neschopnost zachytit buněčnou heterogenitu, která bývá klíčová pro pochopení mnoha biologických procesů. Tento nedostatek překonávají technologie zaměřené na studium transkriptomu jednotlivých buněk, jež umožňují detailní vhled do vzácných buněčných populací a složitých buněčných interakcí. Prostorová transkriptomika dále rozšiřuje možnosti studia genové exprese tím, že zachovává její prostorový kontext. Tím umožňuje odhalit molekulární a buněčnou architekturu tkání i podstatu patologických procesů, které ovlivňují jejich funkci.

Cílem přednášky je představit silné stránky těchto technologií, jejich potenciální aplikace a omezení při rutinní analýze nukleových kyselin. Diskutovány budou také praktické aspekty, jako jsou požadavky na kvalitu a množství vzorků, specifika analýzy dat a celkové náklady těchto měření. Presentace je určena zejména novým uživatelům a nabídne klíčové informace potřebné k integraci těchto průlomových technologií do jejich výzkumných projektů a k efektivnímu řešení složitých biologických otázek.

Ing. Jakub Vašek, Ph.D.

Česká zemědělská univerzita v Praze
Kamýčká 129
165 00 Praha 6 – Suchbátka

tel: +420 224 382 562

e-mail: vasek@af.czu.cz

Využití masivního paralelního sekvenování pro identifikaci jedlého hmyzu v potravinách

¹Vašek J., ¹Čermáková A., ²Zdeňková K., ^{2,3}Čermáková E. a ¹Vejl P.

¹ Česká zemědělská univerzita v Praze

² Vysoká škola chemicko-technologická v Praze;

³ Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.;

Jedlý hmyz v potravinách představuje zajímavou alternativu k běžným zdrojům bílkovin a jeho produkce pro lidskou spotřebu již byla legislativně ošetřena v různých zemích EU. Stejně jako v případě jiných potravin je však zapotřebí zajistit jejich dostatečnou kvalitu, což lze pouze důslednou kontrolou příslušnými orgány státní správy. Pro tyto účely je nezbytné vytvořit vhodné detekční metody, které umožní zjistit, jestli potravina obsahuje deklarovaný druh bez nežádoucích příměsí. Z tohoto důvodu byla rovněž testována metoda masivního paralelního sekvenování (MPS).

V předběžné fázi projektu byly provedeny dva typy studií, konfirmatorní a simulační, na 24 laboratorně připravených vzorcích potravin s příměsí hmyzu. Napříč vzorky byly testovány různé směsi celkem 17 druhů hmyzu pomocí 4 univerzálních markerů, které amplifikují oblasti vybraných mitochondriálních genů (ATP6, COX1 a 16S rDNA). Sekvenování bylo provedeno v režimu párového čtení (PE150) na sekvenátoru NovaSeq 6000 System (Illumina, USA) s nastavenou kapacitou 20 mil. čtení (~3 Gb). Získané sekvence byly filtrovány, spárovány a porovnány pomocí BLASTu vůči vytvořené lokální databázi obsahující pouze referenční sekvence testovaných druhů hmyzu (konfirmatorní analýza) nebo vůči kompletní nukleotidové databázi stažené z ftp Národního centra pro biotechnologické informace (NCBI) v případě simulační analýzy.

V případě konfirmatorní analýzy bylo zjištěno, že se podařilo úspěšně přiřadit 84 % – 97% sekvencí na vzorek dle referenčních sekvencí s výjimkou 2 vzorků, kde byla úspěšnost mezi 50 a 60 %. Zároveň byla potvrzena možnost identifikace příslušného druhu pomocí jednotlivých markerů a demonstrována aplikovatelnost této technologie pro kontrolu kvality potravin.

Jednou z výhod využití vysokokapacitního sekvenování je teoretická schopnost identifikovat i kontaminaci necílovými nebo neznámými druhy hmyzu, což však klade mnohem vyšší nároky na analýzu a zpracování dat. Proto byla provedena simulační studie ve které byly v 16-ti datasetech testovány všechny možné kombinace markerů spolu s 13 variantami modelů, které se lišily nastavením vybraných parametrů (např. počet mezer či chybně přiřazených bází) programu BLAST. Dané parametry totiž mohou významně ovlivnit výsledek analýzy. Pro samotné vyhodnocení kvality datasetů a modelů byly zavedeny vlastní

„qIt“ a „vm“ metriky, které umožnily jednoduché srovnání, kdy čím nižší hodnota qIt a vm, tím lepší kombinace markerů a kvalita modelu. Z předběžných výsledků vyplývá, že nejlepší kombinací markerů je marker ATP6 spolu s 16S3 markerem, což však neplatí univerzálně pro všechny vzorky. Rovněž se ukázalo, že v několika případech bylo dosaženo lepších výsledků s nefiltrovanými sekvencemi (kontrolní varianta), ale za cenu vysokého nárůstu falešně pozitivních signálů.

Poděkování: Tento výzkum byl finančně podpořen grantovým projektem č. QK23020101 Ministerstva zemědělství ČR a SGS projektem č. SV24-14-21360.

Mgr. Petr Králík, Ph.D.

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v. v. i.
Veveří 97
602 00 Brno

tel: +420 723 764 704

e-mail: kralik@iapg.cas.cz

Lze vůbec někdy doběhnout nebo dokonce předběhnout Červenou královnu?

Králík P.

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v. v. i.

Červená královna je postavou z díla Lewise Carrola „Za zrcadlem a co tam Alenka našla“. V této knize se Alenka setkává s Červenou královnou, která neustále běží kupředu, a když se jí Alenka zeptá, proč běží tak usilovně, Červená královna odpoví, že je to proto, aby zůstala na stejném místě. Tento princip lze přenést i do mnoha oblastí lidského života, včetně vědy a výzkumu, kde neustálé změny prostředí vyžadují adaptaci a inovace. Efekt Červené královny je také jednou z hypotéz evoluční biologie, která popisuje, jak změny jednoho druhu nutí ostatní druhy přizpůsobit se, aby si zachovaly své postavení.

Vývoj diagnostických souprav je komplexní proces, který vyžaduje vyvážení mezi technologickou inovací, uživatelskou přívětivostí a precizností. Cílem vývoje je metoda s co nejmenším počtem kroků potřebných k dosažení spolehlivého výsledku a jasný návod k použití, který pokryje co nejširší spektrum uživatelů. Ve vývoji musí výrobci zároveň reagovat na regulatorní požadavky a předjímat možné uživatelské chyby. Tento proces vyžaduje neustálou adaptaci výrobců na měnící se podmínky trhu.

Zpětná vazba od laboratoří a zdravotnických zařízení je klíčovým zdrojem informací, které pomáhají výrobcům identifikovat a řešit problémy, jako je složitost návodů nebo chyby při manipulaci. Na základě těchto zkušeností pak výrobci upravují své produkty tak, aby byly spolehlivější a snáze použitelné. Každé zlepšení však generuje nové požadavky a situace, které vyžadují další reakce. Tato dynamika odpovídá efektu Červené královny, kdy každý krok kupředu znamená nutnost ještě intenzivnější adaptace, aby bylo možné udržet krok s potřebami uživatelů.

Jednou z největších výzev je najít rovnováhu mezi jednoduchostí použití a technickou precizností. Některé postupy mohou z pohledu uživatelů působit složitě nebo neintuitivně, avšak jejich cílem je minimalizovat chyby a zajistit reprodukovatelnost výsledků. Výrobci musí nejen reagovat na aktuální zpětnou vazbu, ale také předjímat budoucí potřeby trhu a uživatelů. Tento neustálý proces přizpůsobování je srovnatelný s evolučním závodem, ve kterém výkonnost produktů musí zůstat na špičce.

Tato přednáška ukáže, proč výrobci navrhnou své produkty určitým způsobem a jak se snaží předcházet chybám, které mohou vzniknout při jejich používání. Na příkladech budou popsány zásady vývoje diagnostických souprav a význam zpětné vazby uživatelů. Cílem je lépe porozumět racionálním důvodům, které stojí za konstrukcí těchto produktů, a zdůraznit nutnost spolupráce mezi výrobcem a uživateli pro dosažení optimálních výsledků.

Mgr. Radka Dziedzinská, Ph.D.

Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta
Kamenice 753/5
625 00 Brno

tel: +420 773 749 191

e-mail: mailto:dziedzinska@sci.muni.cz

Zoonotická agens u divokých savců v urbanizovaných oblastech

¹Dziedzinská R., ¹Králík P., ¹Šerý O., ²Kamler J., ²Drimaj J.

¹Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

²Lesnická a dřevařská fakulta, Mendelova univerzita v Brně

Rychlá urbanizace a rozšiřování městských oblastí mají zásadní dopad na životní prostředí mnoha divokých zvířat. Divoká zvířata jsou nucena migrovat do urbanizovaných oblastí, která jim poskytují nové možnosti ohledně zdrojů potravy, úkrytu, příp. nového životního prostoru. Fenomén migrace divokých savců do městských oblastí však přináší řadu ekologických, ekologických a zdravotních výzev. Mezi ně patří zejména škody na majetku, riziko fyzických kolizí s lidmi nebo vozidly, a riziko potenciálního přenosu zoonotických agens na obyvatele měst či jejich domácí mazlíčky.

Aktuálně řešený výzkumný projekt se zaměřuje na sledování divokých savců v městských oblastech, mapování jejich pohybu, sledování potravních preferencí a monitoring prevalence vybraných parazitárních, bakteriálních a virových agens. Monitoring aktuálního výskytu savců v městě Brně identifikoval jako nejvýznamnější tyto druhy zvířat: liška obecná, kočka domácí, prase divoké, jezevec lesní, kuna skalní a tři invazní druhy zvířat, kterými jsou psík mývalovitý, mýval severní a nutrie říční. Od těchto zvířat, která byla ulovena či jinak usmrcena, byly odebírány vzorky trusu/střevního obsahu, uzlin, jazyka a dalších orgánů. Byla provedena izolace nukleové kyseliny a qPCR analýza na zjištění přítomnosti vybraných bakteriálních a parazitárních agens. Z předběžných výsledků vyplývá, že u cca 30 % testovaných zvířat se vyskytoval alespoň jeden z testovaných patogenů. Nejvíce pozitivních záchytů bylo zjištěno u vzorků trusu, kdy nejčastěji byla detekována škrkavka psí/kočičí, škrkavka mývalí a *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* jako původce paratuberkulózy.

Práce byla podpořena grantem v rámci programu Prostředí pro život Technologické agentury ČR (SS06020195).

doc. Dr. Ing. Pavel Vejl

Česká zemědělská univerzita v Praze
Kamýčká 129
165 00 Praha Suchdol

tel: +420 728 465 065

e-mail: vejl@af.czu.cz

Multiplexové end-point PCR markery určené pro autentizaci potravin a krmiv obsahujících faremně chované druhy hmyzu

¹Vejl P., ¹Čermáková A., ¹Vašek J., ¹Melounová M., ¹Čílová, D., ²Zdeňková K.,
^{2,3}Čermáková E., ²Šebelová K. a ²Hajšlová J.

¹ Česká zemědělská univerzita v Praze

² Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

³ Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.

Potraviny a krmiva obsahující faremně chované druhy hmyzu představují v současné době jednu z alternativ umožňující zvýšení jejich nutričních hodnot. Výroba a prodej těchto potravin a krmiv podléhá v EU regulaci, která určuje, které druhy hmyzu a která jejich vývojová stádia lze použít pro tyto výrobky. Mezi povolené druhy pro výrobu potravin patří cvrček domácí (*Acheta domestica*), potěmník moučný (*Tenebrio molitor*), potěmník stájový (*Alphitobius diaperinus*) a saranče stěhovavá (*Locusta migratoria*). Spektrum druhů hmyzu, které jsou v Evropě faremně chovány zejména jako krmivo pro zvířata včetně zájmových druhů, je podstatně vyšší. Totéž platí o dalších druzích hmyzu chovaných zejména v Asii. Vzhledem k rostoucí popularitě hmyzích potravin a krmiv je nutné vyvinout metodu, která je schopna rychle a spolehlivě autentizovat druh hmyzu, který je v daném výrobku deklarován. Tyto metody by měly být schopny monitorovat teoreticky možné falšování hmyzích potravin a krmiv. Z těchto důvodů jsme vyvinuli systém pěti multiplexových end-point PCR markerů vhodných pro identifikaci třinácti faremně chovaných druhů hmyzu v České republice. Kromě výše uvedených čtyř druhů hmyzu povolených EU pro výrobu potravin se jedná ještě o další druhy využívané pro výrobu krmiv či jako živá potrava pro exotické živočichy. První markerový systém umožňuje identifikovat potěmníky *T. molitor*, *A. diaperinus* a *Zophobas atratus*. Druhý markerový systém je navržen pro detekci cvrčků *Gryllus locorojo* (chybně označovaný jako *Gryllus assimilis*) a *Gryllodes sigillatus*. Třetí systém umožňuje současně detekovat dva druhy cvrčků (*A. domesticus* a *Gryllus bimaculatus*) a bráněnku (*Hermetia illucens*). Čtvrtý markerovací systém je určen pro autentizaci přítomností sarančat (*Locusta migratoria* a *Schistocerca gregaria*). Poslední detekční systém umožňuje odhalit přítomnost třech druhů švábů (*Blaptica dubia*, *Blaberus discoidalis* a *Selfordella tartara*). Vývoj těchto markerovacích systémů byl založen na hypotéze, že se podaří na základě in silico bioinformatické analýzy identifikovat geny, které jsou z hlediska jejich sekvencí druhově unikátní. Primery pro end-point PCR byly navrženy tak, aby amplifikovaly druhově specifické fragmenty vykazující mezidruhový délkový polymorfismus a současně se jejich amplifikace vzájemně neovlivňovala v multiplexovém systému. Identifikace

druhů je založena na qPCR s využitím SYBR Green, což umožňuje relativně odhadovat množství templátové DNA hledaného druhu hmyzu ve vzorku. Vlastní detekce hmyzu byla provedena na základě gelové elektroforézy PCR amplikonů a na základě jejich sekvenace Sangerovou metodou. Optimalizace markerů proběhla u vzorků získaných z živých entomologicky určených jedinců. Pro detekci druhů hmyzu z reálných potravin a krmiv byla vybrána vhodná metoda extrakce DNA umožňující minimalizaci množství látek inhibujících aktivitu DNA polymerázy. Analyzováno bylo více než sto vzorků potravin s deklarovaným obsahem hmyzu, které byly vyrobeny různou technologií (grilovaný a smažený celý hmyz, hmyzí moučky a koktejly, proteinové tyčinky, čokolády, celozrnné směsi, krekry, sušenky, jerky, těstoviny, pomazánky, humus a různá instantní jídla). Dále bylo analyzováno přes dvacet druhů granulí a pamlsků pro psy a kočky. U všech analyzovaných vzorků potravin a krmiv byla potvrzena přítomnost druhů hmyzu deklarovaných výrobcem. Kontaminace jiným druhem cvrčka byla zjištěna u jedné potraviny. Bylo ověřeno, že navržený systém pěti multiplexových markerů představuje relativně rychlý a levný způsob verifikace hmyzu ve výrobcích. Analýzy je možné provádět v běžných DNA laboratořích a vyhodnocení výsledků není založeno na složitých bioinformatických analýzách.

Poděkování: Tento výzkum byl finančně podpořen Ministerstvem zemědělství ČR: grant QK23020101 a projektem SGS ČZU SV24-14-21360.

Mgr. Petra Vašíčková, Ph.D.

Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta
Kamenice 753/5
625 00 Brno

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

Divočina ve městě: Co nám přináší nečekaní sousedé?

¹Vašíčková P., ¹Dziedzinská R., ²Kamler J., ²Drimaj J.

¹ *Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta*

² *Mendelova univerzita v Brno, Lesnická a dřevařská fakulta*

V posledních letech je stále častěji pozorován rostoucí výskyt volně žijících zvířat v blízkosti obytných čtvrtí a městských center. Tento fenomén je způsoben kombinací několika faktorů, včetně úbytku přirozeného životního prostředí, dostupnosti snadno dosažitelných zdrojů potravy a absence přirozených predátorů. Přestože tato adaptace zvířat na městské prostředí přináší pozitiva, jako je posílení povědomí o ekologii a biodiverzitě, jejich přítomnost vyvolává řadu výzev. Patří sem škody na městské infrastruktuře a zemědělských plochách, zvýšené riziko dopravních nehod a významná zdravotní i veterinární rizika spojená s přenosem patogenů.

Divoká zvířata jsou přirozenými nositeli celé řady patogenů, které mohou ohrozit zdraví lidí, domácích i hospodářských zvířat. Zvířata žijící v urbánním prostředí, oproti stejným druhům žijícím ve volné přírodě, čelí jedinečným zdravotním problémům, např. jsou vystavena vysokým koncentracím antropogenních znečišťujících látek, které se mohou mít negativní vliv na jejich zdraví. Současně dochází ke koncentraci zvířat v omezeném prostoru, což zvyšuje hustotu populací a podporuje šíření patogenů. Analýza přítomnosti takovýchto agens u městské fauny je proto klíčová pro pochopení rizik a jejich možného dopadu. Prezentace se zaměří na prevalenci virových patogenů přítomných u volně žijících zvířat v urbánních oblastech, s důrazem na významné zoonotické i veterinární agens. Bude diskutován zejména význam viru hepatitidy E, který je považován za klíčového původce zoonóz ohrožujících veřejné zdraví, a prasečího herpesviru 1 (původce Aujeszkyho choroby), který, ač není přenosný na člověka, představuje smrtelné riziko pro domácí psy. Sdělení naváže na prezentaci „Zoonotická agens u divokých savců v urbanizovaných oblastech“, která se v podobném kontextu zabývá původci významných bakteriálních a parazitárních zoonóz. Posluchači tak získají ucelený pohled na veterinární a zdravotní problematiku spojenou s výskytem divokých zvířat v městském prostředí.

Podpořeno projektem TA ČR SS06020195.

prof. RNDr. Omar Šerý, Ph.D.

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v. v. i.
Veveří 97, 602 00 Brno

tel: +420 549 497 312

e-mail: omarsery@sci.muni.cz

Co víme o putování koronaviru SARS-CoV-2 lidským tělem z pitevních nálezů: mozek a srdce

^{1,2,3}Šerý O., ^{1,2}Dziedzinská R., ^{1,2}Kessler M., ^{1,2}Králík P., ³Vojtišek T., ⁴Solár P., ⁴Joukal M.

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

²Laboratoř neurobiologie a patologické fyziologie, Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v. v. i., Brno

³Ústav soudního lékařství, FNUSA, Brno

⁴Anatomický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Koronavirus SARS-CoV-2, původce onemocnění COVID-19, zasahuje nejen respirační systém, ale také další klíčové orgány, jako je mozek a srdce. Naše výzkumy se zaměřily na objasnění mechanismů, kterými virus proniká do těchto orgánů, přičemž byly využity pitevní nálezy a moderní molekulárně-biologické metody.

První část studie se věnovala choroidálnímu plexu jako potenciální vstupní bráně SARS-CoV-2 do centrální nervové soustavy (CNS). Analýzy ukázaly, že virus využívá hematolikorovou bariéru k přístupu do mozku. Pomocí RT-qPCR byla prokázána přítomnost virové RNA v choroidálním plexu u několika zemřelých osob. Imunohistochemické metody potvrdily lokalizaci virových proteinů v epiteliálních buňkách plexu. Tyto buňky exprimují receptor ACE2, který usnadňuje vstup viru do buňky, a následná virová replikace může narušit strukturu bariéry, což přispívá k šíření viru do mozkových tkání. Tento mechanismus objasňuje vznik neurologických komplikací COVID-19, jako jsou dlouhodobé neurokognitivní poruchy popsané v rámci tzv. long COVID.

Druhá část studie se zaměřila na přítomnost SARS-CoV-2 RNA v myokardu a vliv sérových protilátek na ochranu srdce. Pitevní analýzy ukázaly, že virus byl detekován v myokardu přibližně u 44 % testovaných jedinců. Statistické vyhodnocení odhalilo, že přítomnost IgG a IgM protilátek významně snižuje riziko průniku viru do srdeční tkáně, a to více než čtyřnásobně. Současně však vysoké hladiny těchto protilátek korelovaly se závažnými komplikacemi, jako je plicní embolie, což podtrhuje složitost imunitní odpovědi během COVID-19. Výsledky naznačují, že i přes ochranný účinek protilátek může být silná zánětlivá odpověď jedním z hlavních faktorů, které přispívají k fatálnímu průběhu onemocnění.

Naše studie přináší cenné poznatky o schopnosti SARS-CoV-2 šířit se organismem a zasahovat mozek a srdce. Identifikace molekulárních mechanismů invaze a vlivu imunitních reakcí přispívá k hlubšímu porozumění systémovým komplikacím COVID-19 a otevírá prostor pro vývoj cílených terapeutických intervencí zaměřených na ochranu CNS a kardiovaskulárního systému.

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

PCR detekce bakteriálních původců atypických pneumonií

Trubač P.

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

V příspěvku se pokusíme podat souhrnné informace o možnostech diagnostiky bakteriálních původců atypických pneumonií, přičemž PCR diagnostika, jakožto metoda přímého průkazu, je nejvhodnější zejména pro průkaz obtížně kultivovatelných či nekultivovatelných agens.

V roce 2024 jsme byli svědky nárůstu výskytu mykoplazmových nákaz i epidemie *Bordetella pertusis*. V prezentaci uvádíme počty záchytů v naší laboratoři. Zároveň osvětlujeme celý proces diagnostiky tak, abychom ozřejmili časovou a finanční dostupnost vyšetření. Naše zkušenosti jasně ukazují na to, že i v době zvýšeného výskytu určitého patogena, je zapotřebí myslet i na ostatní agens a vyšetřovat, pokud možno celý panel původců.

Bc. Sarah Sýkorová

Masarykova univerzita
Žerotínovo nám. 617/9
601 77 Brno

tel: +421 944 058 682
e-mail: sykorova.sarah@mail.muni.cz

Spôsoby stanovenia antimikrobiálnej rezistencie: Metódy a interpretácia výsledkov

Sýkorová S.

Masarykova univerzita, Brno

Antimikrobiálna rezistencia predstavuje jednu z najväčších výziev moderného zdravotníctva a súčasnej medicíny, pričom efektívne a včasné stanovenie citlivosti patogénov na antibiotiká je kľúčové pre úspešný výber vhodného typu antibiotík, a teda úspešnú liečbu, ktorá je v súlade so zamedzením šírenia rezistentých kmeňov. Kultivačné metódy, ako určovanie minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) a minimálnej baktericídnej koncentrácie (MBC), zostávajú zlatým štandardom v diagnostike. MIC kvantitatívne určuje najnižšiu koncentráciu antibiotika, ktorá inhibuje rast baktérií, zatiaľ čo MBC poskytuje informácie o baktericídnom účinku. Tieto metódy umožňujú presné testovanie účinnosti antibiotík, ale ich časová náročnosť môže obmedzovať ich použitie v akútnych klinických prípadoch. V posledných rokoch došlo k významnému rozvoju molekulárnych metód, ako je polymerázová reťazová reakcia (PCR), ktorá umožňuje rýchlu detekciu génov spojených s rezistenciou. Multiplexné PCR metódy umožňujú simultánnu analýzu viacerých génov, ktoré kódujú rezistenciu. Významným pokrokom v tejto oblasti sú aj technológie novej generácie sekvenovania (NGS), ktoré umožňujú detailné charakterizovanie celého genómu patogéna, vrátane mutácií zodpovedných za rezistenciu. Tieto metódy poskytujú rozsiahle dáta s vysokou citlivosťou a špecifickosťou, no ich implementácia do rutinného testovania je stále obmedzená nákladmi a komplexnosťou analýzy. Šírenie rezistencie medzi baktériami je spôsobené horizontálnym prenosom génov prostredníctvom plazmidov, transpozónov alebo konjugáciou. Tieto mechanizmy výrazne prispievajú ku globálnemu šíreniu rezistentných kmeňov, čo podčiarkuje dôležitosť kombinovania fenotypových a genotypových metód na efektívne stanovenie a kontrolu rezistencie. Prezentácia sa zameriava na prehľad dostupných metód, ktoré stanovujú antimikrobiálnu rezistenciu, vrátane ich výhod, nevýhod a interpretáciu výsledkov. Cieľom prezentácie je poskytnúť komplexný prehľad o metodických prístupoch, zdôrazniť ich klinickú aplikáciu a upozorniť na potrebu ich integrácie do každodennej praxe v boji proti antimikrobiálnej rezistencii.

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

Předoperační diagnostika FCD pacientů pomocí změn metylačních markerů (představení výzkumného projektu)

¹Zettlová K., ^{1,2}Vrbský J., ¹Dvořáčková M., ³Doležalová I.

¹ *Mikrobiologický ústav – Laboratoř molekulárně genetické diagnostiky, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně*

² *Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně*

³ *I. neurologická klinika, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně*

Fokální kortikální dysplazie (FCD) je závažná malformace mozkové kůry a jedna z nejčastějších příčin farmakorezistentní epilepsie u dětí i dospělých. Terapie vyžaduje chirurgický zásah, jehož úspěšnost závisí na přesné lokalizaci epileptogenní zóny. Současné předoperační diagnostické metody, jako je magnetická rezonance (MRI) a elektroencefalografie (EEG), neumožňují vždy spolehlivou detekci FCD léze, což může vést k neúplné resekci a pokračování záchvatů i po zákroku. V posledních letech se zvyšuje zájem o využití epigenetických markerů jako potenciálních diagnostických nástrojů. Metylace DNA je klíčovým regulátorem genové exprese a již dříve byla spojena s patologickými procesy v mozku. Molekulární mechanismy metylací u FCD však stále nejsou dostatečně objasněny.

Projekt si klade za cíl identifikovat specifické změny metylačních markerů FCD ve vzorcích tkáně zachycených na intrakraniálních elektrodách zaváděných během předoperační stereoencefalografie (SEEG). Pokusíme se prozkoumat jejich potenciál jako FCD specifických biomarkerů využitelných již během předoperační diagnostiky. Tento přístup by mohl přispět ke zvýšení úspěšnosti chirurgických zákroků, přesnější klasifikaci a hlubšímu pochopení patogeneze FCD. Pro získání intaktní a čisté DNA z velmi malého množství tkáně je využita unikátní metoda založená na principu izotachoforézy – Bionano Ionic™ Purification System (v rámci spolupráce s Institute of Applied Biotechnologies Olomouc). DNA metylační profily budou stanoveny pomocí bioinformatických dat získaných z metylačně specifické analýzy.

RNDr. Martina Hajdušková, Ph.D.

Genetika Plzeň, s.r.o.
Parková 1254/11a
326 00 Plzeň

tel: +420 604 977 860
e-mail: martina.hajduskova@next-clinics.com

Patogenní či nepatogenní – to je, oč tu běží

Hajdušková M., Hrubá M., Jirsová Z., Lošan P.

Genetika Plzeň, s.r.o.

Klasifikace patogenicity genetických variant je klíčový proces nezbytný pro správnou diagnostiku a následnou volbu vhodné strategie v rámci péče klinické genetiky. Nástup sekvenování panelů genů či celých exomů/genomů pomocí NGS umožnil zdokonalení diagnostiky a odhalení příčiny řady genetických onemocnění. Zároveň však vede k detekci velkého množství variant, což představuje výzvu efektivního hodnocení jejich klinické relevance.

Americká společnost klinické genetiky a genomiky (ACMG) vydala doporučení pro interpretaci sekvenčních variant s cílem standardizovat celý proces a minimalizovat odchylky v klasifikaci mezi genetickými centry (1). Principem je zhodnocení splnění určitých kritérií danou variantou (kvalitativní), na jejichž základě se aplikují „ACMG pravidla“, která přispívají buď k patogenitě nebo benignitě. Z tohoto kvalitativního hodnocení byl postupně vytvořen kvantitativní bodový systém, jehož finální hodnota umožňuje jednoznačnou klasifikaci varianty (2). S cílem zefektivnit a co nejvíce automatizovat klasifikační proces byl tento systém implementován do hodnotících softwarů. Přestože jejich zapojení do hodnocení variant je již neodmyslitelnou součástí a významnou pomocí, jejich závěry zatím nelze z mnoha důvodů automaticky přebírat.

V Laboratoři reprodukční genetiky se zabýváme rutinním hodnocením patogenicity variant v genech asociovaných s nejčastějšími recesivními chorobami v rámci screeningu přenašečství, který provádíme od r. 2021 a recentně testujeme 103 genů asociovaných se 151 onemocněními. U jednoho vzorku nacházíme kolem 3000 variant, z nichž bývá 1-5 klinicky relevantních (patogenních či pravděpodobně patogenních). Při jejich klasifikaci využíváme platformu VarSome Clinical, jejíž předností jsou časté aktualizace na nejnovější zdrojová data a neustálé zlepšování automatické klasifikace. Přesto je nezbytné hodnocení patogenicity kontrolovat a manuálně upravovat. Během přednášky budou prezentovány příklady variant, u kterých byla zásadně změněna klasifikace patogenicity. Dále bude demonstrována role funkčních studií, které jsou nezbytné pro objasnění reálného dopadu konkrétní varianty na protein.

Naše zkušenost dokazuje, že v současné době ještě nelze na hodnotící softwaru zcela spoléhat a automaticky od nich klasifikaci variant přebírat. Je potřeba si stále uvědomovat důležitost zodpovědného přístupu k hodnotícímu procesu, protože na základě tohoto výsledku klinický genetik rozhoduje o další strategii péče a v závislosti na závažnosti varianty se může jeho postup značně lišit. Zároveň je nutné mít na paměti, že klasifikace variant není dokonaný proces a může se v čase měnit v důsledku neustálého získávání nových

dat. V neposlední řadě je velmi žádoucí předávat specifické podněty poskytovatelům hodnotících softwarů s cílem podpořit jejich vývoj a zdokonalení do té míry, aby mohly nabídnout automatizovanou spolehlivou a efektivní platformu klasifikačního procesu.

References:

- 1) Richards et al., 2015; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. doi: 10.1038/gim.2015.30. PMID: 25741868; PMCID: PMC4544753.
- 2) Tavgian et al., 2020. Fitting a naturally scaled point system to the ACMG/AMP variant classification guidelines. doi: 10.1002/humu.24088. PMID: 32720330; PMCID: PMC8011844.

RNDr. Hana Kučerová, Ph.D.

Laboratoře lékařské genetiky s.r.o. - PRENET
Masarykovo náměstí 2667
530 02 Pardubice

tel: +420 773 899 650
e-mail: hana.kucerova@prenet.cz

Aktuální trendy v prenatální diagnostice v ČR

Kučerová H., Skalická S., Schwarz M., Michalovská R., Fišer M.

PRENET – prenatální diagnostika a genetika, Pardubice
GHC Genetics, Praha

Společnost PRENET se specializuje na komplexní prenatální diagnostiku nejen v Pardubickém kraji. V rámci ambulantní péče jsou dnes standardem kombinovaný prvotrimestrální screening, vyšetření preeklampsie a podrobné ultrazvukové vyšetření morfolgie plodu ve druhém a třetím trimestru. V některých případech je na našem pracovišti prováděno i specializované ultrazvukové vyšetření zaměřené na detailní anatomii srdce. Samozřejmě je konzultace s klinickým genetikem.

V rámci laboratorní diagnostiky je dnes při nízkém či středním riziku chromozomálních vad velmi populární neinvazivní prenatální testování (NIPT). V případě středního či vysokého rizika je dle rozhodnutí klientky proveden invazivní odběr choriových klků (CVS) či plodové vody (AMC). Z izolované DNA jsou testovány nejběžnější aneuploidie metodou QF-PCR a následně je vyšetřena chromozomová výbava plodu metodou arrayCGH. V indikovaných případech je provedeno vyšetření monogenních onemocnění (CFTR, SMA, FMR1...) a stále častěji je i v rámci prenatální péče prováděno exomové sekvenování (WES, CES).

V přednášce bude shrnuta komplexní prenatální péče se zaměřením na laboratorní diagnostiku a bude doplněna o zajímavé kazuistiky.

ABSTRAKTY POSTERŮ



SEZNAM PŘIHLÁŠENÝCH POSTERŮ

1. Prof. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D.
Případ rozvoje hematologické malignity z transplantovaných krvetvorných buněk dárce
2. Ing. Regína Bezděková Fillerová, Ph.D.
Mnohočetný myelom jako ideální onemocnění pro testování možností metody optického mapování genomu
3. Mgr. Tereza Böhmová
Přímá detekce nukleových kyselin HBV, HCV a HIV u dárců krve
4. Ing. Eliška Čermáková, Ph.D.
Detekce a kvantifikace DNA moučných červů (*Tenebrio molitor*) v potravinách
5. Ing. Agáta Čermáková
Určení kontaminujícího druhu hmyzu pomocí technik NGS a end-point PCR – případová studie u těstovin s deklarovaným obsahem cvrčka domácího (*Acheta domestica*)
6. Mgr. Matej Gazdarica, Ph.D.
Advancing Cancer Diagnostics with Cutting-Edge Proteomic Technologies
7. RNDr. Kateřina Houfková, Ph.D.
Mutační analýza karcinomů plic pomocí sekvenování nové generace
8. Mgr. Kristýna Hricová, Ph.D.
Molekulárně biologická analýza MRSA z humánní a animální provenience
9. Mgr. Kristýna Janoušková
The association of genetic variants on the chromosomal loci 9p21, 6q25.1, and 2q36.3 with cardiac allograft vasculopathy development in patients after heart transplantation
10. RNDr. Martin Kašný, Ph.D.
Evaluation of quality of WGS and WES results using the validated protocols
11. Ing. Kristýna Kliková
Analýza mikrobiálních komunit v Koněpruských jeskyních
12. RNDr. Kateřina Kvapilová, Ph.D.
AI systémy v klinické diagnostice: Povinnosti souladu s AI Actem
13. RNDr. Alice Mášová, PhD.
Pokročilé technologie pro transkriptomickou analýzu v aplikacích
14. Ing. Henrietta Ottová
Vliv emergentních polutantů na mikroorganismy v systému půda-rostlina
15. Mgr. Hana Vlášková
Vyšetření komplementární DNA přináší zajímavé nálezy variant sestřihu mRNA
16. Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.
Multiplexní mqPCR pro detekci *Locusta migratoria* a *Schistocerca gregaria*

Prof. PharmDr. Martin Beránek, Ph.D.

Fakultní nemocnice Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové

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

Případ rozvoje hematologické malignity z transplantovaných krvetvorných buněk dárce

Beránek M., Voglová J., Bělohávková P., Radocha J., Řehounková M., Baudyšová K., Kačerovský O.

Ústav klinické biochemie a diagnostiky a 4. interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Alogenní transplantace periferních krvetvorných buněk (PKB) tvoří významný nástroj v léčbě hematologických malignit. Vzácnou komplikací pacientů v potransplantačním období je rozvoj nemoci odvozených z přijatého štěpu. Incidence leukemie vzniklé z dárcovských buněk (DCL) se odhaduje na 5 %.

Prezentujeme případ 28-letého muže po alogenní transplantaci PKB provedené v dětském věku pro akutní lymfoblastickou leukemii. Potransplantační analýzy v letech 2009 až 2023 ukazovaly na 100% dárcovský chimerismus v kostní dřeni. I přes vysokou aktivitu štěpu však byla v lednu 2024 v buňkách periferní krve zachycena přítomnost fúzní přestavby t(9;22) *BCR-ABL1* major typ b2a2 a výrazná leukocytóza. Žádný další marker typický pro ALL nebyl zjištěn a diagnóza byla určena jako CML získaná z dárcovských buněk. K léčbě byl nasazen imatinib mesylát v běžném dávkovacím schématu.

Leukocytóza po měsíci léčby poklesla do fyziologických hodnot. Množství fúzního transkriptu *BCR-ABL1* kleslo během tří měsíců z 26,26 % IS na 12,36 % IS na pozadí zmíněného 100% chimerismu. Výraznějšího terapeutického efektu dosáhl imatinib po šesti a dvanácti měsících léčby (3,88 % IS a 1,45 % IS) v důsledku klesající aktivity štěpu (smíšený chimerismus s převahou dárcovské složky 94 %).

Výsledky našich vyšetření ukazují, že léčba osob s hematologickými malignitami, u kterých se po alogenní transplantaci rozvinula DCL, je velmi komplikovaná. Vysoká aktivita buněk štěpu je riziková nejen s ohledem na vznik GVHD, ale též pro progredující DCL. Snížená aktivita štěpu (ať cíleně či jako důsledek aktuálního klinického stavu) přináší sice benefit snižujících se markerů CML (*BCR-ABL1*), nicméně hrozí molekulární relaps původního onemocnění. Pro hodnocení aktuálního stavu jsou proto nezbytné častější náběry kostní dřeni z periferní krve a častější monitorování reziduální nemoci transplantovaných osob.

Ing. Regina Bezděková Fillerová, Ph.D.

Institute of Applied Biotechnologies a.s.
Služeb 3056/4
108 00 Praha-Strašnice

tel: +420 731 127 718
e-mail: fillerova@iabio.eu

Mnohočetný myelom jako ideální onemocnění pro testování možností metody optického mapování genomu

¹Bezděková Fillerová R., ^{2,3,4}Kotašková J., ^{2,3,4}Jarošová M., ^{2,3,4}Plevová K.,
²Marečková A., ²Ondroušková E., ²Bohunňová M., ^{2,3}Stránská K.,
^{2,4}Adamová S., ¹Dihel M., ¹Kvopil P.

¹ *Institute of Applied Biotechnologies, Olomouc*

² *Laboratoře Interní hematologické a onkologické kliniky Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno*

³ *Centrum molekulární medicíny, CEITEC-Central European Institute of Technology, Masarykova univerzita, Brno*

⁴ *Ústav lékařské genetiky a genomiky, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice, Brno*

Chromozomální aberace mají klíčový význam ve stratifikaci rizika hematologických malignit. Přesná identifikace těchto aberací umožňuje přesnější hodnocení rizik, což usnadňuje lepší prognostické předpovědi a plánování léčby. Mnohočetný myelom je druhý nejčastější typ hematologických malignit, který vzniká transformací a klonální expanzí plazmatických buněk charakterizovaných abnormálním zvýšením monoklonálních imunoglobulinů. Technologie optického mapování genomu (OGM) představuje pokročilý nástroj pro detekci strukturních variant (SV) a variací počtu kopií (CNV) v celém genomu. OGM překonává omezení tradičních cytogenetických metod tím, že nabízí vyšší rozlišení než karyotypizace a je schopna zkoumat celé genomové spektrum ve srovnání s FISH, a také odhalovat vyvážené chromozomální abnormality, které nejsou detekovatelné pomocí chromozomálních mikročipů (CMA).

Laboratoře IAB, které poskytují OGM služby, se ve spolupráci s klinickými institucemi zaměřili na porovnání účinnosti konvenčních cytogenetických metod s analýzou OGM. Náš studijní soubor tvořilo 10 pacientů s mnohočetným myelomem, u kterých byla k dispozici všechna tradiční cytogenetická vyšetření a optická mapa genomu.

OGM účinně identifikoval většinu cytogenetických abnormalit pozorovaných v rutinní cytogenetice, včetně aneuploidií, hyperdiploidií a strukturálních variant. OGM také detekovalo vyvážené translokace identifikující partnery fusionských genů, které nejsou běžně hledány jinými technikami. Navíc OGM prokázala svou schopnost odhalovat další cytogenetické abnormality, zejména komplexní přestavby.

OGM představuje slibný nástroj doplňující limitace konvenčních metod s potenciálem významně zjednodušit laboratorní postupy a zároveň snížit náklady na rutinní diagnostiku. Tato pokročilá technologie může zásadně přispět k lepšímu porozumění biologii onemocnění a k přizpůsobení léčby individuálním potřebám pacientů, čímž se maximalizují terapeutické účinky.

Poděkování: Tento výzkum byl finančně podpořen: MEYS-CZ MUNI/A/1558/2023; MH-CZ RVO_65269705, AZV_NU21-08-00237.

Mgr. Tereza Böhmová

Krajská zdravotní a.s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z., Transfuzní oddělení
Sociální péče 3316/12A
401 13 Ústí nad Labem

tel: +420 477 113 466

e-mail: tereza.bohmova@kzcr.eu

Přímá detekce nukleových kyselin HBV, HCV a HIV u dárců krve

Böhmová, T.

Transfuzní oddělení, Krajská zdravotní a.s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.

Vyšetřování infekčních markerů u dárců krve je důležitou součástí zajištění bezpečné transfuze. Řídí se Vyhláškou 143/2007 Sb. a po novelizaci v roce 2023 bylo mezi povinná vyšetření zařazeno také stanovení nukleových kyselin (tzv. NAT – Nucleic Acid Testing) původců virové hepatitidy B a C a HIV (s účinností nejpozději od 1. července 2024), které dále zkracuje diagnostické okno v porovnání se sérologickými testy.

V prostředí transfuzní služby jsou s ohledem na množství vzorků a minimalizaci chyb používány automatizované vyšetřovací systémy pracující na principu PCR (polymerázová řetězcová reakce) a TMA (amplifikace zprostředkovaná transkripcí). Vzhledem k vysoké citlivosti technik je při požadované senzitivitě (stanovena vyhláškou) možné vyšetření také směsných vzorků (tzv. poolů).

Na našem pracovišti je instalován systém Panther (firma Grifols s.r.o.). Ten tvoří vlastní analyzátor, inkubátor pro přípravu reagensí, pooler (příprava směsných vzorků, možná archivace) a webová aplikace Bloodstream (správa objednávek a výsledků, komunikace mezi poolerem a analyzátozem). Systém umožňuje průběžné vkládání vzorků, statimové vzorky jsou vyšetřovány jednotlivě (IDT, týká se dárců trombocytů), rutinní vzorky z odběrů určených k výrobě transfuzních přípravků ve směsi max. 8 vzorků a vzorky z odběrů plazmy určené na výrobu krevních derivátů pak ve směsích max. 96 vzorků (požadována nižší citlivost vyšetření). NAT provádíme také pro Hematologicko-transfuzní oddělení nemocnice Chomutov (druhý výrobce transfuzních přípravků v rámci Krajské zdravotní a.s.). Pro detekci HBV, HCV a HIV používáme diagnostickou soupravu Ultrio Elite. V základním screeningovém vyšetření je stanovena pouze negativita/reaktivita (jedná se o kvalitativní test), konkrétní původce je v případě reaktivity určen prostřednictvím rozlišovacích sond v dalším vyšetření (využívají se základní reagentie ze soupravy Ultrio Elite, navíc jsou ale přidány virus specifické detekční sondy). V případě reaktivity směsného vzorku je nejprve provedeno rozklíčování poolu, čímž je určen konkrétní reaktivní vzorek. Kontrolu kvality zajišťuje přidání interní kontroly do každé reakce (na počátku testu) a dále kalibrace pomocí pozitivních a negativních vzorků (kalibrace platí 24 hod).

Pro přípravu směsného vzorku je použito 300 µl, k vlastní analýze je potřeba 500 µl; použít lze plazmu, sérum či heparinizované vzorky.

Vlastní vyšetření probíhá v jedné reakční nádobce a skládá se ze třech fází – záchyt cíle, vlastní TMA a HPA (Hybridization Protection Assay) pro detekci.

V první fázi jsou lyzovány virové částice a volné cílové nukleové kyseliny (NA) jsou zachytávány na oligonukleotidy (capture oligos) z reakční soupravy. Celý komplex následně hybridizuje na magnetické částice (prostřednictvím polyA konců na zachytných oligonukleotidech). Tak je umožněna separace cílových nukleových kyselin z roztoku pro vlastní izotermickou amplifikaci.

Při té jsou využívány reverzní transkriptáza a RNA polymeráza. Reverzní transkriptáza vytváří komplementární (cDNA) z cílové RNA, aktivita ribonukleázy H degraduje původní RNA a vytvoří dvouřetězcovou DNA (dsDNA). Také v případě DNA virů je díky RNA polymeráze syntetizována dsDNA přes cDNA. RNA polymeráza vytváří z templátu dsDNA další kopie RNA, a tak je možné celý proces opakovat a dosáhnout syntézy velkého množství RNA kopií cílové nukleové kyseliny.

Tyto produkty ve třetí fázi hybridizují se sondami značenými akridinium esterem (AE), který slouží pro chemiluminiscenční detekci interní kontroly a cílového produktu (AE na nehybridizovaných sondách je inaktivován selekční reagentií), signál IC má rychlejší kinetiku luminiscence než signál vyzařovaný sondami vázanými k cílovému produktu. Cut-off limit pro vyhodnocení je vypočítán na základě měření kalibrátorů. Na konci celé reakce jsou všechny případné amplikony destruovány pomocí chlornanu sodného a deaktivčního pufru, aby se zabránilo kontaminaci systému.

První výsledky jsou k dispozici za 3,5 hodiny a dále každých 5 minut.

Zavedení NAT snižuje riziko přenosu infekčních onemocnění zkrácením diagnostického okna v porovnání se sérologickými vyšetřeními. Vzhledem k dostupnosti automatizovaných systémů je implementace do provozu zařízení transfuzní služby snadná (v porovnání s manuálním provedením), je ale třeba zohlednit dostupnost trombocytových transfuzních přípravků (výhoda možnosti statimového vyšetření) a také ekonomické hledisko.

Ing. Agáta Čermáková

Česká zemědělská univerzita v Praze
Kamýčká 129
165 00 Praha 6 – Suchbátka

tel: +420 721 719 769

e-mail: cermakovaagata@af.czu.cz

Určení kontaminujícího druhu hmyzu pomocí technik NGS a end-point PCR – případová studie u těstovin s deklarovaným obsahem cvrčka domácího (*Acheta domestica*)

¹Čermáková A., ¹Vejl P., ¹Vašek J., ¹Melounová M., ¹Čílová, D., ²Zdeňková K.,
^{2,3}Čermáková E., ²Šebelová K. a ²Hajšlová J.

¹ Česká zemědělská univerzita v Praze

² Vysoká škola chemicko-technologická v Praze;

³ Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.;

Čeď cvrčkovití (Gryllidae) představuje zástupce rovnokřídlého hmyzu široce využívaného pro výrobu potravin a krmiv na bázi faremně chovaných druhů. Jediným zástupcem cvrčků, který je v EU schválen pro výrobu potravin, je cvrček domácí (*A. domestica*). Jako krmivo zejména pro živočichy zájmových chovů je chována řada dalších druhů, jako je například *Gryllus locorojo*, mnohdy chybně považován za cvrčka banánového (*Gryllus assimilis*), cvrček dvojsvrchný (*Gryllus bimaculatus*) a cvrček krátkokřídlý (*Gryllodes sigillatus*). Lze předpokládat, že zejména v oblasti Asie bude druhové spektrum chovaných cvrčků ještě širší. Cvrčci patří mezi velice dobře pohyblivé druhy hmyzu, a pokud je současně chován větší počet druhů cvrčků, existuje riziko vzájemné kontaminace při chovu či přepravě. Cílem příspěvku je ukázat na potenciál dvou odlišných molekulárních technik určených pro detekci kontaminujícího hmyzího druhu v potravinách s deklarovaným jiným druhem. Konkrétně se jedná o případovou studii tří šarží těstovin (2021, 2022 a 2023) vyrobených na bázi červené čočky (90 %) a cvrčka domácího (10 %) v České republice. Pro NGS analýzu na platformě Illumina byly použity druhově univerzální PCR markery amplifikující mitochondriální gen 16S RNA. Hrubá sekvenční data byla zpracována v unixovém systému využívajícím sérii programů na testování kvality a filtrování dat, skládání párových sekvencí a převod datových formátů. Jednotlivá čtení byla porovnána proti lokální nukleotidové databázi pomocí programu Blast v 2.014.0+. Pouze u šarže z roku 2023 byl kromě cvrčka domácího detekován rovněž cvrček dvojsvrchný. Pro potvrzení výsledků NGS analýz byly navrženy end-point PCR markery amplifikující u obou druhů cvrčků intronovou oblast genu řídicího syntézy receptoru pro diuretický hormon. Specifičnost merkerů byla ověřena in silico analýzou a rovněž experimentálně, kdy bylo hodnoceno 20 různých druhů hmyzu a k amplifikaci markerů došlo pouze u cvrčka domácího, respektive cvrčka dvojsvrchného.

skvrnného. Relativně levná a rychlá metoda end-point PCR potvrdila přítomnost cvrčka dvojskvrnného, a to pouze v šarži těstovin z roku 2023. Přítomnost obou druhů cvrčků byla následně doložena sekvenací end-point PCR amplikonů.
Poděkování: Tento výzkum byl finančně podpořen Ministerstvem zemědělství ČR: grant QK23020101 a projektem SGS ČZU SV24-14-21360.

Ing. Eliška Čermáková, Ph.D.

VŠCHT Praha
Technická 5
166 28 Praha 6 – Dejvice

tel: +420 220 445 196
e-mail: fialovae@vscht.cz

Detekce a kvantifikace DNA moučných červů (*Tenebrio molitor*) v potravinách

^{1,2}Čermáková E., ¹Watziková K., ³Čermáková A., ¹Zdeňková K. a ³Vejl P.

¹ Vysoká škola chemicko-technologická v Praze;

² Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.;

³ Česká zemědělská univerzita v Praze

Mouční červi (larvální forma potemníka moučného - *Tenebrio molitor*) jsou prvním hmyzem, který byl v EU schválen pro lidskou spotřebu. Díky vysokému obsahu bílkovin a snadnému chovu se rychle staly oblíbenou složkou potravy. Cena těchto produktů je však ve srovnání s konvenčními stále příliš vysoká. To podněcuje nepoctivé výrobce k falšování potravin, například k nahrazování moučných červů jinými druhy nebo nedodržení uváděného množství hmyzí moučky ve výrobku. Někteří spotřebitelé mají k entomofagii odpor, a tak se naopak obávají nedeklarovaných příměsí hmyzí moučky nebo zpracovaných hmyzích bílkovin v potravinách. Proto jsme se v této práci zaměřili na vývoj metody, která umožní detekci a identifikaci DNA moučných červů v potravinách. K analýzám byla použita polymerázová řetězová reakce s fluorescenční detekcí v reálném čase (qPCR), která zároveň umožňuje kvantifikovat množství DNA přítomného druhu ve vzorku. Specifičnost navrženého systému byla testována na druzích hmyzu schválených pro použití v potravinách a krmivech v EU; potenciál kvantifikace byl ověřen na směsích tří druhů moučných červů (*Tenebrio molitor*, *Zophobas morio*, *Alphitobius diaperinus*) v různých poměrech. Výsledky prokázaly možnost detekce a kvantifikace DNA moučných červů i v tepelně upravených směsných vzorcích. Navržená metodika se tak jeví jako vhodná pro kontrolu potravin a krmiv.

Poděkování: Tento výzkum byl finančně podpořen Ministerstvem zemědělství ČR: grant č. QK23020101.

Mgr. Matej Gazdarica Ph.D.

Institute of Applied Biotechnologies a.s.
Služeb 3056/4
108 00 Prague

tel: +420 603 546 576
e-mail: gazdarica@genetica-group.com

Advancing Cancer Diagnostics with Cutting-Edge Proteomic Technologies

¹Kašný M., ¹Stivínová K., ¹Hamplová A., ¹Richter J., ²Hudák T., ²Harásková V.,
²Gazdarica M.

¹*Institute of Applied Biotechnologies, a.s., Olomouc*

²*GeneTiCA s.r.o., Prague*

Comprehensive proteomic profiling is crucial for advancing cancer diagnostics by enabling the identification of disease-specific biomarkers and molecular signatures. Blood-based proteomics is particularly valuable due to its minimally invasive nature, allowing for routine patient monitoring and early disease detection. However, the high dynamic range of blood proteins-dominated by albumin and globulins-poses a significant challenge, as these abundant proteins can mask low-abundance biomarkers critical for cancer screening. Innovative proteomic technologies have been developed to overcome these limitations and enhance the detection of clinically relevant proteins.

Here, we present three advanced platforms-Illumina Protein Prep, Seer Proteograph, and Quantum-Si-that address these challenges and improve cancer biomarker discovery. Illumina Protein Prep enables high-throughput proteomic analysis from plasma and serum samples, leveraging genomic infrastructure to quantify approximately 9,500 proteins with high precision. By integrating hybridization-based capture technology, it effectively measures a broad range of proteins, including those in low abundance. The Seer Proteograph utilizes nanoparticle-based enrichment to achieve deep and unbiased proteome coverage from mammalian biofluids. In our study, the preparation of bone marrow plasma samples using this platform identified 4.4 times more proteins via mass spectrometry compared to conventional methods such as protein depletion or trypsin digestion. The next-generation protein sequencing technology Quantum-Si provides single-molecule resolution, enabling precise detection of protein isoforms and post-translational modifications-critical for understanding tumor heterogeneity and disease progression.

By combining these state-of-the-art proteomic technologies with AI-driven analytical approaches, researchers can significantly enhance early cancer detection and precision diagnostics.

RNDr. Kateřina Houfková, Ph.D.

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

tel: +420 739 210 462
e-mail: Katerina.Houfkova@lfp.cuni.cz

Mutační analýza karcinomů plic pomocí sekvenování nové generace

Houfková K., Kulda V., Polívka J., Svatoň M., Vaněček T., Pešta M.

Ústav Biologie, Ústav Lékařské chemie a biochemie, Ústav Histologie a embryologie, Ústav Pneumologie a fizeologie, Ústav Patologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

Východisko: Cílená léčba se stává stále důležitější při léčbě plicního adenokarcinomu, nejběžnějšího podtypu plicního karcinomu. Neoddělitelnou součástí rozhodnutí o podání cílené léčby je identifikace kauzální mutace, případně prediktoru efektu léčby. Sekvenování nové generace (NGS) umožňuje přesnou identifikaci konkrétních genetických alterací v nádorových tkáních, a představuje tak vhodný nástroj pro tyto účely.

Cíl práce: Cílem studie bylo provést mutační analýzu a detekci fúzních genů v nádorových vzorcích plicního adenokarcinomu metodou NGS a zhodnotit možnosti uplatnění cílené léčby u identifikovaných variant.

Pacienti a metody: Studie zahrnovala 237 pacientů léčených pro plicní adenokarcinom v letech 2017-2020 ve Fakultní nemocnici v Plzni. Analýza DNA byla provedena pomocí NGS panelu Archer FusionPlex Comprehensive Thyroid and Lung (CTL). Nemocným s prokázanou aktivační mutací EGFR a fúzí genů EML4-ALK a CD74-ROS1 byla podávána cílená léčba v podobě tyrozinkinázových inhibitorů (TKI).

Výsledky: Změny v analyzovaných genech byly prokázány u 149 pacientů (62,9 %). Genové varianty byly detekovány u 135 pacientů (57 %) a u 14 pacientů (5,9 %) byly prokázány fúzní geny. V době průběhu studie byla cílená léčba dostupná pro 34 pacientů (14,3 %) – 25 pacientů se změnami v genu EGFR, 8 pacientů s fúzí EML4-ALK a 1 pacienta s fúzí CD74-ROS1. Celková doba přežití pacientů v pokročilých stádiích onemocnění s detekovanými EGFR mutacemi a fúzními geny EML4-ALK léčenými TKI inhibitory byla signifikantně delší v porovnání s pacienty léčenými klasickou chemoterapií.

Závěr: Výsledky ukazují přínos cílené léčby, která by mohla vést k výraznému prodloužení životů pacientů s karcinomem plic. Podle doporučených postupů popsanych v Modré knize platných ke květnu 2023 by počet pacientů, kteří by mohli profitovat z cílené léčby činil 64 (27 %), což představuje nárůst o 88 % v porovnání s doporučenými postupy v letech 2017-2020. Stále se rozšiřující spektrum dostupných cílených terapeutik tak představuje do budoucna velké naděje v léčbě těchto onkologických pacientů.

Práce byla podpořena grantem Ministerstva zdravotnictví České republiky na podporu koncepčního rozvoje výzkumné organizace (Fakultní nemocnice v Plzni, 00669806) a Výzkumným fondem Univerzity Karlovy (Progres Q39 a SW 260539).

Mgr. Kristýna Hricová, Ph.D.

Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc
Hněvotínská 3
775 15 Olomouc

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

Molekulárně biologická analýza MRSA humánní a animální provenience

¹Hricová K., ¹Pudová V., ¹Fišerová K., ^{1,2}Bardoň J., ³Karpíšková R., ³Brodíková K.

¹ *Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc*¹

² *Státní veterinární ústav v Olomouci*

³ *Lékařská fakulta Masarykovy univerzity Brno*

Staphylococcus aureus (SA) je komenzálem a oportunním patogenem vyskytujícím se na kůži a sliznici (především dýchacího a trávicího traktu) zdravých osob. Bylo prokázáno, že kolonizace, která se pohybuje okolo 30 %, významně zvyšuje pravděpodobnost infekce tímto agens. Léčba stafylokokových infekcí se stává náročnější v souvislosti s výskytem meticilin-rezistentních kmenů (MRSA). Citlivé i rezistentní kmeny jsou častou příčinou komunitních i nozokomiálních infekcí. Na základě epidemiologických a genetických charakteristik se MRSA kmeny dělí na nemocniční (hospital-acquired, HA-MRSA) a komunitní (community-associated, CA-MRSA). Aktuálně lze v České republice na základě údajů z EARS-Net lze dokumentovat výskyt MRSA u 10 % SA izolovaných z krve [1].

Výskyt MRSA u zvířat začíná být popisován od roku 2005 [2]. Kolonizace a infekce MRSA byly zaznamenány u řady zvířat, od domestikovaných hospodářských přes domácí mazlíčky až po volně žijící suchozemské a/nebo vodní druhy [3]. Z hospodářských zvířat byl výskyt MRSA evidován především u prasat, skotu, koní či drůbeže. U domácích mazlíčků byl výskyt popsán u psů a koček a také u některých exotických zvířat. Kmeny asociované s hospodářskými zvířaty jsou označovány jako LA-MRSA (livestock-associated) [4]. K širokému rozšíření MRSA mezi hospodářskými zvířaty do značné míry přispělo nadužívání antimikrobiálních látek a používání zinku v chovech zvířat a dalších zemědělských činnostech [3]. Lidé přicházející do styku s hospodářskými zvířaty mohou být vystaveni vysokému riziku kolonizace těmito LA-MRSA.

V průběhu 10 měsíců (2023/2024) byly získány izoláty MRSA z humánní a animální oblasti a byly podrobeny genetické analýze. Z klinického materiálu pacientů Fakultní nemocnice a Vojenské nemocnice v Olomouci bylo z celkového počtu 3189 zachycených SA identifikováno 63 izolátů MRSA (prevalence 2 %). Tyto byly klasifikovány do 17 různých spa typů, přičemž nejčastějším z nich byl t003 (44 %). Za stejné časové období bylo izolováno 113 SA původem z animálních vzorků. Z nich bylo 19 identifikováno jako MRSA (prevalence 17 %) a nejčastějším spa typem byl t034 (53 %). U všech získaných MRSA byla zjišťována citlivost na antibiotika, přítomnost mecA/C genů, podmiňujících rezistenci k meticilinu a pomocí PCR metod byl sledován výskyt vybraných faktorů virulence.

- [1] <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>
- [2] Karpíšková, R., Štástková, Z., Karpíšková, S. (2009) Nález metilicilin rezistentních *Staphylococcus aureus* u zvířat. *Veterinářství* (2009);59:34-38.
- [3] Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev* (2018) 31:10.1128/cmr.00020-18
- [4] Cuny, C., Köck, R., & Witte, W. (Livestock associated MRSA (LA-MRSA) and its relevance for humans in Germany. *International journal of medical microbiology* (2013): IJMM, 303(6-7), 331–337.

Podpořeno grantem AZV ČR č. NU23-09-00488 a IGA_LF_2024_034.

Mgr. Kristýna Janoušková

Institut klinické a experimentální medicíny
Václavská 1958/9
140 21 Praha 4

e-mail: jaqk@ikem.cz

The association of genetic variants on the chromosomal loci 9p21, 6q25.1, and 2q36.3 with cardiac allograft vasculopathy development in patients after heart transplantation

¹Janouskova K., Jaroslav A. ^{1,4}Hubacek J. A., Vymetalova J, ¹Novakova S.,
³Chytilova S., ²Lukasova M.2, ¹Dlouha D.

¹ Center for Experimental Medicine, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic.

² Cardio Center, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Rep.

³ Statistical Unit, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Rep.

⁴ 3rd Department of Internal Medicine, 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

Background: Cardiac allograft vasculopathy (CAV) is an accelerated form of CAD characterized by concentric fibrous intimal hyperplasia along the length of coronary vessels, and is recognized as long-term complication after heart transplantation. The chromosomal loci 9p21, 6q25.1, and 2q36.3, represented by their respective leading variants rs10757274, rs6922269 and rs2943634, have been associated with a history of coronary artery disease (CAD) by genome-wide association studies. Our aim was to investigate the association of these variants with CAV.

Materials and Methods: The variants rs10757274, rs6922269 and rs2943634 were genotyped using PCR-RFLP in paired aortic samples of 735 heart recipients (mean age 50.7±12.2 years; 21.5% women) and corresponding donors (mean age 39.7±12.0 years; 26.1% women).

Results: We found similar genotype frequencies for all SNPs in heart recipients and donors. rs10757274 AA homozygotes were more frequent in patients with dilated cardiomyopathy and in patients with congenital heart disease compared to primary ischemic heart disease (30% resp. 41% vs. 20%; P=0.005). The recipient's variants of 9p21 (OR 1.94; 95% CI, 1.22-3.06 in GG vs. +A comparison, P=0.0059) and 2q36.3 (OR 2.47; 95% CI, 1.14-5.33 in +C vs. AA comparison, P=0.018) were associated with higher incidence of CAV. No such association was found for donor genotypes.

Conclusion: Our data suggest that rs10757274 and rs2943634 are significantly associated with CAV development.

Supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr. NU20-06-00061, and by MH CZ - DRO ("Institute for Clinical and Experimental Medicine – IKEM, IN 00023001"). All rights reserved.

RNDr. Martin Kašný, Ph.D.

Institute of Applied Biotechnologies a.s.
Služeb 3056/4, 108 00 Praha-Strašnice

tel: +420 739 394 364
e-mail: kasny@iabio.eu

Evaluation of quality of WGS and WES results using the validated protocols

^{1,2}Kvapilová K., ³Mišenko P., ³Radvanszký J., ³Budiš J., ³Gazdarica J., ³Pos O.,
⁴Korabečná M., ¹Kašný M., ³Szemeš T., ¹Kvapil P., ⁵Paces J., ⁶Kozmik Z.

¹ *Institute of Applied Biotechnologies a.s., Prague*

² *Charles University, Faculty of Science, Prague*

³ *Geneton s.r.o., Bratislava, Slovakia*

⁴ *Institute of Biology and Medical Genetics, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Prague*

⁵ *Institute of Molecular Genetics of the Czech Academy of Sciences, Laboratory of Genomics and Bioinformatics, Prague*

⁶ *Institute of Molecular Genetics of the Czech Academy of Sciences, Laboratory of Transcriptional Regulation, Prague*

Whole exome sequencing (WES) and whole genome sequencing (WGS) are standards in human clinical diagnostics and population genomics. We evaluated the quality and genotype concordance of single nucleotide variants (SNVs) and small insertions/deletions (indels) in paired blood and saliva genomic DNA (gDNA) isolates for WES and WGS protocols using reference-validated protocols.

The NIST standard Coriell NA12878 was repeatedly sequenced to validate WGS and WES protocols. NA12878 data calls were compared to the truth dataset published by the Genome in a Bottle Consortium. A paired comparison of blood-derived gDNA and saliva-derived gDNA was performed for SNVs and indels for both, WES and WGS. The level of genotype concordance was studied using ACMG SF v 3.2. gene set in two settings: exonic regions only/complete genes.

The F1 score of ten paired blood-saliva samples range between 0.8030-0.9998 for SNVs and between 0.8883-0.9991 for indels in the WGS, and between 0.8643-0.999 for SNVs and between 0.7781-1.000 for indels in WES. The quality pattern of called variants obtained from genomic-reference-based technical replicates correlates with data calls of paired blood-saliva-derived samples in all levels of tested examinations.

The resulting data shows a clear advantage of the WGS approach over WES; especially for indels analysis while confirming no significant differences between blood and saliva samples.

Poděkování: This research was supported by Operational Programme Integrated Infrastructure for the project ITMS: 313021BUZ3 (USCCCORD) co-financed by the European Regional Development Fund. Grant IMPAKT no. VJ01010123 provided by the Ministry of Interior of the Czech Republic.

Ing. Kristýna Kliková

VŠCHT Praha
Technická 3
166 28 Praha 6

tel: +420 774 777 988
e-mail: klikovak@vscht.cz

Analýza mikrobiálních komunit v Koněpruských jeskyních

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

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

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

Mikrobiálně indukované srážení uhličitánu vápenatého (MICP) je biomineralizační proces, při kterém mikroorganismy prostřednictvím své enzymatické aktivity produkují uhličitánu vápenatý (CaCO_3). Tento proces se s výhodou využívá například při recyklaci jemně drce-ného odpadního betonu (WCF), čímž přispívá ke snížení emisí CO_2 ve stavebnictví, které patří mezi významné producenty těchto emisí i stavebního odpadu. V současnosti jsou pro MICP nejčastěji využívány sbírkové bakteriální kmeny, jako například *Sporosarcina pasteurii* a *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. Z tohoto důvodu byla provedena analýza mikrobiálních komunit ve vápencových Koněpruských jeskyních (Česká republika), kde byly odebrány stěry z krasových útvarů a vzorky jeskynní vody. 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 budou přiřazeny k mikrobiálním druhům a data budou statisticky vyhodnocena. Paralelně s těmito analýzami byla na vzorcích provedena metoda nabohacování v B4 kultivačním médiu, díky níž byly získány další mikrobiální izoláty. Tyto izoláty byly již přiřazeny k mikrobiálním druhům a data byla statisticky vyhodnocena. 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 zlepšit tak mechanické vlastnosti kompozitních vzorků z recyklovaného odpadního betonu (WCF).

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

RNDr. Kateřina Kvapilová, Ph.D.

Institute of Applied Biotechnologies a.s.
Služeb 3056/4
108 00 Prague

tel: +420 605 200 674
e-mail: kvapilova.katerina@gmail.com

AI systémy v klinické diagnostice: Povinnosti souladu s AI Actem

Kvapilová K.

Institute of Applied Biotechnologies, a.s.

Užití systémů umělé inteligence (AI) v klinické diagnostice přináší významné příležitosti pro zlepšení diagnostiky a péče o pacienty. Evropské nařízení o umělé inteligenci (AI Act) klasifikuje zdravotnické prostředky s prvky AI jako systémy vysokého rizika, což vyžaduje splnění specifických požadavků pro jejich bezpečné a etické použití. Tento poster poskytuje přehled klíčových povinností pro poskytovatele, distributory a zavádějící subjekty těchto AI systémů. Cílem je informovat o nezbytných opatřeních pro bezpečné a efektivní využití AI nástrojů v souladu s platnou legislativou.

RNDr. Alice Mášová, PhD.

Biotechnologický ústav AV ČR, v.v.i.
Průmyslová 595
252 50 Vestec

tel: +420 325 873 746
e-mail: alice.masova@ibt.cas.cz

Pokročilé technologie pro transkriptomickou analýzu v aplikacích

Mášová A., Kulinich V., Abaffy P., Valihrach L.

Biotechnologický ústav AV ČR, v.v.i.

Pokročilé transkriptomické technologie se staly nepostradatelným nástrojem pro odhalování komplexity genové exprese ve zdraví i nemoci. Tento poster představuje praktické aplikace těchto technologií a jejich dopad na výzkum a vývoj terapií v projektech nedávno podpořených pracovištěm GeneCore Facility.

Bulková transkriptomika slouží jako robustní a nákladově efektivní metoda pro studium genové exprese na úrovni buněčných populací. Tato technologie byla úspěšně využita k monitorování odpovědi na novou léčbu v preklinickém modelu cévní mozkové příhody, což přineslo klíčové poznatky o buněčných mechanismech zkoumaného terapeutika¹. Transkriptomika na úrovni jednotlivých buněk posouvá hranice analýzy tím, že odhaluje buněčnou heterogenitu a umožňuje identifikaci vzácných buněčných populací, které často hrají klíčovou roli ve vývoji nebo patologii onemocnění. Tento přístup se ukázal jako neocenitelný v organoidovém modelu extrémně vzácného Alexandrova onemocnění, kde pomohl odhalit potenciální nový mechanismus tohoto onemocnění². Prostorová transkriptomika tyto metody dále doplňuje tím, že zachovává prostorovou organizaci genové exprese, což umožňuje mapovat molekulární a buněčnou architekturu tkání ve vysokém rozlišení. Tato technologie byla s naší podporou aplikována na myší model akutní mozkové ischemie, kde přispěla k vytvoření spaciotemporální mapy odpovědi gliových buněk na poškození³. Kromě toho tento poster představuje naše probíhající úsilí v rozvoji a standardizaci metod analýzy malých RNA, které jsou klíčové pro pochopení jejich regulační role v genové expresi a patologii⁴⁻⁶.

Tyto aplikace společně ukazují univerzálnost a potenciál pokročilých transkriptomických technologií, které poskytují cenné poznatky o složitých biologických procesech a otevírají nové možnosti pro terapeutické strategie.

- 1 Stokowska, A. et al. Complement C3a treatment accelerates recovery after stroke via modulation of astrocyte reactivity and cortical connectivity. *J Clin Invest* 133, doi:10.1172/JCI162253 (2023).
- 2 Matusova, Z. et al. Aberrant neurodevelopment in human iPS cell-derived models of Alexander disease. *Glia* 73, 57-79, doi:10.1002/glia.24618 (2025).
- 3 Zucha, D. et al. Spatiotemporal transcriptomic map of glial cell response in a mouse model of acute brain ischemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 121, e2404203121, doi:10.1073/pnas.2404203121 (2024).

- 4 Androvic, P., Benesova, S., Rohlova, E., Kubista, M. & Valihrach, L. Small RNA-Sequencing for Analysis of Circulating miRNAs: Benchmark Study. *J Mol Diagn* 24, 386-394, doi:10.1016/j.jmoldx.2021.12.006 (2022).
- 5 Androvic, P. et al. Two-tailed RT-qPCR panel for quality control of circulating microRNA studies. *Sci Rep* 9, 4255, doi:10.1038/s41598-019-40513-w (2019).
- 6 Androvic, P., Valihrach, L., Elling, J., Sjoback, R. & Kubista, M. Two-tailed RT-qPCR: a novel method for highly accurate miRNA quantification. *Nucleic Acids Res* 45, e144, doi:10.1093/nar/gkx588 (2017).

Ing. Henrietta Ottová

VŠCHT Praha
Technická 5
166 28 Praha

tel: +420 774 854 730
e-mail: ottovah@vscht.cz

Vliv emergentních polutantů na mikroorganismy v systému půda-rostlina

¹Ottová H., ¹Heřtová A., ²Mercl F., ¹Stiborová H.

¹ Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav biochemie a mikrobiologie

² Česká zemědělská univerzita, Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

Emergentní polutanty se v životním prostředí vyskytují ve velmi nízkých koncentracích, avšak i při těchto hladinách mohou představovat potenciální riziko pro organismy, včetně člověka. Nicméně dosud nejsou regulovány ani rutinně monitorovány. Mezi tyto látky patří například farmaceutické sloučeniny a chemikálie z kosmetických produktů, které se dostávají do odpadních vod a nejsou dostatečně odstraněny při jejich čištění. Tyto polutanty se mohou prostřednictvím zavlažování zemědělských plodin dostávat transpiračním proudem až do jedlých částí rostlin. Cílem tohoto projektu je sledovat vliv vybraných emergentních polutantů na půdní mikrobiotu a endofytní mikroorganismy cukety (*Cucurbita pepo*). Pro experiment byl využit speciální rhizobox, rozdělený na tři oddíly oddělené membránou neprostupnou pro kořeny. Do třetího oddílu, nejvzdálenějšího od kořenového systému cukety, byla aplikována směs polutantů obsahující farmaceutika, per- a polyfluorované látky a ftaláty. Tento experimentální design umožňuje nejen zkoumat vliv polutantů na půdní a endofytní mikrobiotu, ale také detekovat transfer polutantů v půdě a jejich potenciální příjem rostlinou. Pro analýzu změn mikrobioty byla z půdy každého oddílu a z kořenů cukety izolována DNA. Připravené amplikony pro prokaryotní gen 16S rRNA a eukaryotní ITS oblast byly následně sekvenovány pomocí technologie Illumina MiSeq. Získaná data byla zpracována v prostředí R. Předběžné výsledky naznačují, že přítomnost emergentních polutantů neměla významný vliv na diverzitu či složení mikrobiálních populací. Tento výzkum je podpořen Grantovou agenturou České republiky, projekt č. 25-17492S.

Mgr. Hana Vlášková

Laboratoř DNA diagnostiky DMP, KPDPM 1.LF UK a VFN
Ke Karlovu 455/2
128 08 Praha 2

tel: +420 224 967 232
e-mail: Hana.Vlaskova@vfn.cz

Vyšetření komplementární DNA přináší zajímavé nálezy variant sestřihu mRNA

Vlášková H., Štorkánová G., Hnízdová Boučková M., Stolnaia L.,
Wiederlechnerová H., Pešková K., Kožich V.

Diagnostické laboratoře dědičných poruch metabolismu, Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu, VFN a 1. LF UK v Praze

Při detekci patogenních variant Sangerovým sekvenováním PCR produktů na úrovni genomové DNA jsou kromě variant typu missense, nonsense, delece/inzerce nalezeny i varianty, které mohou způsobit chybný sestřih mRNA (buď již popsané sestřihové varianty, nebo varianty s nejasnou patogenitou, které zpravidla vyhodnocujeme *in-silico*).

Proto provádíme analýzu komplementární DNA ke zjištění konkrétního vlivu varianty na sestřih mRNA. V několika případech byla pomocí analýzy transkriptu detekována také rozsáhlá delece na jedné alele u onemocnění s AR dědičností.

Na úrovni genomové DNA nacházíme sestřihové varianty, které můžeme rozdělit do 3 skupin:

- varianty, které ovlivňují konsenzuální místo sestřihu,
- intronové varianty nepostihující konsenzuální místo sestřihu, většinou hluboko v intronu,
- exonové varianty beze změny nebo se změnou aminokyseliny.

Na úrovni komplementární DNA vedou k těmto změnám sestřihu mRNA:

- nezačlenění jednoho nebo více exonů do transkriptu,
- rozpoznání alternativního místa sestřihu a tím k prodloužení či zkrácení exonu,
- tvorba vazebného místa pro silencer/enhancer sestřihu, a to buď v intronu nebo v exonu,
- nestabilita vznikající alely a její odbourání před přepisem do mRNA (NMD), ztráta heterozygoty.

V tomto sdělení prezentujeme konkrétní případy vlivu sestřihových variant na transkript (cca 20 různých variant ve 13 různých genech).

Analýza komplementární DNA je důležitá pro přesnou charakterizaci nalezených variant, k pochopení patogeneze a k potvrzení diagnózy dané choroby na genetické úrovni. Ve většině vyšetřených případů nacházíme v minoritním množství i správně sestřižený transkript, jehož přítomnost může v některých případech vést k lehčímu fenotypu onemocnění u pacientů.

Podpora: MZ ČR – RVO-VFN 64165/2012.

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

Multiplexní mqPCR pro detekci *Locusta migratoria* a *Schistocerca gregaria*

¹Zdeňková K., ^{1,2}Čermáková E., ¹Žák P., ¹Táborová K., ³Čermáková A., ³Vašek J.,
³Vejl P.

¹ Vysoká škola chemicko-technologická v Praze;

² Národní centrum zemědělského a potravinářského výzkumu, v.v.i.;

³ Česká zemědělská univerzita v Praze

Sarančata představují skupinu hmyzu schopného vytvářet migrující roje, které mohou způsobit v tropických a subtropických oblastech zemědělcům významné škody na pastvinách i pěstovaných plodinách. Zároveň jsou však sarančata vnímána jako perspektivní zdroj potravy a krmiva díky svému nutričnímu profilu. Obsah živin u sarančat je srovnatelný, a v některých parametrech mohou být dokonce výživnější než běžné maso. V některých zemích již byly zavedeny legislativní normy regulující konzumaci jedlého hmyzu, včetně sarančat. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) schválil legální prodej jedlého hmyzu a výrobků z něj v členských státech EU a sestavil seznam druhů vhodných k použití jako potravin a krmivo. Mezi tyto druhy patří například saranče stěhovavá (*Locusta migratoria*), zejména v sušené formě, která vykazuje vysokou nutriční hodnotu. Prášek z tohoto hmyzu obsahuje velké množství polynenasycených mastných kyselin, včetně esenciálních kyselin, jako jsou kyselina linolová a α -linolenová, dále vitamíny skupiny B (B1, B2, B3, B12) a esenciální aminokyseliny.

Multiplexní PCR je efektivní metodou pro detekci přítomnosti specifických druhů hmyzu ve vzorcích potravin a krmiv, včetně saranče stěhovavé (*Locusta migratoria*) a saranče pustinné (*Schistocerca gregaria*). V naší studii byly navrženy specifické primery a sondy pro cílenou amplifikaci jaderné DNA těchto druhů. Optimalizace podmínek PCR byla provedena pomocí analýzy křivek tání amplifikovaných produktů a horizontální agarózové elektroforézy. Dále byly vypracovány podmínky pro qPCR, a to jak bez použití, tak i s využitím fluorescenčně značených sond. Oba přístupy, tj. endpoint PCR i qPCR, byly provedeny v multiplexním uspořádání a vykazovaly vysokou specifitu, selektivitu, schopnost kvantifikace a nízké detekční limity. Protokoly byly následně využity při analýzách vzorků potravin obsahujících hmyzí složky zakoupených v rámci evropského trhu.

Poděkování: Tento výzkum byl finančně podpořen Ministerstvem zemědělství ČR: grant č. QK23020101.

FIREMNÍ INZERCE





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

I.T.A. - Intertact s.r.o. je obchodní společnost založená v roce 1996. Společnost působí především jako dovozce a autorizovaný distributor laboratorního přístrojového vybavení, spotřebních materiálů, reagentů a laboratorních plastů od řady světových společností.

Zároveň působí jako technická a servisní organizace pro dodávané systémy, poskytující záruční i pozáruční servis a zajišťující odbornou aplikační podporu. Společnost I.T.A. - Intertact s.r.o. má na českém trhu rozhodující podíl na distribuci a prodeji řadě technologií jako jsou průtokové cytometry, hmotnostní spektrometry, hemokultivační a mykobakteriální systémy, systémy pro molekulární biologii, biochemii, imunochemii a řadu dalších oborů.

Od roku 2023 společnost významným způsobem rozšířila svoje působení do pokročilých technologií sekvenování DNA a rozšířila zvučná jména globálních výrobců o špičkovou technologii společnosti Oxford Nanopore Technologies, jejíž I.T.A. - Intertact s.r.o. je autorizovaným distributorem. V rámci našeho týmu jsou významní odborníci s dlouholetou praxí v daném oboru, schopní se schopností vytváření designu experimentů po celkové řešení včetně dodávky celé technologie.

Dlouholetými zákazníky společnosti jsou významná vědecká centra, fakultní nemocnice a další státní i soukromá zdravotnická a výzkumná zařízení. Společnost také organizuje odborné semináře a workshopy, čímž přispívá k rozvoji vědecké komunity.

Nejvýznamnějšími obory činnosti jsou:

Pokročilé technologie v Průtokové Cytometrii

I.T.A. - Intertact s.r.o. se pyšní dlouhodobou praxí a odborností v oblasti průtokové cytometrie, která umožňuje rychlou a přesnou analýzu a separaci buněčných populací. V této klíčové aplikaci pro klinické výzkumy a diagnostiku I.T.A. - Intertact s.r.o. spolupracuje s mnoha výrobci a sama je i výrobcem vlastní řady produktů pod značkou FoxFlow. V současné době dodává spolehlivé klinické diagnostické cytometry výrobce MINDRAY a špičkové spektrální cytometry a buněčné sortery SONY.



Buněčný sorter FP7000 od společnosti SONY

Biochemie v Klinické Praxi

I.T.A. - Intertact s.r.o. spolupracuje v oblasti klinické biochemie a imunochemie s největším asijským výrobcem v daném oboru, společností Snibe, která významně konkuruje světovým výrobcům kvalitou i cenou. V portfoliu I.T.A. - Intertact s.r.o. tak naleznete podporu pro širokou škálu klinických aplikací.

Odbornost v Mikrobiologii

S dlouholetými zkušenostmi v mikrobiologických analýzách je I.T.A. - Intertact s.r.o. schopna poskytovat vysoce kvalitní produkty pro rychlou a přesnou klinickou diagnostiku infekčních onemocnění. Poskytované technologie a reagentie jsou na špičkové úrovni a široce používané. Spolupráce se světovými výrobci jako Zybio, Autobio, Mindray, BioEksen nebo Biomolecular Systems zaručuje spolehlivé dodávky produktů pro rutinní diagnostiku i výzkum.



Hmotnostní spektrometr nové generace EXS 2600/ EXS 3000

Inovace a spolupráce s předními výzkumnými institucemi

I.T.A. – Intertact s.r.o. není pouze odborným distributorem, ale neustále investuje do vývoje a zavádění nejnovějších technologií, čímž si zajišťuje následování technických trendů a náskok před konkurencí. Široká spolupráce se špičkovými klinickými pracovišti a s akademickými výzkumnými institucemi je důkazem jejich odbornosti a odhodlání přinášet inovace do klinické praxe.



Specializace v NGS (Next-Generation Sequencing)

NGS GEEKS je nejnovější divizí I.T.A. – Intertact s.r.o. a zastupuje neprogresivnější technologii na trhu. Sekvenátory Oxford Nanopore Technologies umožňují přesnou a snadnou analýzu nukleových kyselin, ato včetně přímé sekvenaci RNA či proteinů! Kromě přístrojů poskytují produkty a podporu také pro přípravu sekvenačních knihoven, návrhy experimentů a následnou bioinformatickou analýzu. I.T.A. – Intertact s.r.o. je tak dnes nejkomplexnějším poskytovatelem produktů pro NGS na trhu.



Nanopórové sekvenátory Společnosti Oxford Nanopore Technologies

Více o I.T.A.-Intertact s.r.o.:

Web společnosti:

<https://www.ita-intertact.com>

LinkedIn:

www.linkedin.com/company/i.t.a.-intertact-s.r.o.

Tel.:

+420 224 810 196

Mail:

ita@ita-intertact.com

Adresa:

Černokostelecká 616/143, Praha 10, 108 00



Innovative technologies for your laboratory

QIAcuity Dx:

Where innovation meets
diagnostic excellence



innovative





**Preferovaná volba
pro skutečné profesionály**

Objevte komplexní portfolio **ELISABETH PHARMACON**

- **EliGene**® PCR diagnostické kity pro detekci bakterií a virů a kity určené pro lékařskou genetiku
- **EliGene**® DNA/RNA izolační kity
- **EliZyme**™ polymerázy
- **αPlastic**™ spotřební laboratorní materiál
- Laboratorní přístroje
- Syntéza oligonukleotidů na zakázku

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

obchod@elisabeth.cz



elisabeth.cz

We help discover the world.



GeneProof®

part of NuvinkaDx

croBEE® NA16 Nucleic Acid Extraction System Plus

Univerzální izolátor nukleových kyselin



croBEE® NA16 Nucleic Acid Extraction System Plus je plně automatický systém pro rychlou a účinnou extrakci nukleových kyselin ze širokého spektra biologických materiálů. Použitím jednorázové reagenční cartridge obsahující všechny potřebné chemikálie umožňuje jednoduchou manipulaci. Extrakci DNA i RNA provádí simultánně až ze 16 vzorků najednou.

Genetická izolace 101A: Novinka!

Cartridge je navržena speciálně pro extrakci DNA z plné krve, umožňuje vysokou výtěžnost extrahované DNA z tohoto komplikovaného materiálu.

VSTUPNÍ OBJEM VZORKU/ ELUČNÍ OBJEM	PRŮMĚRNÝ VÝTĚŽEK DNA µg/ml	PRŮMĚRNÁ ČISTOTA DNA A _{260/280}	PRŮMĚRNÁ ČISTOTA DNA A _{260/230}
200 / 60 µl	80	1.8	1.6
400 / 60 µl	148	1.9	1.8

Univerzální izolace 201A

Speciálně navržená cartridge pro extrakci DNA i RNA z širokého spektra klinických materiálů. Extrakční souprava je plně validovaná s celým portfoliem GeneProof PCR kitů.

- Validované typy vzorků pro extrakci DNA: Plná krev (EDTA), sputum, moč, sliny, sperma, klíšťata
- Validované typy vzorků pro extrakci RNA: Plazma, sérum, stěr, bronchoalveolární laváž (BAL), aspirát, mozkomíšni mok (CSF)

Otázky? Kontakt sales@geneproof.com

Mgr. Zbyněk Zvěřina ✉ zbynek.zverina@geneproof.com | +420 728 251 782



Ucelené řešení pro laboratorní komplement

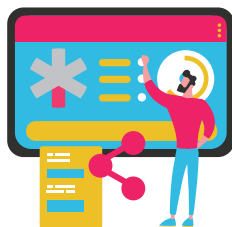
- Zvýšení efektivity laboratorního provozu
- Integrace všech laboratorních odborností v jednom systému
- Kompletní podpora všech laboratorních procesů
- Splnění požadavků ISO 15189, ÚZIS a SUKL
- Zabezpečení podle GDPR i Zákona o kybernetické bezpečnosti
- Propojení s nejmodernějšími laboratorními technologiemi
- 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



FONS OPENLIMS



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.



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



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

POZNÁMKY:





RUTINNÍ ANALÝZA NUKLEOVÝCH KYSELIN

PROGRAM A SBORNÍK KONFERENCE RANK 2025

Vydalo STAPRO s. r. o., Pernštýnské nám. 51, 530 02 Pardubice
jako doprovodnou publikaci konference RANK 2025.

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

Foto na titulce: © František Lokaj



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