

XXXII. konference mladých mikrobiologů

TOMÁŠKOVY DNY 2023



Masarykova univerzita
Brno 2023

**Mikrobiologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice
u svaté Anny v Brně**

Československá společnost mikrobiologická

Společnost pro mikrobiologii a epidemiologii ČLS JEP

Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP

In co-operation with American Society for Microbiology.

Redakce: Organizační tým Tomáškových dnů,
Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně

© 2023 Masarykova univerzita

ISBN 978-80-280-0314-2

<https://doi.org/10.5817/CZ.MUNI.P280-0314-2023>

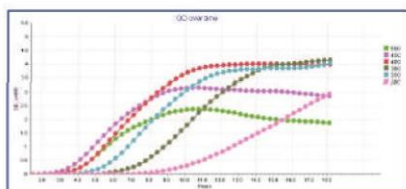
Sponzoři



GeneProof[®]



Osobní bioreaktory RTS jsou zařízení pro mikrobiální kultivaci s automatickým sledováním růstové křivky v reálném čase s možností uživatelské kalibrace na jakýkoliv měřený mikroorganismus.



Typické aplikace:

- Sledování kinetiky růstu během fermentace
- Optimalizace vhodného prostředí
- Sledování chování mikroorganismů v různém prostředí / odlišných podmínkách
- Testování antibiotické rezistence
- Sledování exprese proteinu
- Simulace teplotních šoků
- Kontrola kvality kmene

Patentovaná technologie Reverse-Spin®

RTS-1C

Rozsah měření: 0 - 10 OD
Teplotní rozsah: 4 - 70°C
Objem vzorku: 10 - 30 ml
Rychlost otáček: 50 - 2000 rpm
Počet kanálů: 1



RTS-8

Rozsah měření: 0 - 100 OD
Teplotní rozsah: 15 - 60°C
Objem vzorku: 3 - 50 ml
Rychlost otáček: 150 - 2700 rpm
Počet kanálů: 8



ZAPŮJČENÍ ZDARMA!

PRO ZAPŮJČENÍ ZDARMA NÁS NEVÁHEJTE KONTAKTOVAT

Tomáškovy dny 2023 – program

1. 6. 2023

09:00–09:15 Slavnostní zahájení, začátek valné hromady ČSSM

09:15–10:45 Nejlepší mladí mikrobiologové

01. Vysokovýkonné sekvenovanie: determinácia mikrobiálnych spoločenstiev v srvátke a v prevádzkach slovenských bryndziarní

Z. Farkas, N. Klišťincová, M. Bučková, F. Maisto, D. Pangallo, J. Koreňová, T. Kuchta

02. Využití metod pro delimitaci druhů v taxonomii rodu *Aspergillus*

F. Sklenář, V. Hubka

03. Vliv morfolgie nanovláknenných materiálů na retenci a tvorbu biofilmu klinicky a potravinářsky významných bakterií

S. Lencová

10:45–11:15 Coffee break

11:15–11:55 Lékařská a klinická mikrobiologie I.

04. Polymikrobiální podstata chronických ranných infekcí – etiologie, diagnostika a možnosti terapie

P. Urbanová, V. Holá

05. Prevalence kmenů *Staphylococcus aureus* produkujících Panton-Valentinův leukocidin izolovaných z ran

L. C. Hermanová, T. Botka, F. Růžička, A. Siváková, J. Vrbský

06. Interakce mezi patogeny, jež kolonizují plíce pacientů s cystickou fibrózou

V. Kučová, L. Homola, N. Šťastná, E. Pokojová, K. Snopková

07. Využitie špecifických kultivačných a PCR metód pre detekciu koinfekcií a kolonizácií vybranými rezistentnými baktériami u pacientov diagnostikovaných v laboratóriách Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně na respiračné vírusové infekcie

Z. Hrušovská, M. Dvořáčková, J. Vrbský

11:55–12:10 Valná hromada ČSSM

12:10–13:45 Oběd

13:45–14:30 Poster session I

14:30–15:10 Lékařská a klinická mikrobiologie II.

08. *Streptococcus pyogenes* – staronová hrozba s narůstajícím trendem?

J. Závora, G. Kroneislová, V. Adámková

09. Výskyt animálních kmenů meticilin rezistentních *Staphylococcus aureus* u lidí

K. Brodíková, I. Koláčková, R. Karpíšková

10. Infekce *Cryptococcus neoformans* v likvoru zachycené ve Fakultní nemocnici Hradec Králové

J. Ondrouch, M. Fajfr, L. Ryšková, R. Kukla, P. Šmahel

11. *Scedosporium aurantiacum* – vzácný původce mykotické keratitidy

J. Štanclová, R. Kukla, M. Vejsová, P. Česáková, L. Ryšková, K. Nouzovská

15:10–15:30 Coffee break

15:30–16:30 Antimikrobiální rezistence a nové antimikrobiální přípravky

12. Detekce karbapenemáz pomocí fenotypových metod. Zkušenosti ze Všeobecné fakultní nemocnice

G. Kroneislová, J. Závora, V. Adámková

13. Detekcia produkcie enterotoxínov a vybraných mechanizmov rezistencie voči antibiotikám u *Staphylococcus sp.*

J. Koreneková, A. Vavreková, P. Olejníková, L. Bírošová

14. Vplyv pH a koncentrácie NaCl na tvorbu biofilmu *Cutibacterium acnes*

D. Diabelko, F. Růžička

15. Posouzení účinku antimikrobiálních enzymů na biofilm meticilin rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus*

M. Kouřilová, L. Vacek, Š. Kobzová, L. Janda

16. Možnosti terapeutického ovlivnění bakterie *Staphylococcus aureus* pomocí bakteriofága JK2

M. Osowski, A. Siváková, F. Růžička, T. Botka

17. In vivo testování antimikrobiálního hydrogelového krytí ran založeného na pryskyřici Gum Karaya suplementovaného fágovým preparátem

L. Vacek, D. Kleknerová, B. Lipový, E. Jeklová, R. Pantůček, L. Vojtová, F. Růžička

18:00–23:00 Společenský večer

2. 6. 2023

9:30–10:10 Biofilmy

18. In vitro formation of dual-species biofilms: What is behind the increasing antimicrobial resistance?

P. Vávrová, K. Konečná, A. Diepoltová, O. Jand'ourek, P. Nachtigal

19. A promising support for last-resort antibiotics – A new 2-aminooxazole derivative enhances the anti-biofilm effect of colistin against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*

A. Diepoltová, D. Nawrot, O. Jand'ourek, M. Juhás, P. Bárta, P. Vávrová, V. Pallabothula, P. Hatoková, M. Vejsová, B. Voxová, P. Nachtigal, J. Zitko, K. Konečná

20. Vliv nanomateriálů funkcionalizovaných chlorhexidinem na růst, tvorbu biofilmu a transkripční profil bakterie *Staphylococcus aureus*

M. Štindlová

21. Biologické účinky vybraných olejových extraktů na *Arcobacter*-like species

L. Hofmeisterová, D. Šilha, R. Kand'ár

10:10–10:40 Coffee break

10:40–11:20 Technická mikrobiologie

22. PAW (plasma activated water) a její potenciální využití v eliminaci patogenních bakterií

J. Flodr, F. Růžička, P. S'ahel,

23. Sledovanie účinnosti antimikrobiálnych látok pomocou Ramanovej spektroskopie

K. Rebrošová, M. Šiler, O. Samek, F. Růžička

24. Testování dezinfekčních účinků sloučenin na bázi biodegradovatelných oligomerů

N. Baslerová, R. Olejník, M. Pejchalová

25. Intensified production and activity screening of recombinant RdRp

K. Žigová, M. Rebroš

11:20–11:45 Toxikologie a enviromentální mikrobiologie

26. Behaviorálne dôsledky vystavenia embryí *C. elegans* nízkym dávkam bisfenolu A a S

K. Melnikov, P. Hockicková, Z. Bárdyová, S. Kucharíková, A. Kaiglová

27. Výskyt *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 vo vybraných povrchových vodách Slovenska

A. Vozárová, M. Seman

11:45–12:10 Mikrobiologie potravin

28. Mikrobiologická kvalita mliečnych produktov z pohľadu rastu *Mucor circinelloides*: aplikácia modelov prediktívnej mikrobiológie

M. Koňuchová, A. Boháčiková, L. Valík

29. Katechíny zo zeleného čaju a ich inhibičný účinok na rast baktérií a vláknitých húb

K. Hollá, L. Bírošová, P. Olejníková

12:15 Slavnostní zakončení

Postery

P 01. Autovakcíny a jejich význam a použití v hojení ran

J. Bartková, R. Hrušovská, Z. Jelínková, B. Lipový

P 02. Využitie Algivonu a Actilitu v kontrole rozvoja infekčných komplikácií popálenej plochy

J. Bartková, J. Bartošková, B. Lipový

P 03. Lokálne komplikácie liečby popálenej plochy medúzou

J. Bartková, B. Lipový

P 04. Mikrobiálne nálezy u polytraumatu po úraze elektrickým prúdom vysokého napätia

J. Bartková, G. Michalčáková, F. Raška, B. Lipový

P 05. Výskyt črevných parazitóz u detí z Košického kraja

V. Bednárová, P. Juriš, E. Hatalová

P 06. Smartfón ako vehikulum prenosu potenciálne nebezpečných baktérií

A. Binka, M. Ujpál, P. Olejníková, H. Dibalová

P 07. Účinok fotodynamickej inaktivácie v prítomnosti metylénovej modrej na biofilmy tvorené mikroorganizmami *Candida albicans* a *Staphylococcus aureus*

J. Czucz Varga, J. Bujdák, H. Bujdáková

P 08. Možnosť rozlíšenia klinicky významných kvasiniek pomocou Ramanovej spektroskopie

M. Hrabovská, K. Rebrošová, M. Šiler, O. Samek, F. Růžička

P 09. Inovácia učebných textov a metód z predmetu Lekárska mikrobiológia obohatená o audiovizuálne spravovanie

L. Janošíková, A. Liptáková

P 10. Antiproliferative activity of viral glycoprotein UL144 in tumor cells

K. Lopusná, M. Benko, A. Bitala, I. Nemčovičová

P 11. Evaluation of antiviral activity of novel compounds targeting cysteine proteases of SARS-CoV-2 in mammalian model cell line VERO-E6

K. Lopusná, I. Štibrániová, M. Sláviková, B. Klempa, S. Lenhartová, I. Nemčovičová

P 12. Vplyv príjmu kolového nápoja a podávania laktobacilov na expresiu vybraných interleukínov v slezine potkana

P. Novák, B. Dudík, M. Dudíková, F. Bilka, B. Hlubinová, A. Bilková, H. Kiňová Sepová

P 13. Porovnání promoření drobných savců bakterií rodu *Borrelia burgdorferi sensu lato* mezi lokalitou skládky, obcí a přírodní lokalitou

T. Rozsypalová, A. Žáková, H. Nejezchlebová, M. Dušková

P 14. Nález *Aerococcus urinae* v moči u polymorbídneho pacienta s urotelovým karcinómom

Ž. Tóth, Cs. Haver, L. Slobodníková

01. Vysokovýkonné sekvenovanie: determinácia mikrobiálnych spoločenstiev v srvátke a v prevádzkach slovenských bryndziarní

Z. Farkas (1), N. Klišťincová (1), M. Bučková (1), F. Maisto (1), D. Pangallo (1), J. Koreňová (2), T. Kuchta (2)

(1) Ústav molekulárnej biológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava, SK

(2) Výskumný ústav potravinársky, Národné poľnohospodárske a potravinové centrum, Bratislava, SK

Úvod

Bryndza patrí medzi slovenské tradičné syry vyrobené pomletím vyzretého ovčieho hrudkového syra. Mikroorganizmy nielenže prispievajú jedinečným organoleptickým vlastnostiam bryndze, najmä chuti a vône, ale častokrát sú spájané s jej kazením, pričom je dokázané, že mikroflóra výrobných priestorov a zrecích komôr jej dodávajú unikátny charakter. Využitie moderných molekulárno-biologických metód predstavuje veľký potenciál pre komplexnú determináciu diverzity mikroorganizmov ako vo fermentovaných potravinových produktoch, vrátane syrov a srvátky, okolitého prostredia alebo pre ich následné použitie ako štartovacie a doplnkové kultúry pri výrobe syrov. Metodický prístup práce zahŕňal primárne kultivačne-nezávislú analýzu srvátky, vzorky vzduchu zachytené zo syrárne, bryndziarne a zrecej miestnosti použitím Biosamplera, ako i sterov získaných zo zrecích kadí a políc. Po optimalizovaní podmienok extrakcie DNA a následnej amplifikácie fragmentov 16S rRNA pre bakteriálne a 28S rRNA pre fungálne druhy pomocou PCR metódy, purifikované amplikóny boli podrobené sekvenovaniu prostredníctvom MinION zariadenia (Oxford Nanopore Technology) s následnou bioinformatickou evaluáciou dát. Dosiahnuté výsledky preukázali veľkú rozmanitosť zastúpenia mikroorganizmov v jednotlivých prevádzkach, ako i medzi samotnými vzorkami. Najvyšší podiel identifikovaných baktérií predstavoval kmeň *Proteobacteria* a z fungálnych druhov prevažoval kmeň *Ascomycota*. Táto prípadová štúdia potvrdzuje skutočnosť, že zavedenie novodobých techník pri analýze mikrobiómu je kľúčová, ako pre samotné fermentované výrobky, tak i pre okolité prostredie.

Podakovanie: táto štúdia bola financovaná z projektov: APVV-20-0001 „BryndzaStart – Štartovacie a prídavné kultúry na výrobu slovenskej bryndze s tradičnými organoleptickými vlastnosťami“ a z APVV-19-0031 „SafeCheese – Mikrobiálne kontaminanty v tradičných slovenských syroch: ich eliminácia vedeckými nástrojmi založenými na kvantitatívnej analýze a matematickom modelovaní“.

02. Využití metod pro delimitaci druhů v taxonomii rodu *Aspergillus*

F. Sklenář (1, 2), V. Hubka (1, 2)

(1) Mikrobiologický ústav, Akademie věd České republiky, Praha, CZ

(2) Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha, CZ

Aspergillus patří mezi nejvýznamnější rody vláknitých hub. Jeho zástupci jsou klinicky a biotechnologicky významné druhy, modelové organismy v genetice, nebo druhy znehodnocující potraviny. Rod v současnosti zahrnuje zhruba 450 druhů a toto číslo v posledních letech rychle narůstá. Rozvoj molekulárních technik způsobil velký nárůst objemu molekulárních dat získávaných a využívaných v taxonomických studiích. S tím souvisí i rozmach ve vývoji softwaru pro zpracování těchto dat. V taxonomii mnoha skupin organismů jsou stále častěji používány fylogenetické metody pro delimitaci druhů (nejčastěji založeny na modelu mnohodruhové koalescence). Předností této analýzy je vytvoření nezaujatého pohledu na taxonomii studované skupiny. V rámci naší pracovní skupiny jsme již tyto metody využili pro objasnění druhových hranic v několika částech rodu *Aspergillus* (sekce *Restricti*, *Flavipedes*, *Candidi*, série *Viridinutantes*, *Versicolores*, *Nigri*). Použití delimitačních metod vedlo v některých případech k popisu nových druhů, ale došlo také na synonymizace dosud akceptovaných druhů (počet druhů v sérii *Versicolores* byl snížen ze 17 na 4). Využití těchto metod společně se splněním předpokladů nezbytných pro smysluplný průběh analýzy (např. přítomnost vnitrodruhové variability v datasetu) může dlouhodobě vést ke stabilizaci taxonomie a lepší funkčnosti druhu jakožto základní jednotky systematiky a biodiverzity (nejen) v rámci rodu *Aspergillus*.

03. Vliv morfologie nanovláknenných materiálů na retenci a tvorbu biofilmu klinicky a potravinářsky významných bakterií

S. Lencová (1)

(1) Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha, CZ

Nanovláknenné materiály (NM) mají značný potenciál v lékařských a potravinářských aplikacích, pro něž je zásadní, aby byly NM mikrobiologicky bezpečné. NM jsou proto často funkcionalizovány antimikrobiálními látkami. To však může vést k rozvoji antimikrobiální rezistence, která je považována za jednu z největších globálních hrozeb současnosti. Výzkum ukazuje, že výrazného snížení mikrobiálních rizik může být dosaženo úpravou morfologie NM bez nutnosti jejich funkcionalizace. V naší studii byly připraveny nefunkcionalizované polyamidové (PA) NM lišící se průměrem vláken a plošnou hustotou a byl porovnán vliv těchto parametrů na retenci a tvorbu biofilmu vybraných kmenů *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* a *Escherichia coli*. PA NM funkcionalizované AgNO₃ nebo chlorhexidinem sloužily jako kontroly. Tvorba biofilmu byla hodnocena stanovením KTJ/cm², barvením resazurinem a skenovací elektronovou mikroskopií (SEM). Retence byla testována filtrací bakteriální suspenze přes NM filtr s následným stanovením KTJ a SEM. Morfologie PA významně ovlivnila oba testované typy interakcí. Průměr vláken byl hlavním faktorem ovlivňující tvorbu biofilmu ($p \leq 0,01$); byly odhaleny korelace mezi propustností vzduchu a plošnou hustotou a průměrem vláken. Plošná hustota byla rozhodujícím faktorem při retenci bakteriálních buněk ($p \leq 0,01$), vliv průměru vlákna nebyl prokázán. Výsledky naznačují, že úpravou morfologie lze cíleně ovlivnit retenci i tvorbu biofilmu, čímž by mohlo být možné snížit rizika infekcí a intoxikací spojených s kontaminovanými NM.

Výzkum byl podpořen grantem Grantové agentury ČR č. 23-05154S.

04. Polymikrobiální podstata chronických ranných infekcí – etiologie, diagnostika a možnosti terapie

P. Urbanová (1), V. Holá (1)

(1) Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

Chronické ranné infekce jsou infekce ran, které neprošly standardními fázemi hojení a stagnují v zánětlivé fázi. Role polymikrobiálních biofilmů přímo souvisí s problémem chronicity ran, především pak s problematickou léčbou takto postižené rány. Biofilmy jsou komplexní trojrozměrné struktury složené z konsorcií mikroorganismů, které v chronických ranách stimulují trvalou zánětlivou reakci imunitního systému. Cílem této práce byla optimalizace kultivačního protokolu a s jeho pomocí následně identifikace co možná největšího spektra mikrobů z těchto ran. Využitelnost navrženého protokolu byla testována rovněž na porovnávání v zastoupení a povaze mikroorganismů ve dvou skupinách materiálů – v setu chronických a setu akutních ran. Navržený kultivační protokol sestává ze sedmi pevných kultivačních médií a dvou tekutých médií. V rámci navrženého protokolu došlo též k prodloužení doby kultivace u vybraných médií oproti standardním bakteriologickým postupům v klinické laboratoři. Díky všem těmto aspektům jsme byli schopni získat téměř pětinasobný počet mikrobů zachycených z jednotlivých ran a zároveň stanovit jejich množství, a tedy mikrobiální nálož v dané ráně. Použitelnost navrženého protokolu byla potvrzena charakterizací polymikrobiálních společenstev v chronických ranách, jejichž identifikace, kvantifikace a zhodnocení jsou rovněž výsledkem této diplomové práce.

Tento rozšířený kultivační protokol bude využit v rámci řešení grantové projektu AZV MZd s názvem Polymikrobiální podstata infekcí nehojících se ran a terapeutický potenciál konceptu založeného na 3D biotisku pro léčbu těchto infekcí (AZV NU22-05-00110).

05. Prevalence kmenů *Staphylococcus aureus* produkujících Panton-Valentinův leukocidin izolovaných z ran

L. C. Hermanová (1), T. Botka (3), F. Růžička (1), A. Siváková (1), J. Vrbský (1, 2)

(1) Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(2) International Clinical Research Center (ICRC), Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno, CZ

(3) Oddělení genetiky a molekulární biologie, Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, CZ

Cílem práce bylo zjistit prevalenci kmenů *Staphylococcus aureus* (STAU) produkujících toxin Panton–Valentinův leukocidin (PVL) mezi izoláty STAU z ran od pacientů na Mikrobiologickém ústavu FN u sv. Anny a LF MUNI v letech 2021–2022. Celkem bylo nasbíráno 322 klinických izolátů STAU, které byly následně vyšetřeny metodou PCR detekcí genů lukS-PV a lukF-PV. Dále byla sledována citlivost vůči antibiotikům, věk pacientů a lokalizace rány. Podařilo se prokázat 17 producentů PVL toxinu, prevalence je tedy 5,3 % a medián pro věk byl 48 let. Tento výsledek je srovnatelný s podobnými studiemi ze zahraničí. Mezi kmeny jsme pouze u jednoho vzorku zachytili inducibilní rezistenci MLSB. Mezi vzorky v souboru bylo ovšem málo rezistentních izolátů (4 % MRSA, 24 % MLSB). Většina izolátů se STAU PVL+ bohužel neměla uvedenou lokalizaci rány.

Práce byla podpořena z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU21J-05-00035.

06. Interakce mezi patogeny, jež kolonizují plíce pacientů s cystickou fibrózou

V. Kučová (1), L. Homola (2), N. Šťastná (3), E. Pokojová (3), K. Snopková (1)

(1) Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(2) Klinika dětských infekčních nemocí Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(3) Klinika nemocí plicních a TBC Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, CZ

Cystická fibróza (CF) je závažné onemocnění postihující především dýchací aparát. V plicích pacientů se množí oportunní patogeny, z nichž jednou z nejčastějších je *Pseudomonas aeruginosa*, jež je díky vysoké rezistenci a produkci mnoha virulencních faktorů obávaným patogenem, který často odolává antibiotické terapii a infekce přechází do chronického stavu. Pyociny, antimikrobiální proteiny produkované *P. aeruginosa*, představují určitou alternativu při terapii pseudomonádových infekcí.

Cílem práce bylo získat a charakterizovat mikrobiální složení sputa a laryngeálních stěrů, jež byly odebrány pacientům s CF, kteří jsou sledováni v CF centru Brno. Dále se práce zaměřovala na izoláty *P. aeruginosa*, u kterých byly sledovány inhibiční interakce mezi jednotlivými kmeny a stanoveny vybrané faktory virulence (tvorba submerzního a aerovaného biofilmu, motilita pomocí „swimming“, „swarming“ a/nebo „twitching“, sekrece hemolyzinů).

Během období 10/2021–1/2023 bylo získáno 52 vzorků pocházejících od 21 pacientů s CF. *P. aeruginosa* byla izolována od 14 pacientů a celkem bylo získáno 31 kmenů. Spolu s *P. aeruginosa* byla ve sputu pacientů detekována často běžná flóra, ale i oportunní patogeny jako *Staphylococcus aureus* nebo *Candida spp.* V jednotlivých případech byla zaznamenána přítomnost druhů *Achromobacter xylosoxidans*, *Acinetobacter sp.* nebo *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium*.

V rámci studie bylo vyšetřeno 46 izolátů *P. aeruginosa* (ke 31 kmenům získaným během sběru 2021–23 bylo přidáno 15 izolátů ze sbírky MiÚ FNUSA). Pomocí PCR bylo zjištěno, že každý z testovaných kmenů nesl alespoň 1 gen pro syntézu pyocinu, průměr pak byl 5,3 genů. Schopnost vzájemné inhibice kmenů byla prokázána fenotypovým testováním. Z celkového počtu 2 116 reakcí byla inhibiční zóna pozorována u 737 (34,8 %) reakcí. U většiny kmenů byly také detekovány testované faktory virulence. Schopnost tvořit submerzní biofilm byla zjištěna u 95,7 % izolátů, méně kmenů pak tvořilo aerovaný biofilm (63,0 %). V celém souboru se nacházely pouze dva nepohyblivé kmeny ve všech třech testovaných typech motility, přičemž nejvíce kmenů vykazovalo „swarming“ motilitu (93,5 %), která je důležitá pro tvorbu biofilmu. Taktéž produkce hemolyzinů byla prokázána u všech izolátů.

Práce byla podpořena grantem MUNI/A/1361/2022.

07. Využitie špecifických kultivačných a PCR metód pre detekciu koinfekcií a kolonizácií vybranými rezistentnými baktériami u pacientov diagnostikovaných v laboratóriách Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně na respiračné vírusové infekcie

Z. Hrušovská (1, 2), M. Dvořáčková (2), J. Vrbský (2, 3)

(1) Ústav biochemie, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(2) Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(3) International Clinical Research Center (ICRC), Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Brno, CZ

V štúdií sme skúmali koreláciu ochorenia COVID-19 a prítomnosť bakteriálnej infekcie u pacientov testovaných vo Fakultní nemocnici u sv. Anny v Brně. V minulých rokoch bol zaznamenaný zvýšený výskyt gramnegatívnych nefermentujúcich baktérií nielen v našej nemocnici, ale aj vo svete. Preto sme zisťovali spojitosť medzi bakteriálnou nákazou a COVID-19. Diagnostikovali sme výskyt *S. maltophilia*, *P. aeruginosa* a *Burkholderia sp.*

Analyzovaným materiálom boli nazofaryngeálne stery od pacientov, testovaných na SARS-CoV-2. Pacientske vzorky boli rozdelené do piatich skupín podľa typu poskytovanej starostlivosti – intenzívna, štandardná, ambulantná – ďalej na pacientov s chrípkou a kontrolnú skupinu. Počet testovaných patientskych vzoriek bol 585. Zber vzoriek sa konal od 1. 1. 2022 do 31. 8. 2022. Použitá metóda bola RT-PCR, ktorú sme optimalizovali pre naše laboratórne podmienky.

Kontrolné bakteriálne izoláty potvrdili funkčnosť nastavenej PCR diagnostiky. Rovnako pri referenčných patientskych vzorkách s preukázaným ochorením bolo možné spoľahlivo identifikovať prítomné baktérie. U nazofaryngeálnych sterov bola identifikácia zložitejšia. Problémom bola aj nízka frekvencia vybraných baktérií v populácií. U analyzovaných vzoriek sa nám podarilo detegovať 4 nálezy *S. maltophilia*, 4 nálezy *P. aeruginosa* a žiadny nález *Burkholderia sp.*

Práca je pilotnou štúdiou, v ktorej sa podarilo optimalizovať podmienky RT-PCR pre naše laboratórne podmienky. Výsledky potvrdili, že metóda RT-PCR je vhodnejšia pre detekciu nozokomiálnych patogénov než kultivácia. Do budúca očakávame použitie PCR pre screening nozokomiálnych infekcií.

08. *Streptococcus pyogenes* – staronová hrozba s narůstajícím trendem?

J. Závora (1, 2), G. Kroneislová (1, 3), V. Adámková (1)

(1) Klinická mikrobiologie a ATB centrum, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky
1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice, Praha, CZ

(2) Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc, CZ

(3) Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské a biochemické technologie,
Vysoká škola chemicko-technologická, Praha, CZ

Streptococcus pyogenes (STPY) je učebnicovým patogenem, který způsobuje široké spektrum onemocnění, od klasické streptokokové tonzilitidy, přes kožní infekční afekce, po závažná invazivní život ohrožující onemocnění. V poslední době incidence infekcí způsobených touto bakterií stoupá, obzvláště v kategorii závažných infekcí.

Pomocí dat z laboratorního informačního systému lze reportovat, že v období od začátku roku do konce dubna 2023 bylo zachyceno 289 infekcí způsobených STPY. Za celý rok 2022 se vyskytlo 301 STPY záchytů, v roce 2021 95 záchytů, v roce 2020 137 a v roce 2019 230. Je tedy zřejmé, že incidence je vyšší než před covidovou pandemií.

Prezentuji kazuistiku pacienta, který byl přijat pro suspektní flegmónu bérce. Pro extrémně vysoké zánětlivé parametry (C-reaktivní protein 428 mg/l, prokalcitonin 35 µg/l, leukocyty 27,7x10⁹/l, NLR 106) byla ihned zahájena antibiotická terapie cílená na infekci měkkých tkání. Stav se vzápětí rapidně horšil, bylo vysloveno podezření na nekrotizující fasciitidu, což vyžaduje okamžité operační řešení. Peroperačně bylo proveden odběr tkáně na mikrobiologické vyšetření s masivním záchytem STPY. Po odstranění velkého množství nekrotických tkání se stav zlepšil. Pacient byl dále léčen kombinací antibiotik s důrazem na inhibici proteosyntézy.

V případě závažných infekcí, kde hrozí podíl *S. pyogenes* na etiologii, je nutné podávat antibiotika, jejichž spektrum účinku streptokoky zahrnuje, a navíc inhibují proteosyntézu pro zastavení produkce toxinů.

09. Výskyt animálních kmenů meticilin rezistentních *Staphylococcus aureus* u lidí

K. Brodíková (1), I. Koláčková (1), R. Karpíšková (1)

(1) Ústav veřejného zdraví, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

Meticilin rezistentní bakterie *Staphylococcus aureus* (MRSA) kolonizují a způsobují infekce u lidí i u zvířat. Pro MRSA adaptované na zvířecí hostitele (LA-MRSA Livestock associated) jsou typickými znaky rezistence k tetracyklinu, absence genu *sak* pro tvorbu stafylokinázy a profágu Sa3int. Mezi nejčastější LA-MRSA se řadí sekvenční typ ST398, ten způsobuje infekce nejen u zvířat, ale i u lidí. Vyššímu riziku jsou vystaveni zejména lidé s přímým kontaktem se zvířaty, jako jsou veterináři či farmáři, není ale výjimkou výskyt i u lidí bez předchozího kontaktu se zvířaty.

V období od října 2021 do dubna 2023 bylo molekulárně charakterizováno 125 humánních MRSA získaných ze dvou klinických laboratoří, u kterých byla ověřena přítomnost genu *mecA* a zjištěna příslušnost k ST398 pomocí PCR. U izolátů náležících k ST398 byla provedena spa typizace. Dále byla provedena citlivost k antibiotikům difuzní diskovou metodou. U izolátů s rezistencí k tetracyklinu byl proveden průkaz přítomnosti genu *sak* a profágu Sa3int.

Z celkového počtu 125 izolátů MRSA náleželo 10 (8,0 %) k sekvenčnímu typu ST398 (dominoval spa typ t034, ojediněle i t1255, t8620, t571). Rezistenci k tetracyklinu ale vykazalo 48 izolátů (38,4 %). Ze zbylých 38 kmenů rezistentních k TE byly prokázány gen *sak* a Sa3int u 32 kmenů (84,2 %).

V této studii LA-MRSA ST398 tvořily 8% podíl na infekcích u lidí. Výsledky dokazují, že se tyto kmeny adaptují a přechází mezi hostitelskými organismy. To zvyšuje jejich zoonotickou hrozbu.

Tato práce byla podpořena projektem MUNI/A/1366/2022.

10. Infekce *Cryptococcus neoformans* v likvoru zachycené ve Fakultní nemocnici Hradec Králové

J. Ondrouch (1), M. Fajfr (1), L. Ryšková (1), R. Kukla (1), P. Šmahel (2)

(1) Ústav klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice Hradec Králové, Hradec Králové, CZ

(2) Klinika infekčních nemocí Fakultní nemocnice Hradec Králové, Hradec Králové, CZ

Úvod: V říjnu 2022 vydala Světová zdravotnická organizace (WHO) vůbec první seznam 19 patogenních mikromycet představujících hrozbu pro veřejné zdraví – Fungal Pathogens Priority List (FPPL). Agens jsou rozdělena do 3 skupin dle závažnosti hrozby (zejména podle antifugální rezistence, smrtnosti, dostupnosti adekvátní léčby atd.). Ve skupině „Critical group“ – nejzávažnějších hrozeb, se nalézá i *Cryptococcus neoformans*. Vzhledem k pokrokům medicíny a nárůstu kohorty dlouhožijících imunokompromitovaných osob v posledních zhruba 30 letech je nutné zvýšit pozornost ohledně výskytu fungálních infekcí.

Cíl: Cílem této práce bylo hodnocení nálezů kryptokoka v likvorech pacientů hospitalizovaných ve FNHK.

Metodika: Průkazy *C. neoformans* na ÚKM FNHK v likvorech pacientů v časovém období deseti let 2013–2023. Hodnoceny průkazy pouze přímými metodami. Kultivačně na Sabouradově agaru s následnou identifikací pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF, mikroskopicky barvením dle Burriho a molekulárně biologickým průkazem metodou Real Time-PCR zacíleným na oblast v genu CAP59. Tento gen je spoluzodpovědný za tvorbu charakteristického polysacharidového pouzdra. Následně mohou být druhy blíže dourčeny klasickou PCR založenou na genu STR1.

Výsledky: Molekulárně-biologickými metodami bylo vyšetřeno 179 vzorků likvorů od 136 pacientů. 7 pacientů bylo PCR pozitivních na *C. neoformans*. Z těchto 7 pacientů byli všichni pozitivní i kultivačně. Primární materiál od 3 pacientů byl navíc vyšetřen i mikroskopicky dle Burriho. 2 byly pozitivní a 1 negativní. Pacienti s prokázanou infekcí *C. neoformans* měli tyto základní diagnózy: u 2 pacientů závrť a dále bezvědomí, horečka, otřes mozku (neotevřená rána), onemocnění HIV s následnou encefalopatií a B-buněčný lymfom z malých buněk. 6 ze 7 pacientů bylo též testováno na HIV s pozitivitou ve 2 případech.

Závěr: Z výše uvedeného vyplývá že výskyt infekcí *C. neoformans* v likvorech ve FNHK zůstává prozatím sporadický.

11. *Scedosporium aurantiacum* – vzácný původce mykotické keratitidy

J. Štanclová (1), R. Kukla (2), M. Vejsová (2), P. Česáková (1), L. Ryšková (2), K. Nouzovská (3)

(1) Ústav klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové, Hradec Králové, CZ

(2) Ústav klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové, CZ

(3) Oční klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové, CZ

Scedosporium aurantiacum patří mezi vláknité houby, které se běžně vyskytují v prostředí, zejména v půdě, ovzduší a také v odpadních vodách. Tento oportunní patogen může způsobit mykotické infekce u imunosuprimovaných a výjimečně u imunokompetentních pacientů. Antimykotická terapie infekcí vyvolaných tímto druhem je obtížná. Je původcem infekce ucha, paranasálních dutin, vzácně i oka, kostí, CNS, dále může způsobit pneumonie, a rovněž kolonizovat dýchací cesty u pacientů s cystickou fibrózou.

Tato kazuistika popisuje případ 80leté ženy, která přišla do oční ambulance s bolestí oka. Pacientka v minulosti opakovaně podstoupila chirurgické zákroky na víčku pro lagoftalmus. Tři dny po posledním výkonu vznikl na rohovce vřed s přítomností hypopyonu. Po uvedeném zjištění byly provedeny stěry ze spojivkového vaku oka pravého a levého a z povrchu pravé rohovky, které byly odeslány na mikrobiologické vyšetření.

Za 48 hodin při 37 °C byl z výtěru pravého spojivkového vaku a pravé rohovky na krevním a Sabouradově agaru patrný nárůst plísně. Výtěr z levé spojivky byl mykologicky negativní. V nativním preparátu byla pozorována nediferencovaná mykotická vlákna s konidiogenními buňkami válcovitého až mírně baňkovitého/hruškovitého tvaru. Selhání antibiotické terapie, kultivační a mikroskopický nález vedl velmi rychle k podezření na mykotickou keratitidu. Plíseň byla identifikována metodou MALDI-TOF MS jako *Scedosporium aurantiacum*, což bylo dále potvrzeno sekvenční analýzou PCR produktu, tj. multikopiového genu z oblasti 18S rRNA. Citlivost na vybraná antimykotika byla stanovena diskovou difúzní a mikrodiluční metodou. Pro terapii byl použit vorikonazol systémově i ve formě očních kapek.

Záchyt *Scedosporium aurantiacum* ze stěru z oka je vzácný a vývoj této infekce je většinou nepříznivý, jelikož se jedná o druh rezistentní na běžná antimykotika. Infekce je často nerozeznatelná od jiných mykotických infekcí a vývoj terapie závisí na korektní identifikaci a vyšetření citlivosti etiologického agens. Pro diagnostiku takto raritního původce mykotické keratitidy je nutné kombinovat mikroskopické a kultivační metody, MALDI-TOF MS a molekulárně-biologické metody.

12. Detekce karbapenemáz pomocí fenotypových metod. Zkušenosti ze Všeobecné fakultní nemocnice

G. Kroneislová (1, 2), J. Závora (1, 3), V. Adámková (1)

(1) Klinická mikrobiologie a antibiotické centrum, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, Všeobecná fakultní nemocnice, Praha, CZ

(2) Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha, CZ

(3) Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc, CZ

Rezistence k antimikrobiálním látkám neustále stoupá, a to včetně rezistence ke karbapenemům u gramnegativních tyčinek (*Enterobacterales*, *Pseudomonas sp.* a *Acinetobacter sp.*). Ta může být způsobena produkcí karbapenemáz. Vhodným nástrojem je v první řadě mikrobiologický screening, který je prováděn z preventivní a epidemiologické indikace. Dále pak screening rezistence ke karbapenemům pomocí antibiogramu a detekce produkce karbapenemázy. Dle věstníku MZ ČR 08/2012 mají klinické laboratoře povinnost zasílat kmeny *Enterobacterales* s rezistencí ke karbapenemům ke confirmaci do Národní referenční laboratoře pro antibiotika (NRL ATB). U kmenů *Pseudomonas sp.* a *Acinetobacter sp.* je toto doporučeno. Klinická laboratoř může podat předběžné výsledky např. na základě fenotypových metod.

Jedná se o retrospektivní monocentrickou studii, do které byly zahrnuty unikátní izoláty gramnegativních tyčinek rezistentních ke karbapenemům zachycených v období 1/2021–4/2023 u pacientů ve Všeobecné fakultní nemocnici v Praze.

Ve sledovaném období bylo zachyceno 346 unikátních gramnegativních tyčinek rezistentních ke karbapenemům. U 173 (50 %) kmenů byla zachycena produkce karbapenemázy. U kmenů *Pseudomonas aeruginosa* bylo v roce 2021 nejvíce karbapenemáz typu VIM (40,7 %), v roce 2022 to byly karbapenemázy typu GES (57,6 %) a v období do 4/2023 typ GES (68,4 %). U *Acinetobacter sp.* byly v roce 2021 i v roce 2022 zachyceny hlavně karbapenemázy typu OXA jiné než OXA-48 (100 resp. 80 %). V období do 4/2023 bylo 85 % karbapenemáz typu VIM. U *Enterobacterales* v roce 2021 převažovaly karbapenemázy typu NDM (68 %), v roce 2022 resp. v období do 4/2023 typ OXA-48 (46,4 % resp. 42,1 %).

Včasná a správná detekce produkce karbapenemáz u kmenů gramnegativních tyčinek je zcela zásadní pro management pacienta a pro preventivních opatření, která zamezí šíření těchto mikroorganismů ve zdravotnickém zařízení.

13. Detekcia produkcie enterotoxínov a vybraných mechanizmov rezistencie voči antibiotikám u *Staphylococcus sp.*

J. Koreneková (1), A. Vavreková (1), P. Olejníková (2), L. Bírošová (1)

(1) Ústav potravinárstva a výživy, Slovenská technická univerzita, Bratislava, SK

(2) Ústav biochémie a mikrobiológie, Slovenská technická univerzita, Bratislava, SK

Stafylokokové toxoinfekcie vznikajú v dôsledku požitia potravy obsahujúcej stafylokokové enterotoxíny (SE) produkované stafylokokmi, najmä druhom *S. aureus*. Ak sú takéto toxínogénne stafylokoky navyše odolné voči pôsobeniu antimikrobiálnych látok, riziko otravy sa zvyšuje, rovnako aj možnosti ich šírenia a prežitia v prostredí.

V práci sme sa zamerali na stanovenie produkcie SE a s tým spojenej prítomnosti génov kódujúcich tvorbu SE, ale aj na identifikáciu vybraných mechanizmov rezistencie voči antibiotikám u šesťdesiatich izolátov rodu *Staphylococcus* získaných z humánných a živočíšnych vzoriek, ako aj zo vzoriek potravín. Majorita izolátov (58 %) bola získaná zo vzoriek potravín, z ktorých 74 % tvorili potraviny živočíšneho pôvodu. Pomocou MALDI-TOF sme identifikovali 11 rôznych druhov rodu *Staphylococcus*, z ktorých mal významné zastúpenie druh *S. aureus* (52 %). Enzymovou imunoanalýzou na pevnej fáze sme u izolátov detegovali produkciu SE typu A-E. Päťdesiat percent izolátov bolo schopných produkovať niektorý z SE, pričom 20 % z týchto izolátov patrilo medzi koagulázo-negatívne stafylokoky. Prítomnosť génov kódujúcich SE sme potvrdili PCR reakciou. Nakoľko získané izoláty boli odolné voči antibiotikám, sledovali sme u nich aj nadprodukciu efluxných púmp Carthweelovou metódou pomocou etídiu bromidu. Nadprodukciu efluxných púmp sme detegovali u piatich izolátov. Spektrofotometricky sme hodnotili mieru schopnosti produkcie biofilmu. Väčšina izolátov (63 %) patrila do skupiny stredne silných producentov biofilmu, zatiaľ čo 33 % vykazovalo veľmi silnú intenzitu produkcie.

V súčasnosti sa z hľadiska bezpečnosti potravín zvýšená pozornosť venuje najmä koagulázo-pozitívnemu druhu *S. aureus*. Naše výsledky však naznačujú, že aj koagulázo-negatívne stafylokoky môžu byť enterotoxigénne a potenciálne spôsobiť alimentárne intoxikácie. Znepokojenie vyvoláva aj zvýšená produkcia biofilmu u sledovaných izolátov stafylokokov, ktorá zhoršuje možnosti eliminácie daných baktérií v prostredí potravinárskych prevádzok a môže predstavovať kontinuálny zdroj kontaminácie potravín enterotoxínogénnymi druhmi.

14. Vplyv pH a koncentrácie NaCl na tvorbu biofilmu *Cutibacterium acnes*

D. Diabelko (1), F. Růžička (1)

(1) Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

Acne vulgaris je vysoko prevalentnou kožnou chorobou, ktorá postihuje približne 85 % dospelých na celom svete. Nejedná sa čisto o estetický problém, pretože jeho dopad významne zaťažuje psychiku a sociálne životy pacientov. Zložitá etiológia akné zahŕňa genetické, hormonálne, environmentálne a mikrobiálne faktory.

Cutibacterium acnes (*C. acnes*) je neoddeliteľnou súčasťou kožného mikrobiómu, udržuje kyslé pH a inhibuje rast iných baktérií. Napriek tomu *C. acnes* zohráva kľúčovú úlohu v patogenéze akné. Pri akné sa znižuje rozmanitosť fylotypov *C. acnes*, čo môže odštartovať indukciu vrodenej imunitnej reakcie a vyvolanie zápalu. *C. acnes* je schopná vytvárať biofilm, čo je jej ďalší významný faktor virulencie. Tento faktor umožňuje *C. acnes* unik pred bunkami imunitného systému hostiteľa a takisto napomáha preniknutiu do mazových žliaz, kde pôsobí ako lepidlo a napomáha tak tvorbe mikrokomedónov.

Náš výskum sa zameriava na pochopenie vplyvu pH a koncentrácie NaCl na produkciu biofilmu rôznych fylotypov *C. acnes*. Na hodnotenie vplyvu na tvorbu biofilmu sme použili kultiváciu v mikrotitračných doštičkách s rôznymi úrovňami pH a koncentrácií NaCl, s následným farbením podľa Christensena. Podarilo sa nám zistiť odlišnosť u niektorých fylotypov v produkcii biofilmu v závislosti na zmenách kultivačných podmienok.

Porozumením vzťahov medzi mikroprostredím kože, tvorbou biofilmu rôznymi fylotypami *C. acnes* a podmienkami, ktoré vedú k zníženej variabilite fylotypov *C. acnes* môže náš výskum pomôcť odhaliť bližšiu podstatu patofyziológie akné. Takisto to následne môže pomôcť objasniť patogénny potenciál jednotlivých fylotypov pri invazívnych infekciách či infekciách chronických rán. To môže viesť k získaniu potrebných informácií pre základ cielej liečby s vyšším účinkom a menším negatívnym vplyvom na kožný mikrobióm.

Projekt bol podporený z projektu AZV NU22-05-00110 a MUNI/A/1361/2022.

15. Posouzení účinku antimikrobiálních enzymů na biofilm meticilin rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus*

M. Kouřilová (1), L. Vacek (1, 2), Š. Kobzová (1), L. Janda (1)

(1) Oddělení infekčních chorob a preventivní medicíny, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno, CZ

(2) Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

Úvod

Bakteriální infekce představují neopominutelný problém ve zdravotnictví, mající na svědomí významné množství nemocnosti a úmrtnosti. Celá situace se zhoršuje nejen se snižující se citlivostí mikroorganismů k různým antibiotikům, ale také schopností některých bakterií vytvářet komplexní a vysoce odolné struktury biofilmu. Vývoj nových antimikrobiálních látek schopných eliminovat jak planktonní buňky, tak i biofilm, je proto jednou z možností, jak se se situací vypořádat.

Metodika

Byly připraveny mutantní varianty enzymu endolysinu rLysdermT s antimikrobiálním účinkem. Z původního endolysinu rLysdermT1 bylo připraveno několik variant pomocí metody bezešvého klonování, které měly za cíl vylepšit jeho teplotní stabilitu a antimikrobiální vlastnosti. Na základě měření růstových křivek v průběhu 24 hodin byly porovnány jednotlivé mutantní varianty a identifikována nejstabilnější varianta. Účinek antimikrobiálních enzymů na planktonní kultury i biofilmy meticilin rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* NRL/Atb 5921 (ST22) a *S. aureus* NRL/St 08/192 (ST30) byl porovnán s běžně využívanými antibiotiky pro topickou léčbu stafylokokových infekcí neomycinem a klindamycinem. Pro jednotlivé látky byla zjištěna minimální inhibiční koncentrace (MIC) a minimální biofilm inhibující koncentrace s využitím měření metabolické aktivity pomocí redukce resazurinu.

Výsledky

Z růstových křivek mutantních endolysinů bylo zjištěno, že varianta rLysderm-Y vykazuje v průběhu času nejvyšší stabilitu a nejlepší antibakteriální účinek. Byla proto vybrána pro další testování na kmenech *S. aureus*. MIC pro kmen *S. aureus* (ST22) látek rLysderm-Y, klindamycin a neomycin byly: 0,007 mg/mL, 0,156 mg/L a >40 mg/L. Pro kmen *S. aureus* (ST30): 0,028 mg/mL, 0,156 mg/L a 20 mg/L. MBIC pro kmen *S. aureus* (ST22) látek rLysderm-Y a klindamycin byly: 0,225 mg/mL a 2,5 mg/L Pro kmen *S. aureus* (ST30): 0,450 mg/mL a 2,5 mg/L. Synergické působení kombinace rLysderm-Y a klindamycinu bylo schopno inhibovat růst biofilmu od koncentrací 0,014 mg/mL (rLysderm-Y) a 0,078 mg/L (klindamycin).

Závěr

Byl prokázán inhibiční účinek nově připraveného teplotně stabilizovaného endolysinu rLysderm-Y jak na planktonické buňky, tak i na biofilm meticilin rezistentních kmenů *S. aureus*. Kombinace látek rLysderm-Y/klindamycin působila na biofilm inhibičně v koncentracích o více než dva řády nižších než při samostatném působení, což odpovídalo snížení koncentrace zhruba na úroveň původně naměřených hodnot MIC pro planktonní buňky.

16. Možnosti terapeutického ovlivnění bakterie *Staphylococcus aureus* pomocí bakteriofága JK2

M. Osowski (1), A. Siváková (1), F. Růžicka (1), T. Botka (2)

(1) Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(2) Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, CZ

Staphylococcus aureus je oportunní patogen s běžným výskytem v lidské mikrobiotě s četnými faktory virulence. Klinicky relevantní je především u infekcí poúrazových, pooperačních a jinak imunokompromitovaných pacientů ve zdravotnických zařízeních. Infekce má pyogenní charakter se sklonem ke tvorbě abscesů, ve vážnějších případech může dojít k sepsi, či syndromu toxického šoku (TSS). Terapie je komplikována nárůstem antibiotické rezistence, typickým případem je meticilin-rezistentní *S. aureus* (MRSA) a méně prevalentní, vankomycin-rezistentní *S. aureus* (VRSA). V roce 2019 představoval *S. aureus* 26 % úmrtí způsobených antimikrobiální rezistencí ve vyspělých zemích. Výhradně MRSA byl v témže roce přímo odpovědný za více než 100 tisíc úmrtí globálně.

Vzestup a šíření rezistentních kmenů spolu se sporadickou inovací v oblasti nových antibiotik vede k nutnosti zvážení alternativních terapií.

Nabízí se aplikace bakteriofágů, virů napadajících bakterie, jejichž užívání se do jisté míry zachovalo přes advent penicilinu, a to především v Polsku, Gruzii a Rusku. Použití začínají nacházet v omezené míře taktéž v USA. Mezi hlavní výhody oproti antibiotikům patří baktericidní charakter, vysoká specificita a schopnost replikace.

Námi použitý bakteriofág JK2 (812K1/420), náležící čeledi *Myoviridae*, rodu *Kayvirus*, se replikuje lytickým cyklem. Virion je složen z ikosahedrální kapsidy, obsahující lineární dsDNA o délce 138 kb, kontraktálního bičíku a hostu-specifické dvouvrstevné bazální ploténky.

Kmeny *S. aureus* použité v této práci byly izolovány ze vzorků z ran pacientů FNUSA z roku 2021 v celkovém počtu 160. Tyto kmeny byly spolu s fágem JK2 kultivovány v mikrotitračních destičkách, po dobu 20 hodin, přičemž byla měřena absorbance v čase, jejíž změna korespondovala dělení, popř. lyzi bakterií.

Kmeny byly na základě absorbančních křivek klasifikovány do tří skupin: citlivé, rezistentní a přechodně citlivé, které byly zprvu citlivé k fágu, avšak v řádu hodin nabyly rezistence a úspěšně se kultivovaly. Příčina přechodné citlivosti byla hypotézována.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU21J-05-00035.

17. *In vivo* testování antimikrobiálního hydrogelového krytí ran založeného na pryskyřici Gum Karaya suplementovaného fágovým preparátem

L. Vacek (1, 2), D. Kleknerová (1), B. Lipový (3, 5), E. Jeklová (2), R. Pantůček (4), L. Vojtová (5), F. Růžička (1)

(1) Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(2) Oddělení infekčních chorob a preventivní medicíny, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno, CZ

(3) Klinika popálenin a plastické chirurgie Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(4) Oddělení genetiky a molekulární biologie, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(5) Výzkumná skupina Pokročilé biomateriály, Středoevropský technologický institut Vysokého učení technického, Brno, CZ

Úvod

Gum Karaya (GK) je přírodní polysacharid s velkým potenciálem v léčbě komplikovaných hlubokých infekcí kůže a měkkých tkání (SSTIs). Hydrogely na bázi polysacharidů udržují vlhké prostředí v ráně a stimulují rychlejší hojení. Jeho antimikrobiální potenciál proti kmenům *Staphylococcus aureus* rezistentním vůči meticilinu (MRSA) byl již dříve prokázán.

Cíle

Cílem práce bylo zvýšit potenciál GK kombinováním tohoto materiálu s fágovým preparátem a testování jejich antimikrobiálního potenciálu na prasečím modelu komplikované hluboké SSTI *in vivo*.

Metody

Byly použity čtyři prasata, každé s dvaceti kožními defekty o velikosti 5 x 5 cm. Po chirurgických excizích byl aplikován kmen MRSA NRL/Atb 5921. Ve dnech 4, 7, 10 a 14 byl z každé rány zhotoven otisk pro semikvantitativní mikrobiologické hodnocení. Dále byly z každého prasete odebrány vzorky tkáně spodiny rány. Po odběru vzorků tkáně byly na povrch rány aplikovány hydrogely GK a fólie doplněné stafylokokovým fágem JK2/phi 812 v koncentracích 10^8 a 10^9 PFU/ml.

Výsledky a závěr

Hodnoty vyšší než 10^5 CFU/gram tkáně jsou široce používány jako klíčový ukazatel spojený se zhoršeným hojením rány. Vyhodnocení ukázalo statisticky významný pokles oproti počátečnímu počtu bakterií v průběhu dvoutýdenní léčby. V případě nepřímých otisků došlo ke snížení z >1000 CFU/25cm² na 42 CFU/25cm². Pokles počtu bakterií ve vzorcích tkáně byl z 6,8 log CFU/g tkáně na $4,28 \pm 0,32$ log CFU/g, (rozdíl 2,54 log CFU/g). Tato množství ukazují na úspěšnou léčbu infekce.

This study was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr. NU20-05-00166.

18. *In vitro* formation of dual-species biofilms: What is behind the increasing antimicrobial resistance?

P. Vávrová (1), K. Konečná (1), A. Diepoltová (1), O. Jand'ourek (1), P. Nachtigal (1)

(1) Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University, CZ

The preferred lifestyle of pathogenic microorganisms in living systems is the formation of complex communities called biofilms that are mostly polymicrobial. These communities are more resistant to host defense mechanisms or antimicrobials due to quorum-sensing signals or the presence of the biofilm matrix.

Dual-species biofilms were formed by bacteria methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) or *Staphylococcus epidermidis* (SE), and yeast *Candida albicans* (CA) in 4 different cultivation media with various nutrients or host effector molecules. For the characterization of formed biofilms, the rate of resistance after exposure to 50-fold higher MIC of ciprofloxacin and anidulafungin was evaluated using the Alamar blue assay. Subsequently, the attributes such as total biofilm biomass; key compounds of the biofilm matrix: proteins, saccharides, and eDNA; or representation of individual microbial species, were evaluated. Fluorescent microscopy was included as well. Further, the cross-correlation between the resistance rate and mentioned biofilms attributes was revealed.

Biofilm of MRSA-CA formed in Lubbock chronic wound medium has been recognized as the most resistant to selected drugs. The direct correlation between the resistance, total biofilm biomass, and protein concentration in the biofilm matrix has been recognized. In case of SE-CA biofilm, the most resistance was detected in RPMI medium supplemented by human plasma. No clear correlation was registered between the resistance rate and the total biofilm biomass or concentration of the key matrix components. Therefore, the results should not be generalized, and specific microorganisms should be studied individually. The detailed analysis of the mutual correlation of evaluated criteria will be helpful in approaching knowledge concerning biofilm matrix composition vs adaptive resistance mechanisms.

The study was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr. NU21-05-00482, Czech Science Foundation project no. 20-19638, and SVV project no. 260 663.

19. A promising support for last-resort antibiotics – A new 2-aminooxazole derivative enhances the anti-biofilm effect of colistin against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*

A. Diepoltová (1), D. Nawrot (1), O. Jand'ourek (1), M. Juhás (1), P. Bárta (1), P. Vávrová (1), V. Pallabothula (1), P. Hatoková (1), M. Vejsová (1), B. Voxová (1), P. Nachtigal (1), J. Zitko (1), K. Konečná (1)

(1) Charles University, Faculty of Pharmacy, Hradec Králové, CZ

ESKAPE pathogens are causative agents of hospital-related infections with reduced treatment options and broad spectrum of virulence and resistance factors e.g., biofilm formation. *Acinetobacter baumannii* is categorized among pathogens with the highest priority for which research of new antibiotics is desperately needed. In this study, we aimed to comprehensively describe an antibacterial effect of a recently synthesized chlorinated 2-aminooxazole derivative AB15.

In vitro activity of AB15 against selected clinical isolates was assessed by microdilution broth method. Cytotoxicity of AB15 *in vitro* was evaluated using HK-2 cell line. Screening of *in vivo* toxicity was conducted by monitoring the survival of *Galleria mellonella* after intrahemocoel and per oral administration of AB15. In checkerboard assay, mutual interaction of AB15 and 6 antibiotics was observed. Anti-biofilm effect was determined using microtiter biofilm plate assay, where AB15 + colistin combination was used against biofilm formed by *A. baumannii* clinical isolate.

The AB15 derivative shows bactericidal effect against clinical isolates of ESKAPE group, especially *A. baumannii* and non to low toxicity *in vitro* and *in vivo*. AB15 reveals additive effect to clinically relevant antibiotics. In combination with a last-resort antibiotic, colistin, AB15 shows synergistic action against *A. baumannii* multidrug-resistant clinical isolate. AB15 in colistin combination contributes to significantly higher anti-biofilm activity. In conclusion, AB15 can be designated a valid antibiotic adjuvant as it meets all key attributes of such compound.

This study was supported by Grant Schemes at Charles University – CZ.02.2.69/0.0/0.0/19_073/00169359, Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr. NU21-05-00482, Czech Science Foundation Project No. 20-19638Y and SVV Project No. 260 663.

20. Vliv nanomateriálů funkcionalizovaných chlorhexidinem na růst, tvorbu biofilmu a transkripční profil bakterie *Staphylococcus aureus*

M. Štindlová (1)

(1) Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha, CZ

Staphylococcus aureus je častým původcem nozokomiálních infekcí a dalších zdravotních problémů vzniklých v důsledku využití kontaminovaných medicínských nástrojů. Slibným přístupem, jak zamezit nejen stafylokokovým infekcím, je použití nanovlákných materiálů (NM) funkcionalizovaných antimikrobiálními látkami, jako např. chlorhexidin (CHX). NM mohou být použity jako sterilní krytí kožních poranění, chirurgické nitě či na potažení implantátů.

V této práci byl sledován růst a tvorba biofilmu 49 kmenů *S. aureus* (sbírkových, klinických, potravinářských a veterinárních izolátů) v 0,00005 % – 0,001 % CHX a v okolí polyamidového NM funkcionalizovaného 2 % a 4 % (m/m) CHX. Nárůst planktonních buněk po 24 h a 48 h kultivaci byl měřen spektrofotometricky při vlnové délce 620 nm a byl stanoven počet KTJ/ml pro ověření životaschopnosti buněk. Tvorba biofilmu byla ověřena barvením krystalovou violetí se spektrofotometrickým stanovením při vlnové délce 595 nm. U vybraných kmenů byly sledovány změny v transkripci vybraných genů. Po izolaci RNA, ošetření DNasou a přepisu do cDNA bylo provedeno semikvantitativní hodnocení genů zvolených stafylokokových enterotoxinů (SE) a referenčních genů pomocí qPCR.

Bylo prokázáno, že v laboratorních podmínkách je minimální baktericidní koncentrace CHX 0,0005 % a z testovaných NM je plně baktericidní polyamidový se 4 % CHX. Nicméně profil vlivu subletálních koncentrací CHX se u různých kmenů *S. aureus* lišil. Sledování změn transkripce např. ukázalo, že přítomnost CHX výrazně zvýšila transkripci SEA u kmene CCM 3953, avšak u kmene MW2 docházelo ke zvýšení u planktonních buněk a potlačení v případě biofilmu. Zároveň byla u kmene MW2 sledována mírně zvýšená transkripce SEC.

Výsledky studie potvrdily antimikrobiální účinky CHX v nízkých koncentracích i to, že CHX si po zvláknění s polyamidem do formy NM zachovává své antimikrobiální vlastnosti. Na základě výsledků sledování změn transkripce zatím nelze spolehlivě stanovit obecný vliv CHX na transkripci SE. V navazující práci proto budou provedeny další návazné experimenty.

21. Biologické účinky vybraných olejových extraktů na *Arcobacter-like species*

L. Hofmeisterová (1), D. Šilha (1), R. Kand'ár (1)

(1) Katedra biologických a biochemických věd, Fakulta chemicko technologická, Univerzita Pardubice, Pardubice, CZ

Arcobacter-like species jsou Gram-negativní spirálovitě stočené bakterie patřící do nedávno navržené čeledi *Arcobacteraceae*. Tyto bakterie jsou často izolovány z odpadních i pitných vod, potravin nebo různých mořských živočichů. Některé druhy jsou považovány za významné zoonotické střevní patogeny u lidí i zvířat. Arkobaktery odolávají působení některých antibiotik a dalších antimikrobiálních látek, a to také díky schopnosti tvořit biofilmy.

Cílem této studie bylo porovnání biologického vlivu připravených vodných extraktů dýňového, avokádového a sezamového oleje na planktonní buňky a také na tvorbu biofilmu arkobakterů. Pro vybrané kmeny byly zjištěny minimální inhibiční koncentrace (MIC) extraktů bujónovou mikrodiluční metodou a také byly vyhodnoceny minimální baktericidní koncentrace (MBC). Tvorba biofilmu v prostředí různých koncentrací extraktů byla hodnocena modifikovanou Christensenovou metodou.

Většina testovaných kmenů arkobakterů byla inhibována 90 % koncentrací vodných extraktů avokádového, sezamového a dýňového oleje. Avšak u některých extraktů byla zjištěna hodnota MIC 45 %, a to v případě kmene *A. thereius* LMG 24488. Minimální baktericidní koncentrace byla shodná pro všechny testované oleje (90 %). Tvorba biofilmů arkobakterů byla zjištěna po 24 h kultivaci v prostředí všech testovaných extraktů. Nicméně vyšší tvorba biofilmu byla zaznamenána zejména při expozici v nižších koncentracích avokádového, sezamového i dýňového olejového extraktu (0,09-0,35 %). Kmen *A. defluvii* LMG 25694 byl celkově hodnocen jako kmen s nejvyšší produkcí biofilmu ve všech olejových extraktech. Naopak nejméně biofilmu produkoval kmen *A. cryaerophilus* CCM 7050, a to v přítomnosti všech testovaných koncentrací extraktů. Nejvyšší tvorba biofilmů u kmenů *A. butzleri* byla zaznamenána v prostředí avokádového oleje. U extraktu z dýňového oleje byla dokonce pozorována inhibice tvorby biofilmu *A. butzleri*. Naopak kmeny *A. cryaerophilus* vykazovaly největší schopnost tvorby biofilmu právě v prostředí dýňového oleje.

Výsledky dokládají antimikrobiálních účinků extraktů avokádového, sezamového i dýňového oleje. Těmito matricemi lze ovlivnit růst i přežívání *Arcobacter spp.* a mohly by mít potenciál inhibovat i další bakteriální rody.

22. PAW (plasma activated water) a její potenciální využití v eliminaci patogenních bakterií

J. Flodr (1), F. Růžička (1), P. Sřahel (2)

(1) Mikrobiologický ůstav Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(2) Ůstav fyzikální elektroniky – Výzkumná skupina Aplikované plazmochemie na Ůstavu fyzikální elektroniky Přírodovědecké fakulty, Masarykova univerzita, CZ

Využití Plazmou aktivované vody (PAW = Plasma activated water) bylo doposud velmi omezené z důvodu nemožnosti výroby jejího velkého množství. S novou technologií kombinace dvou fyzikálních jevů, hydrodynamické kavitace a výboje nízkoteplotního plazmatu, lze nyní vyrobit i větší, v praxi použitelné objemy od 1000 l do 100 000 l za hodinu. Další výhodou, kromě velkého vyrobeného objemu, je i cena samotné výroby. Díky obsahu reaktivních forem kyslíku – hlavně peroxidů, je její možné uplatnění v odstranění např. patogenních bakterií z vody.

Cílem práce je ověření účinnosti PAW na vybraných bakteriálních kmenech z banky nebo multirezistentních kmenech přímo izolovaných z nemocničního prostředí.

Každý jednotlivý čerstvý kmen byl jednu hodinu při pokojové teplotě inkubován v roztoku PAW a v původní vstupní kohoutkové nebo deionizované vodě, ze které byla samotná PAW vyrobena. Jednotlivé roztoky byly poté za pomoci ředící desítkové řady naneseny kapkovou metodou na agarové plotny a inkubovány 24 hodin při teplotě 37 °C. Poté byly na plotnách spočteny CFU (=colony forming units) a navzájem porovnány plotny testované a kontrolní.

Vzhledem k časově dependentnímu snižování koncentrace reaktivních forem kyslíku v PAW byla zkoumána účinnost PAW v den její výroby a dále čtvrtý den poté. Výsledky zatím odpovídají předpokladům, že se časově snižuje i účinnost aplikované PAW.

V jednotlivých opakováních se ověřila účinnost PAW na vybraných bakteriálních kmenech s velmi uspokojivými výsledky.

23. Sledovanie účinnosti antimikrobiálnych látok pomocou Ramanovej spektroskopie

K. Rebrošová (1), M. Šiler (2), O. Samek (2), F. Růžička (1)

(1) Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(2) Ústav přístrojové techniky, Akademie věd ČR, Brno, CZ

Rezistencia mikróbov voči antimikrobiálnym látkam patrí podľa Svetovej zdravotníckej organizácie k 10 najväčším globálnym výzvam v oblasti ľudského zdravia. Aby mohla byť liečba infekčných ochorení účinná, je potrebné včasné odhalenie rezistencie a vhodné prispôsobenie liečby. Ako jedna z možností rýchlej analýzy sa ponúka Ramanova spektroskopcia – optická metóda založená na jave neelastického rozptylu svetla, ktorá si v posledných rokoch buduje svoje miesto aj v mikrobiologických aplikáciách. V tejto práci sme sa zaoberali využitím Ramanovej spektroskopie pri sledovaní vplyvu antimikrobiálnych látok na mikroorganizmy.

V tejto pilotnej štúdii sme vystavili kmene stafylokokov a kandidy subinhibičným koncentráciám antimikrobiálnych látok. Ramanove spektrá boli získané z kolónií narastených na agarových pôdach pomocou komerčného prístroja Renishaw Invia Raman Spectrometer (Renishaw plc., Wotton-under-Edge, UK) s vlnovou dĺžkou laseru 785 nm. Výsledky boli následne spracované pomocou interne vytvoreného programu založeného na softvéri MATLAB (MathWorks, Natick, MA, USA).

Analýza spektier ukázala, že po vystavení mikroorganizmov antimikrobiálnym látkam dochádza k viditeľným zmenám v ich Ramanovom spektre. Naznačuje, že účinok antimikrobiálnych látok sa premieta do Ramanových spektier mikróbov a tento fakt by mohol byť využitý na detekciu rezistencie voči antimikrobiálnym látkam.

Na základe výsledkov tejto pilotnej analýzy možno povedať, že Ramanova spektroskopcia má potenciál stať sa nástrojom použiteľným na zisťovanie rezistencie voči antimikrobiálnym látkam u mikroorganizmov a prispieť tak k rýchlej identifikácii rezistencie. Tým pádom by v budúcnosti mohla napomôcť pri voľbe vhodnej a efektívnej liečby infekcií.

Práca bola podporená projektmi NU21-05-00341 (Ministerstvo zdravotníctví ČR) a MUNI/A/1361/2022 (Masarykova univerzita).

24. Testování desinfekčních účinků sloučenin na bázi biodegradovatelných oligomerů

N. Baslerová (1), R. Olejník (2), M. Pejchalová (1)

(1) Katedra biologických a biochemických věd, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Pardubice, CZ

(2) Katedra obecné a anorganické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Pardubice, CZ

Během pandemie COVID-19 stoupla poptávka po desinfekčních prostředcích. Spolu tím však stoupla i jejich nadužívání a nesprávné zacházení. To může vést k zhoršení problému antimikrobiální rezistence, ale také k vážným dopadům na ekosystémy a lidské zdraví. Ideální dezinfekční přípravek by měl být účinný již v malých koncentracích, šetrný k lidskému zdraví, a měl by být efektivní na široké spektrum mikroorganismů. Také by měl být snadno odbouratelný, ekologický a levný na výrobu, což by mohly splňovat biopolymery kyseliny mléčné. V dnešní době jsou biopolymery stěžejní především díky původu z obnovitelných zdrojů a netoxické povaze. V běžné laboratoři lze prokázat bakteriální účinnost dezinfekčního prostředku metodou popsanou v normě ČSN EN 13727+A2 – Chemické dezinfekční přípravky a antiseptika – Kvantitativní zkouška s použitím suspenze ke stanovení baktericidní aktivity v oblasti zdravotnictví – Metoda zkoušení a požadavky (fáze 2 / stupeň 1).

Prvním krokem bylo stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) diluční metodou v 24jamkových destičkách. MIC se stanovovala u čtyř mikroorganismů – *Escherichia coli* (CCM 4517), *Staphylococcus aureus* (CCM 4516), *Pseudomonas aeruginosa* (CCM 7930), *Enterococcus hirae* (CCM 4533). Takto bylo otestováno třináct substituovaných laktyl-laktátů syntetizovaných na Katedře obecné a anorganické chemie Univerzity Pardubice. Dva z nich prokázaly účinnost při 1,25 % koncentraci.

Nejslibnější vzorek byl v rámci této práce testován dle normy ČSN EN 13727+A2 v 1,5 % a 2 % koncentraci. 2 % koncentrace testované látky nebyla účinná na *Enterococcus hirae*. Souběžně s tím byl vzorek zaslán do akreditované laboratoře EMPLA. Tam dle normy ČSN EN 13727+A2 splnila testovaná látka požadavky na redukci v 3 % koncentraci.

Testovaný vzorek vykazuje baktericidní účinek i v nízké koncentraci (3 %) oproti například alkoholu (30 %) nebo povidon-jodu, který je typicky vyráběn v koncentraci 7,5–10 %

25. Intensified production and activity screening of recombinant RdRp

K. Žigová (1), M. Rebroš (1)

(1) Institute of Biotechnology, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Bratislava, SK

The outbreak of the COVID-19 pandemic with serious economic and clinical consequences has increased interest in the recombinant production of structural and non-structural proteins of SARS-CoV-2. From the point of view of reusability in the case of infection with other pathogens, antivirals with a mechanism of action either blocking the absorption of the virus onto the cell membrane or blocking the replication of the viral genome are particularly attractive. RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) catalyzes the elongation of the RNA template from the 3'-end, enabling the formation of phosphodiester bonds between ribonucleotides, which is dependent on the RNA template and the presence of divalent metal ions such as Mg^{2+} , Mn^{2+} , or Zn^{2+} . The availability of recombinant RdRp in a purified form will enable not only the biochemical analysis of the role of the enzyme in virus replication but also the study of its structure and function and the search for its potential inhibitors, which are necessary not only to fight COVID-19 but also other viral diseases such as gastroenteritis (the Norwalk virus), hepatitis C, Ebola, and many others.

Recombinant RdRp was produced in the bacteria *E. coli* with the plasmid pRSFDuet-1(nsp8-nsp7)(nsp12) gifted from Marc Delarue (Addgene plasmid #165451). The intensification of RdRp production was carried out according to optimized protocol in DASbox® laboratory fermenters. The obtained cells were mechanically disrupted, and the enzyme was purified using affinity chromatography. The activity of the enzyme was determined by a polymerization reaction, while the amount of newly synthesized RNA was detected using the fluorescent dye PicoGreen.

Acknowledgment

This publication was created thanks to the support of the Operational Program Integrated Infrastructure for the project Strategic research in the field of SMART monitoring, treatment, and preventive protection against the coronavirus (SARS-CoV-2)," Code ITMS2014+: NFP313011ASS8, co-financed from the resources of the European Regional Development Fund.

This work was supported by the Research and Development Support Agency based on contract no. APVV-18-0254.

26. Behaviorálne dôsledky vystavenia embryí *C. elegans* nízkym dávkam bisfenolu A a S

K. Melnikov (1), P. Hockicková (1), Z. Bárdyová (1), S. Kucharíková (1), A. Kaiglová (1)

(1) Katedra laboratórnych vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava, SK

Caenorhabditis elegans je mikroskopická nematóda, ktorá sa často používa na štúdium účinku cudzorodých látok na živý organizmus. Napriek mikroskopickým rozmerom má tento hlístovec komplexný nervový systém, ktorý mu umožňuje adaptáciu na opakovanú prezentáciu podnetu. V našej práci sme vystavovali embryá nematód *C. elegans* „wild - type“ (kmeň N2) a *C. elegans* s utlmeným génom bli-1 (zodpovedným za správnu tvorbu strednej vrstvy kolagénu kože) rôznym koncentráciám bisfenolu A a jeho štrukturálneho analógu, ktorý sa používa ako náhrada bisfenolu A - bisfenolu S (0,1; 0,5; 1; 5 μ M). Následne sme po vyliahnutí sledovali schopnosť nematód adaptovať sa na predné dotykové podnety. Pod kontrolou v stereomikroskope sme sa pomocou tyčinky s umelou riasou opatrne dotýkali *C. elegans* v hlavovej časti v časových intervaloch 5 sekúnd, až kým si nematódy na tento podnet nezvykli a prestali naň reagovať. Každú koncentráciu bisfenolu A a bisfenolu S sme porovnávali s kontrolnou skupinou. Štatistickú analýzu sme vykonávali pomocou parametrického T-testu a neparametrického Wilcoxonovho testu. Za hladinu štatistickej významnosti sme považovali hodnotu $p < 0,05$. So zvyšujúcimi sa koncentraciami bisfenolu A (0,1, 0,5, 1 a 5 μ M) a bisfenolu S (0,5, 1 a 5 μ M) potrebovali obidva kmene *C. elegans* na adaptáciu na predné dotykové podnety v porovnaní s neexponovanými kontrolnými skupinami výrazne viac podnetov ($p \leq 0,05$). Okrem toho vystavenie embryí všetkým testovaným koncentraciám bisfenolu A (0,1, 0,5, 1 a 5 μ M) viedlo pri mutantnej forme *C. elegans* bli-1 v porovnaní s bežne používaným kmeňom N2 k významne zvýšenému počtu dotykov. Nematódy *C. elegans* s utlmeným génom bli-1 citlivejšie reagovali na bisfenol A a bisfenol S ako bežne používaný kmeň N2. Na základe našich zistení môžeme konštatovať, že bisfenol S, ktorý mal byť bezpečnejšou alternatívou bisfenolu A, spôsobil takmer identické škodlivé účinky na správanie *C. elegans*. Navyše, v porovnaní s bežne používaným kmeňom *C. elegans* N2 boli tieto účinky výraznejšie u kmeňa *C. elegans* s utlmeným génom bli-1, ktorý sa vyznačuje mutáciou v jednom individuálnom kolagénovom géne zodpovednom za správnu tvorbu kutikuly, čo naznačuje možnú ochrannú úlohu epidermálnej bariéry voči bisfenolom. Naše výsledky poukazujú na potenciálne riziká bisfenolu S, ktorý sa používa ako náhrada bisfenolu A.

27. Výskyt *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 vo vybraných povrchových vodách Slovenska

A. Vozárová (1), M. Seman (1)

(1) Katedra biológie, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Trnava, SK

Baktérie rodu *Vibrio* sa vyskytujú vo vodných biotopoch na celom svete. Kmene *V. cholerae* non-O1/non-O139 môžu u ľudí vyvolať hnačkové ochorenia a extraintestinálne infekcie, zahŕňajúc infekcie uší, rán až septikémie. Teplota vody úzko súvisí s výskytom vibrií. Kvôli globálnemu otepľovaniu vo svete narastá počet infekcií spôsobených vibriami, čím sa tieto baktérie stávajú emergentnými patogénmi.

Vzorky vody sme odobrali dvakrát (počas júla až novembra 2022) z riek Topľa, Ondava, Morava a Dunaj do sterilných 500 ml tmavých sklenených fliaš 2 metre od brehu z hĺbky približne 20 cm. *In situ* boli stanovené fyzikálno-chemické parametre vody. Pre izoláciu problémových baktérií zo vzoriek vody sme použili kultiváciu v alkalickú peptónovej vode (APV) s pH 9,0, z ktorej sme následne v niekoľkých časových úsekoch vyočkovali bakteriálnu suspenziu na tuhé selektívne kultivačné médium TCBS (thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose agar). Po 24 hodinovej kultivácii pri 37 °C sme vybrali typické žlté okrúhle kolónie s priemerom 2–3 mm, ktoré sme identifikovali pomocou komerčného systému ENTEROtest 24 (Erba Lachema, ČR) a následne vyhodnotili počítačovým programom TNW Lite CZ 7.0 (Erba Lachema, ČR).

Z 32 suspektných izolátov z rieky Ondava, sme 18 izolátov identifikovali ako *V. cholerae* non-O1/non-O139, z rieky Topľa 6 z 25 a z rieky Dunaj 3 z 15. Vo všetkých prípadoch, izoláty, pochádzajúce z jedného vodného zdroja, vykazovali rozdielnosť v biochemických testoch systému ENTEROtest 24, čo naznačuje klonálnu diverzitu v rámci jedného vodného toku. Z rieky Morava sme neizolovali *V. cholerae* non-O1/non-O139, čo však nevylučuje jeho prítomnosť. Vibriá môžu pri nepriaznivých podmienkach, ako sú napr. výkyvy teploty a pH, prejsť do reverzibilného stavu kedy sú viabilné, ale nekultivovateľné.

Izolovali a identifikovali sme kmene *V. cholerae* non-O1/non-O139 v riekach Dunaj, Topľa a Ondava. U kmeňov budeme zisťovať prítomnosť faktorov virulencie. Dôležité je pravidelné monitorovanie vodných zdrojov, nielen na Slovensku, s cieľom definovať potenciálne zdroje infekcie, ktoré sa môžu vzhľadom na globálne otepľovanie vyskytovať častejšie.

28. Mikrobiologická kvalita mliečnych produktov z pohľadu rastu *Mucor circinelloides*: aplikácia modelov prediktívnej mikrobiológie

M. Koňuchová (1), A. Boháčiková (1), E. Valík (1)

(1) Oddelenie výživy a hodnotenia kvality potravín, Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Bratislava, SK

Úvod: Znehodnotenie potravín mikroskopickými vláknitými hubami je pre potravinársky priemysel značným problémom. Mliečne výrobky svojimi fyzikálno-chemickými vlastnosťami poskytujú vhodné prostredie pre prežívanie a rast mnohých fungálnych druhov. Mikromycéta *Mucor circinelloides* dokáže znehodnocovať mliečne výrobky, ako sú napr. jogurty a syry.

Metodika: Cieľom našej práce bolo analyzovať radiálnu rastovú aktivitu *M. circinelloides* 1L na syrovom syntetickom médiu v kontexte zmeny inkubačnej teploty (6–37 °C) a zníženej aktivity vody (0 a 1 % NaCl). Rastové odozvy boli z prediktívno-mikrobiologického hľadiska vyhodnotené pomocou primárneho Baranyiho a Huangovho modelu a sekundárneho kardinálneho modelu.

Výsledky: Na základe hodnôt determinačného ($R^2 > 0,988$) a validačného koeficientu ($RSSE > 2,200$) možno konštatovať, že predikcie vykonané oboma primárnymi modelmi boli dostatočne presné a spoľahlivé. Vo všeobecnosti bola rastová aktivita *M. circinelloides* 1L na médiu so zníženou aktivitou vody nižšia v porovnaní s rastovou aktivitou na médiu bez úpravy av. Získané výsledky preukázali, že so stúpajúcou teplotou sa radiálna rýchlosť izolátu zvyšovala až po oblasť optimálnej teploty (T_{opt} , 0 % NaCl = 32,1 °C; T_{opt} , 1 % NaCl = 32,5 °C). V súvislosti so znehodnotením potravín mikroskopickými hubami sú dôležité údaje o čase, ktorý je potrebný na dosiahnutie viditeľnej kolónie veľkosti 3 mm. Vzhľadom na predikovaný čas, kedy druh *M. circinelloides* dokázal vytvoriť viditeľnú kolóniu pri 6 °C (7,4 a 9,6 dňa; v poradí na syrovom médiu s 0 a 1 % NaCl), možno usúdiť, že napriek uchovávaniu pri chladiarenských teplotách by mohla viditeľná kolónia *M. circinelloides* narásť ešte pred dobou spotreby väčšiny mliečnych produktov.

Záver: Kvantitatívny opis rastu *M. circinelloides* môže slúžiť ako zdroj informácií pre potravinárskych mikrobiológov o tomto hygienicky a zdravotne relevantnom druhu. Zároveň opis rastovej odozvy pomocou modelov prediktívnej mikrobiológie je možné uplatniť v praxi pri nastavení výrobných a sanitačných postupov, ktoré zabezpečia nepriaznivé podmienky pre rast a prežívanie spomínaného fungálneho druhu.

Podakovanie: Práca bola podporená grantom VEGA 1/0132/23 a APVV-19-0031.

29. Katechíny zo zeleného čaju a ich inhibičný účinok na rast baktérií a vláknitých húb

K. Hollá (1), L. Bírošová (1), P. Olejníková (2)

(1) Oddelenie výživy a hodnotenia kvality potravín, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie Slovenskej technickej univerzity, Bratislava, SK

(2) Ústav biochémie a mikrobiológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie Slovenskej technickej univerzity, Bratislava, SK

katarina.holla@stuba.sk

Katechíny zo zeleného čaju patria medzi prírodné flavonoidy známe vďaka ich antioxidantným, protizápalovým a antimikrobiálnym účinkom. Antioxidantný potenciál katechínov súvisí s ich schopnosťou vychytávať reaktívne formy kyslíka, výsledkom čoho je ochrana buniek pred oxidačným stresom. Vysoké koncentrácie katechínov môžu pôsobiť prooxidačne, výsledkom je inhibícia rastu baktérií a vláknitých húb. V našej práci sme testovali antifungálny a antibakteriálny potenciál katechín hydrátu na modelových mikroorganizmoch *Neurospora crassa* a *Escherichia coli*. Antifungálnu aktivitu katechín hydrátu sme stanovili makrodilučnou metódou na modelovej vláknitej hube *N. crassa*. Zamerali sme sa na stanovenie citlivosti na samostatný katechín ako aj na kombináciu katechínu s azolmi (flukonazol, vorikonazol, prochloraz, ketokonazol, amfotericín B). Zaznamenali sme zvýšenú inhibičnú aktivitu niektorých azolov v kombinácii s katechínom. Antibakteriálny účinok katechínu sme rovnako hodnotili makrodilučnou metódou na modelovom organizme *Escherichia coli*, na kmeňoch citlivých aj rezistentných voči antibiotikám. Účinnosť katechínu sme stanovili na základe IC50 pre jednotlivé kmene *E. coli* a pomocou testovacích súprav MIC G-I a MIC G-II Erba Lachema sme sledovali spoločný účinok katechínu a vybraných antibiotík. Po pridaní katechínu sme zaznamenali určitý stupeň zvýšenia citlivosti rezistentných kmeňov *E. coli* na niektoré klinicky významné antibiotiká. Keďže v súčasnosti stále narastá výskyt rezistentných kmeňov baktérií, cieľom našej práce je okrem preskúmania antibakteriálnej a antifungálnej aktivity katechínu, hľadať aj možné mechanizmy ich vzájomnej synergie. V prípade preukázania potencujúceho účinku katechínu by bolo možné využiť zlúčeniny tejto skupiny ako jednu z alternatív v boji proti rezistentným kmeňom baktérií, ktoré predstavujú narastajúcu hrozbu pre zdravie ľudí aj zvierat.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja pod označením APVV-19-0094 a projektom VEGA 1/0388/22.

P 01.

Autovakcíny a jejich význam a použití v hojení ran

J. Bartková (1, 2), R. Hrušovská (2), Z. Jelínková (1), B. Lipový (1, 2)

(1) Klinika popálenin a plastické chirurgie Fakultní nemocnice Brno, CZ

(2) Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, CZ

Termínem rána definujeme porušení kontinuity kožního krytu a tím narušení integrity organismu. Etiologicky nejvýznamnějšími faktory pro vznik chronických defektů jsou vaskulární onemocnění, porucha trofiky tkáně, věk, nutriční stav, chronická medikace nebo jiné přidružené onemocnění pacienta. K nejčastějším chronickým defektům patří bércové vředy, dekubity, špatně se hojící operační rány a jiné infikované poranění. V současné době vzrůstá zájem o možnosti nových postupů při léčbě chronických ran. Právě mezi těmito přístupy je i využití bakteriálních imunomodulátorů.

Autovakcíny patří mezi přípravky s imunomodulačním charakterem. Jedná se o mikrobiální lyzáty určené pro individuální použití. Jejich podstatou je zvýšení imunitní odpovědi vůči konkrétnímu patogenu. Jsou připraveny přímo z kmenů patogenů vykultivovaných z infikovaného místa u pacientů. Odebrané mikroby se následně rozmnoží ve vhodných médiích, usmrtí se a připraví se z nich samotná vakcína. Tyto biologické imunomodulátory lze vyrobit ve specializovaných laboratořích ve formě injekčních roztoků, roztoků pro perorální aplikaci nebo pro výrobu sušiny bakteriálních extraktů pro přípravu kapslí nebo tablet. Princip těchto autovakcín je v navození zvýšené imunity vůči určitému patogenu, který je zodpovědný za vznik infekčního onemocnění u daného pacienta. Po aplikaci autovakcíny dojde ke stimulaci nespecifické imunity, která u pacienta reaguje tvorbou imunitní odpovědi na daný antigen.

Se stoupající rezistencí bakterií na antibiotika je esenciální hledat i jiné způsoby terapie u recidivujících infekcí a chronických defektů. Díky neustálému pokroku v imunologii se tyto biologické přípravky dostávají neustále do popředí jako vhodná doplňková alternativa v léčbě pacientů s recidivujícími infekcemi a chronickými defekty.

P 02.

Využitie Algivonu a Actilitu v kontrole rozvoja infekčných komplikácií popálenej plochy

J. Bartková (1, 2), J. Bartošková (1), B. Lipový (1, 2)

(1) Klinika popálenin a plastické chirurgie Fakultní nemocnice Brno, CZ

(2) Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, CZ

Úvod:

Použitie rôznych foriem materiálov na báze medu v rámci hojenia rán rôznej etiológie má veľmi dlhú históriu. Nové biotechnologické postupy rozširujú použitie týchto materiálov do ďalších klinických indikácií. Med a jeho súčasné možnosti v rámci lokálnej aplikácie predstavuje veľmi účinný prírodný materiál, ktorý pozitívne ovplyvňuje všetky fázy hojenia rany. Kľúčovou vlastnosťou medu, ktorú využívame aj pri jeho použití v každodennej praxi, sú jeho antimikrobiálne vlastnosti, ktoré sú dané dominantne produkciou peroxidu vodíka a ďalších látok. Produkcia peroxidu vodíka reprezentuje veľmi potentný antibakteriálny mechanizmus. Popálené plochy II.–III. stupňa tiež aj chronické defekty sú veľmi často živnou pôdou pre baktérie. Pri väčšom rozsahu popálenín alebo iných väčších defektov je potrebné zasiahnuť okrem lokálnej terapie syntetickými preparátmi aj celkovou antibiotickou terapiou. Pokiaľ ide o iné menšie defekty (napr. trofické, traumatické...), je možné lokálne použiť antibakteriálne preparáty na prírodnej báze a na rôznych nosičoch.

Metodika:

V kazuistike prezentujeme prípad mladej pacientky, ktorá pri zásahu elektrického prúdu s vysokým napätím utrpela hlboké popáleniny dominantne na končatinách. Vzhľadom na prezentáciu nekrotického tkaniva v oblasti pravej paže až do oblasti facie bolo nutné vykonať chirurgickú fasciálnu nekrektómiu. Na následnú prípravu lôžka rany, precíznu antimikrobiálnu kontrolu, boli zvolené materiály na báze Manuka medu (Algivon®, Actilite®).

Výsledky:

Kombinovaný uzáver rany prebehol bez komplikácií podobne ako následná maturácia jaziev. Počas sledovaného obdobia nebola zistená prítomnosť žiadneho z potenciálne patogénnych mikroorganizmov (PPMs) v množstve, ktoré by bolo signifikantné pre kolonizáciu alebo lokálnu infekciu. V tejto kazuistike sa potvrdilo, že med Manuka, má ako antibakteriálne účinky, tak prispieva k prirodzenému debridementu, redukuje zápal a podporuje rast fibroblastov.

Záver:

Možno povedať, že Manuka med je vhodná alternatíva v terapii popálenín nielen II. stupňa, ale aj hlbokého III. stupňa. Aplikácia krytia na báze Manuka medu reprezentuje alternatívu k ďalším, už plne etablovaným materiálom využívaným na hojenie rán nielen termálnej etiológie.

P 03.

Lokálne komplikácie liečby popálenej plochy medúzou

J. Bartková (1, 2), B. Lipový (1, 2)

(1) Klinika popálenin a plastické chirurgie Fakultní nemocnice Brno, CZ

(2) Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, CZ

Úvod:

Počas niekoľkých posledných desaťročí dochádza k nárastu počtu reportovaných prípadov popálení medúzami. Tento nárast je daný nielen zlepšenou evidenciou, ale aj samotným nárastom počtu týchto živočíchov. Dá sa teda predpokladať, že do ďalších rokov bude táto problematika stále aktuálnejšia. Po kontakte s medúzami dochádza k veľmi širokej lokálnej alebo aj systémovej symptomatológii. Druhovo špecifické rozdiely medzi jednotlivými medúzami môžu brániť vo voľbe adekvátnej lokálnej terapie a správneho poskytnutiu prvej pomoci. Dodnes neexistuje univerzálny protokol pre všetky poranenia spôsobené týmito živočíchmi. Prijatie bezpečných a účinných opatrení prvej pomoci pri žahnutí medúzou je komplikované šírením celého radu neoficiálnych správ a nedostatkom dôkazov vo vedeckej literatúre. Jedinou možnosťou, ako z tejto situácie uniknúť, je postupná publikácia kazuistik alebo sérií kazuistik s jednotiacim liečebným konceptom tak, aby mohli byť následne realizované klinické odporúčania pre lokálnu terapiu podložené dostatočným množstvom robustných dát.

Metodika:

V tejto kazuistike prezentujeme prípad muža stredného veku s lokálnou symptomatológiou spôsobenou práve žahnutím medúzy, ktoré spôsobilo nielen rozvoj hlbokých kožných defektov, ale aj dlhodobé komplikácie v mieste postihnutia po samotnom zahojení. V rámci mikrobiologickej surveillancie bola z rány vykultivovaná *Escherichia coli*. Rana bola ošetrovaná topicky antimikrobiálnym krémom s obsahom 1% sulfadiazínu strieborného. Neskôr bola nutná aplikácia lokálnych kortikosteroidov a perorálne užívanie antihistaminík.

Výsledky:

Pacient aj napriek 9 týždňovej ambulantnej liečbe naďalej udáva v mieste primárnych kožných defektov občasné známky ľahkej precitlivenosti na rôzne podnety, avšak udáva zlepšenie bez nutnosti topickej alebo systémovej terapie.

Záver:

Vysoké percento prípadov, vyžadujúcich poskytnutie prvej pomoci na plážach, tvorí práve popálenie medúzou. Je preto dôležité zaviesť protokoly prvej pomoci postavené na vedeckých dôkazoch a zdokonaľiť ich tak, aby boli podľa potreby špecificky zamerané na jednotlivé druhy medúz.

P 04.

Mikrobiálne nálezy u polytraumatu po úraze elektrickým prúdom vysokého napätia

J. Bartková (1, 2) G. Michalčáková (2), F. Raška (1, 2), B. Lipový (1, 2)

(1) Klinika popálenin a plastické chirurgie Fakultní nemocnice Brno, CZ

(2) Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, CZ

Úvod :

Popálenia elektrickým prúdom sú klasifikované ako jeden z najzávažnejších typov popálení. Poškodenie je o to väčšie, že sa týka viacerých orgánových systémov, nielen kože samotnej. V závažných prípadoch je dôležitý multidisciplinárny prístup k pacientovi, vrátane spolupráce popáleninového tímu, tímu akútnej medicíny, traumatického tímu, mikrobiologického a infekčného tímu. Čo len potvrdzuje komplexnosť a náročnosť v liečbe týchto popáleninových poranení.

Metodika:

V kazuistike prezentujeme prípad muža stredného veku, ktorý utrpel polytraumu vrátane popálenia elektrickým prúdom. Popálenie bolo hodnotené ako III.–IV. stupeň, 20 % plochy povrchu tela. Niekoľko kontaktných plôch bolo lokalizovaných na horných končatinách od distálnej tretiny predlaktia boli tkanivá mumifikované. Pacient pri prijíme podstúpil vyšetrenie vrámci celkového polytraumatického algoritmu. Traumatologický tím vykonal stabilizáciu zlomenín. Na umelej pľúcnej ventilácii bol pacient vedený 10 dní. Identifikovaná ventilátorová tracheobronchitída bola zaliečená empiricky. Avitálnosť tkanív distálnych častí horných končatín bola indikáciou pre ich amputáciu. V rámci mikrobiologickej surveillancie boli z rán vykultivované *Aeromonas hydrophila*, aeróbne sporujúce mikróby, *Enterococcus spp.*, *Enterobacter spp.* Počas hospitalizácie bol liečený antibiotickou liečbou metronidazolom, vankomycínom, ciprofloxacínom, cefuroxímom, piperacilínom/tazobaktamom, kotrimoxazolom a flukonazolom. Pacient mal pozitívny test na hepatitídu typu C.

Výsledky:

Zlomeniny riešené traumatológom boli postupne rehabilitované a mobilizované. Pahýly po amputáciách horných končatín a popálené plochy boli zhojené bez defektov. Pacient bol po troch mesiacoch hospitalizácie prevezený do okresnej nemocnice k pokračovaniu v liečbe a rehabilitácii.

Záver:

Úrazy elektrickým prúdom vysokého napätia sú náročné na liečbu a vyžadujú multidisciplinárny prístup. V dôsledku narušenia integrity kože, a teda prirodzenej imunitnej bariéry tela sú jednou z komplikácií popáleninových úrazov infekcie. Náročnosť na eradikáciu často nachádzaných etiologických agens si vyžaduje spoluprácu ošetrojúcich chirurgov s klinickým mikrobiológom a antibiotickým strediskom.

P 05.

Výskyt črevných parazitóz u detí z Košického kraja

V. Bednárová (1), P. Juriš (1), E. Hatalová (1)

(1) Ústav epidemiológie, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Košice, SK

Úvod: Parazitárne infekcie majú aj napriek pokroku v oblasti medicíny a zdravia pomerne vysokú prevalenciu vo svete. Najvyššie riziko predstavujú črevné parazitárne ochorenia pre detskú populáciu. Parazitózy majú často vážny dopad na zdravotný stav detí, môžu viesť k retardácii rastu, obturáciám v tráviacom trakte, anémii a prispievajú ku karenciám základných látok, minerálov a vitamínov.

Metodika: V rámci štúdie bolo vyšetrených 327 vzoriek stolice z toho 302 (92,0 %) vzoriek pochádzalo od hospitalizovaných detí z Detskej fakultnej nemocnice v Košiciach a 25 (8,0 %) vzoriek stolice pochádzalo od detí z košickej mestskej časti Košice-Luník IX. Deti boli rozdelené do 5 vekových skupín podľa vývojových období dieťaťa: dojčatá a batolátá (N=6), deti predškolského veku (N=95), deti mladšieho školského veku (N=138), deti staršieho školského veku (N=67) a adolescenti (N=21). Na zistenie prítomnosti propagatívnych štádií parazitov v stoliciach, bola použitá in vitro sedimentačná koprologická metóda na koncentráciu vajíčok vo vzorke za použitia komerčného kitu PARAPREP L FORMALIN KIT (Mondial, France). Na sérologické vyšetrenie vzoriek stolice, bola použitá priama ELISA metóda. Použitý bol komerčný test CRYPTOSPORIDIUM 2nd GENERATION (Diagnostic Automation, INC, Calbasas, USA), na kvalitatívne stanovenie prítomnosti kryptosporídiového antigénu vo vzorkách stolíc.

Výsledky: Črevné parazitózy sme detegovali u 30 (9,2 %) detí, najčastejším detegovaným pôvodcom bol *Ascaris lumbricoides* (4,3 %), nasledovaný *Cryptosporidium spp.* (3,1 %). Parazitózy sme najčastejšie detegovali u detí predškolského (15,8 %) a mladšieho školského veku (8 %). Najviac postihnutou skupinou boli deti predškolského veku, kde sa parazitárne infekcie vyskytovali v 15,8 % prípadoch a za ňou nasledovala skupina detí v mladšom školskom veku, kde sa parazitárne infekcie vyskytovali u 8,0 % detí.

Záver: Na Slovensku sa s týmto typom intestinálnych infekcií najčastejšie stretávame u detí predškolského a školského veku. Úroveň prevalencie črevných parazitóz nebola vysoká, avšak poukazuje na nedostatočný záujem o tento typ infekcií, ktoré majú potenciál sa značne šíriť v detských kolektívoch.

Podakovanie: Táto práca vznikla s podporou projektu VEGA 1/0359/21.

P 06.

Smartfón ako vehikulum prenosu potenciálne nebezpečných baktérií

A.Binka (1), M. Ujpál (1), P. Olejníková (2), H. Dibalová (1)

(1) Mikrobiologický ústav a Univerzitná nemocnica Bratislava, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, SK

(2) Ústav biochémie a mikrobiológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Bratislava, SK

V dobe zvyšujúcej sa rezistencie baktérií voči antibiotikám je nutné identifikovať dostatočne včas rôzne vehikulá prenosu baktérií v prostredí nemocnice. Pri práci s pacientom sa čím ďalej tým viac využívajú smartfóny. Môžu byť využité na dohľadanie diagnostických postupov, dávkovania liečiv alebo na výpočet diagnostických skóre. Je preto otázne, či sa na smartfónoch neprenášajú potenciálne nebezpečné baktérie.

Cieľom našej štúdie bola mikrobiologická analýza smartfónov študentov medicíny absolvujúcich klinické stáže. Zo smartfónov boli odobrané vzorky formou steru z displeja. Získané vzorky boli kultivované na krvnom agare a identifikované hmotnostnou spektrometriou (MALDI-TOF). U nozokomiálne významných druhov bola stanovená ich citlivosť na antibiotiká. Študentom, ktorí poskytli svoje smartfóny na analýzu, bol odoslaný dotazník zisťujúci ich správanie. Dotazník obsahoval otázky o používaní ich smartfónu, pohlaví, mieste stáže, používaní dezinfekcie, spôsobe cestovania a mieste nosenia smartfónu.

Analýza ukázala, že 91 % študentov medicíny používa svoj smartfón na klinických stážach. Zo 45 smartfónov bolo 80 % displejov kontaminovaných baktériami. Väčšina (91 %) nájdených baktérií patrila do skupiny grampozitívnych baktérií. Z gramnegatívnych baktérií boli zachytení zástupcovia zo skupiny gramnegatívnych nefermentujúcich paličiek. Nozokomiálne významným druhom bol *Acinetobacter baumannii*, ktorý je známy svojím zvýšeným prežívaním na suchých povrchoch oproti iným gramnegatívnym baktériám. Štatistické testy odhalili významné zníženie kontaminácie displeja pri pravidelnom používaní dezinfekcie smartfónu.

Získané výsledky poukazujú na potrebu zavedenia nových postupov dezinfekcie smartfónov, ktoré by doplnili štandardné postupy hygieny rúk a nemocničného prostredia.

Práca bola podporená grantom KEGA 002UK-4/2022.

P 07.

Účinok fotodynamickej inaktivácie v prítomnosti metylénovej modrej na biofilmy tvorené mikroorganizmami *Candida albicans* a *Staphylococcus aureus*

J. Czucz Varga (1), J. Bujdák (2,3), H. Bujdáková (1)

(1) Katedra mikrobiológie a virológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, SK

(2) Katedra anorganickej chémie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, SK

(3) Ústav anorganickej chémie, Slovenská akadémia vied, Bratislava, SK

Biofilmové infekcie predstavujú veľkú hrozbu hlavne u imunokompromitovaných pacientoch, preto je aktuálnou výzvou hľadanie alternatívnych metód na ich eradikáciu. Fotodynamická inaktivácia (PDI-photodynamic inactivation) je metóda, ktorá by mohla byť účinná práve voči jedno aj viacdruhovým biofilmom.

Účinnosť PDI bola testovaná na 48-h jedno a dvojdruhových biofilmoch (štandardné kmene *Candida albicans* SC5314 a *Staphylococcus aureus* CCM3953, rezistentný klinický izolát *C. albicans* CCY29-3-164, meticilín-rezistentný *S. aureus* 6102/1/2010-MRSA). Boli testované rôzne koncentrácie metylénovej modrej (MB; 0,25; 0,5; 1 mM) s rôznymi dĺžkami predinkubácie (2; 4; 16-h). Biofilmy boli ožiarené červeným laserom (190 mW/cm², λ 660 nm, 60 s). Inhibičný účinok PDI sa stanovil pomocou KTJ/ml.

Voči PDI boli najcitlivejšie biofilmy tvorené baktériami *S. aureus* (16-h predinkubácia; 0,25 mM MB), s redukciami 2,08-log₁₀ a 1,6-log₁₀ pre kmene CCM3953 a MRSA. Redukcia jednodruhového biofilmu *C. albicans* predstavovala 0,4-log₁₀ a 0,1-log₁₀ pre SC5314 a rezistentný klinický izolát. V prípade duálnych biofilmov bolo zníženie po PDI 1,91-log₁₀ a 0,6-log₁₀ v kombinácii štandardných kmeňov SC5314 a CCM3953 a klinických izolátov CCY 29-3-164 a MRSA. UV-Vis spektroskopia potvrdila zvyšujúci sa výskyt leukometylénovej modrej (LMB-leucomethylene blue) vo vzorkách s dlhšou inkubačnou dobou, najmä pri biofilmoch tvorených *C. albicans*. Meranie reaktívnych foriem kyslíka (ROS-Glo™ H₂O₂ Assay) po 2 a 16-h predinkubácii s MB pred a po PDI preukázalo významné zvýšenie ROS v biofilmoch *S. aureus*, po ktorom nasledovali zmiešané biofilmy. Najnižšia koncentrácia ROS bola pozorovaná pri biofilmoch *C. albicans*, čo je v súlade s nízkou účinnosťou PDI na tieto biofilmy.

Výsledky preukázali, že biofilmy tvorené baktériami *S. aureus* boli signifikantne citlivejšie voči PDI oproti biofilmom tvorených kvasinkou *C. albicans*. Ďalej transformácia MB na LMB by mohla ovplyvniť fotoaktivitu MB.

Výskum bol podporený Grantom EÚ č. 952398-CEMBO, H2020-WIDESPREAD-05-2020 Twinning, Agentúrou na výskum a vývoj na základe zmluvy APVV-21-0302 a Vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied (VEGA 1/0227/20).

P 08.

Možnosť rozlíšenia klinicky významných kvasiniek pomocou Ramanovej spektroskopie

M. Hrabovská (1), K. Rebrošová (1), M. Šiler (2), O. Samek (2), F. Růžička (1)

(1) Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(2) Ústav přístrojové techniky Akademie věd České republiky, v.v.i., Brno, CZ

Ramanova spektroskopie je důležitou analytickou metodou vibrační spektroskopie. Je založená na tzv. Ramanově jevu – neelastickém rozptyle monochromatického záření, které dopadá na vyšetřovanou vzorku. Tato metoda je používána v různých odvětvích při analýze širokého spektra organických a anorganických vzorků. Čím více pozornosti a prostoru si v posledních letech získává i v oblasti mikrobiologie, kde slouží na různé analýzy mikroorganismů. Tato práce se zaměřuje na možnosti využití Ramanovy spektroskopie na rozlišování mezi různými klinicky významnými kvasinami rodu *Candida*.

V této práci bylo pomocí Ramanovy spektroskopie analyzováno přibližně 300 kvasinkových kmenů, patřících do 23 klinicky významných druhů rodu *Candida*. Kandidy byly kultivovány na Mueller-Hintonově agaru po dobu 24 h při 37 °C. Narostlé kolonie byly přímo na médiu analyzovány pomocí komerčního Ramanova mikrospektrometru inVia (Renishaw plc., Wotton-under-Edge, UK) s použitím diodového laseru s vlnovou délkou 785 nm jako zdroje excitace. Získané Ramanovy spektra byly potom zpracovány pomocí metod strojového učení za účelem identifikace. Výsledná identifikace každého kmeny byla potom porovnávána s výsledkem identifikace pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF.

Získané výsledky prokázaly velmi dobrou schopnost Ramanovy spektroskopie rozlišovat mezi klinicky důležitými druhy rodu *Candida*.

Preto možno povedať, že Ramanova spektroskopie má potenciál stať sa vhodnou metódou na identifikáciu a rozlišovanie klinicky významných druhov kvasiniek. Uplatnenie tejto metódy v rutínnej laboratórnej činnosti by mohlo v budúcnosti dopomôcť k urýchleniu diagnostiky kvasinkových infekcií.

Práce bola podporená projektmi NU21-05-00341 (Ministerstvo zdravotníctví ČR) a MUNI/A/1361/2022 (Masarykova univerzita).

P 09.

Inovácia učebných textov a metód z predmetu Lekárska mikrobiológia obohatená o audiovizuálne spravovanie.

L. Janošiková (1), A. Liptáková (1)

(1) Mikrobiologický ústav Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice Bratislava, SK

Mikrobiológia je medicínsky odbor, ktorý prostredníctvom infekčných ochorení zasahuje do všetkých oblastí medicíny. Výzvu pre vedcov a lekárov pre výskum v tejto oblasti predstavuje neustále sa zvyšujúca rezistencia mikroorganizmov, čo významne komplikuje liečbu. Preto patrí lekárska mikrobiológia medzi elementárne pregraduálne predmety študentov medicíny. Základy bakteriológie, virológie, mykológie a parazitológie spolu so základmi antiinfekčnej terapie sú stavebnými piliermi pre všetky nadstavbové klinické predmety ako je interné lekárstvo, chirurgia, pediatria, gynekológia a pôrodnictvo a infektológia. Všetky vedomosti a postupy potrebné pre správnu diagnostiku a liečbu infekčných ochorení sú zhrnuté v učebnici Lekárska mikrobiológia, ktorá slúži študentom medicíny pre potreby správneho manažmentu pacienta s podozrením na infekčné ochorenie.

Keďže neustále pribúdajú nové poznatky v oblasti molekulovej biológie, imunológie, diagnostiky a liečby infekčných ochorení, ktoré zmenili zaužívané štandardné diagnostické a terapeutické postupy je nevyhnutný pre správne poskytovanie zdravotnej starostlivosti aj update knihy Lekárska mikrobiológia. Druhé vydanie obsahuje rovnako kvalitný učebný text a je navyše doplnené o potrebné kapitoly dotýkajúce sa impaktu koronavírusovej pandémie.

Spolu s písaním 1. vydania knihy Lekárska mikrobiológia sme vytvorili aj webovú stránku www.lekarskamikrobiologia.eu, ktorá je bežne používaným študijným materiálom. Neustále je rozširovaná a dopĺňovaná o nové poznatky a postupy vo forme článkov, videí, kazuistík, obrázkov a audiozáznamov jednotlivých kapitol. V súčasnosti pracujeme na nahrávaní audioknihy Lekárska mikrobiológia. Počúvanie audiozáznamov jednotlivých kapitol zlepšuje komfort štúdia študentom medicíny.

Učebnica spolu s e-learningovým riešením a audionahrávkou poskytuje súhrn najnovších poznatkov z lekárskej mikrobiológie, ktoré sa premietnu do vyššej kvality vzdelávacieho procesu študentov LF.

Práca je podporená Grantom KEGA 002UK-4/2022.

P 10.

Antiproliferative activity of viral glycoprotein UL144 in tumor cells

K. Lopusná (1), M. Benko (1), A. Bitala (1), I. Nemčovičová (1)

(1) Biomedical Research Center of the Slovak Academy of Sciences, Bratislava, SK

Introduction. Immune checkpoint receptors regulate the activation of immune cells upon antigen presentation. Therefore, inhibitory receptors, such as BTLA, PD-1 and CTLA-4, might be overexpressed in several cancers, especially in hematologic malignancies and gastric cancer. UL144 is viral immunomodulator encoded by human cytomegalovirus and is known to bind specifically to BTLA receptor. This is in opposite to HVEM, which binds not only with BTLA but also with LIGHT receptor and in this way activate proliferation of immune cells. In this work we evaluated whether treatment of tumor cells with recombinant UL144 can affect proliferation of Burkitt's lymphoma cell line RAJI.

Methods. UL144 WT, UL144 dg (mutant of UL144 lacking several glycosylation sites) and human HVEM were expressed by using the BV-Sf9 suspension expression system. RAJI cells were seeded at 40×10^3 cells/well into 96 well plates and stimulated with 0.5, 1, 2 and $6\mu\text{g}$ of UL144 WT, UL144 dg, HVEM and PBS. After 72 hours, the cells were treated with 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltriazolium bromide, crystals were dissolved in DMSO and the absorbance was measured at 570 nm.

Results. Treatment of cells with recombinant UL144 WT protein resulted in significantly reduced proliferation of RAJI cells. Using $2\mu\text{g}$ of protein, the proliferation of cell was decreased more than two-times when compared to control cells. On the other hand UL144 dg and HVEM did not affect the proliferation of RAJI cells.

Conclusion. UL144 WT significantly reduces proliferation of Burkitt's lymphoma cell line RAJI. Further experiments will be used to evaluate, which signalling pathways are activated by UL144 WT and lead to tumor cell death.

The work was funded by the project No. 1136/01/02, which has received funding from the European Union's Horizon 2020 Research and Innovation Programme on the basis of the Grant Agreement under the Marie Skłodowska-Curie funding scheme No. 945478 - SASPRO 2; by the Scientific Grant Agency of the Slovak Republic (VEGA 2/0063/21); and by the Slovak Research and Development Agency (APVV-19-0376).

P 11.

Evaluation of antiviral activity of novel compounds targeting cysteine proteases of SARS-CoV-2 in mammalian model cell line VERO-E6

K. Lopusná (1), I. Štibrániová (1), M. Sláviková (1), B. Klempa (1), S. Lenhartová (1), I. Nemčovičová (1)

(1) Biomedical Research Center, Slovak Academy of Sciences; Bratislava, Slovakia

The coronavirus disease COVID-19 caused by SARS-CoV-2 virus started to circulate among humans in 2019 and since its first outbreak it quickly became a global pandemic. The SARS-CoV-2 viral genome encodes several structural, non-structural and accessory proteins, many of which could be used for targeted therapeutics development. Unfortunately, the most of these components undergo rapid genetic variations. Although, the viral proteases also exhibit some changes, they were found to have the least variations among all viral components. Apparently, the viral cysteine proteases (Mpro and PLpro) became the attractive therapeutic targets for SARS-CoV-2 therapy. Here, we analyzed the effect of several newly designed and synthesized compounds on replication features of SARS-CoV-2 and analyzed the cytopathology caused by this virus in the commonly used VERO-E6 cell line. The goal of these novel compounds is to reduce the amount of SARS-CoV-2 virus in infected cells after treatment to levels that are undetectable. In this case, the plaque reductions assay was used to quantify the viral load in infected cells with and without the treatment. The cytotoxicity and the cytopathic effect were observed to varied degree; thus, the final antiviral effect was concluded only in some cases. Three compounds were found particularly effective in reducing the SARS-CoV-2 load significantly, with EC50 values in low micromolar scale reported here. These active compounds were found well tolerated in mammalian cellular model as exhibited by cytotoxicity tests. The results were also compared to other commercially available drugs (e.g., Remdesivir, PR-619, RA-190, GC376) to further highlight the strength of this newly synthesized viral protease inhibitors.

Financial supports provided by the Slovak Research and Development Agency (PP-COVID-20-0010, APVV-21-0108 and APVV-19-0376) and the Scientific Grant Agency of the Slovak Republic (VEGA-02/0026/22) are gratefully acknowledged.

P 12.

Vplyv príjmu kolového nápoja a podávania laktobacilov na expresiu vybraných interleukínov v slezine potkana

P. Novák (1), B. Dudík (1), M. Dudíková (2), F. Bilka (1), B. Hlubinová (1), A. Bilková, (1), H. Kiňová Sepová (1)

(1) Katedra bunkovej a molekulárnej biológie liečiv, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, SK

(2) Katedra farmakológie a toxikológie, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, SK

Potkanom (Wistar, samce) bola nahradená voda kolovým nápojom s cieľom zistiť, či pitie sladeného nápoja vedie k vyvolaniu metabolického syndrómu. Pokus trvajúci 6 mesiacov nevedol k vyvolaniu metabolického syndrómu (parametre hmotnosť, postprandiálna a preprandiálna glykémia, TAG v krvi, systolický a diastolický tlak bez významných zmien). Jedinými významnými zmenami boli zvýšená hmotnosť pečene a zvýšená hmotnosť bieleho tuku. Metabolický syndróm, resp. obezita sú sprevádzané chronickým zápalom nízkeho stupňa. Ukazuje sa, že v jeho rozvoji hrá úlohu slezina produkciou protizápalového IL-10. Cieľom tejto práce bolo zistiť: 1. či došlo k zmenám v expresii IL-10 a ďalších cytokínov v slezine; 2. aký vplyv na expresiu sledovaných cytokínov má súčasné p.o. podávanie laktobacilov. Na stanovenie expresie cytokínov sme použili metódu kvantitatívnej RT-PCR a výsledky sme štatisticky vyhodnotili ANOVA-testom. Podávaným laktobacilom bol *Limosilactobacillus reuteri* kmeň E, izolovaný na našom pracovisku zo sliznice žalúdka jahňat'a. Najdôležitejším výsledkom je zistenie, že pitie kolového nápoja viedlo k zníženiu expresie IL-10 na 43%-nú úroveň kontrolnej skupiny. Súčasné podávanie laktobacilov spôsobilo, že expresia IL-10 bola na úrovni 80 % kontrolnej skupiny, čo je v porovnaní so skupinou, pijúcou kolový nápoj o 37 %-ných bodov vyššia expresia ($p < 0,01$). Významné zmeny sme zaznamenali v expresii prozápalového IL-17. Pitie kolového nápoja spôsobilo 1,65-násobné zvýšenie jeho expresie (vs kontrola: $p < 0,05$). Zvieratá, pijúce kolu a užívajúce laktobacily, mali expresiu IL-17 na úrovni 54 % oproti kontrole (NS), čo je o 111 %-ných bodov menej v porovnaní so skupinou, pijúcou kolu ($p < 0,001$). Pri interleukínoch 1β a 6 sme nezaznamenali žiadne významné zmeny medzi skupinami zvierat. Záverom môžeme skonštatovať, že pitie kolového nápoja počas 6 mesiacov síce nevedlo k rozvoju metabolického syndrómu, avšak na úrovni expresie IL-10 a IL-17 je evidentné, že dochádza k zmenám, ktoré môžu vyvolať chronický zápal nízkeho stupňa. Pozitívnym výsledkom je, že súčasné podávanie potenciálne probiotického kmeňa *L. reuteri* E naznačuje možnosť korekcie expresie oboch cytokínov na úroveň kontrolných zvierat.

Experiment bol uskutočnený v rámci projektu VEGA č. 1/0429/21 a projektu FaF/22/2023.

P 13.

Porovnání promoření drobných savců bakterií rodu *Borrelia burgdorferi sensu lato* mezi lokalitou skládky, obcí a přírodní lokalitou

T. Rozsypalová (1), A. Žáková (1), H. Nejezchlebová (1), M. Dušková (1)

(1) Oddělení fyziologie a imunologie živočichů, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

Afilace:

Zoonotická onemocnění (neboli zoonózy) jsou infekční onemocnění přenosná mezi zvířaty a lidmi. Volně žijící drobní savci hrají důležitou roli při udržování zoonóz v přírodě. Jsou významnými rezervoáry infekcí označované jako „vector-borne disease“. Šíření těchto zoonotických agens je zajištěno pomocí hematofágních členovců, především klíštětem *Ixodes ricinus*.

K původcům takových zoonotických onemocnění patří např. bakterie patřící do rodu *Borrelia burgdorferi sensu lato* způsobující multisystémové onemocnění lymfskou boreliózu. Příznaky boreliózy jsou velmi rozmanité a snadno přehlédnutelné. Není-li borelióza řádně a včas léčena, může po měsících až letech od nákazy přejít až k chronické nervové a kloubní formě.

V tomto výzkumu jsme se zaměřili na vybraného původce zoonotického onemocnění u volně žijících drobných savců v okolí Brna. Cílem bylo porovnat promoření drobných savců v okolí skládky Žabčice, v obydlené lokalitě obce Ledce a přírodní lokalitě CHKO Moravský kras. Na základě předchozích výzkumů a dostupné literatury jsme předpokládali, že se uvedený patogen bude u drobných savců vyskytovat, a to zřejmě ve vyšší míře v lokalitě skládky než v obydlených lokalitách či chráněných krajinných oblastech

Ze získaných vzorků tkání (slezina, ledviny, svaly, plíce) se pomocí metody PCR podařilo detekovat infekční zoonotická agens *Borrelie burgdorferi sensu lato* u 40 % ze zkoumaných 112 vzorků v okolí skládky Žabčice, u 14 % ze zkoumaných 59 vzorků v obydlené lokalitě obce Ledce a pouze u 3,3 % ze zkoumaných 30 vzorků v CHKO Moravský kras. Naše hypotéza je s vysokou pravděpodobností potvrzena. Nejrizikovější oblastí pro člověka i zvířata je z výše zmíněných tří lokalit okolí skládky Žabčice. Avšak k prokazatelnějším výsledkům je třeba dalších, dlouhodobějších výzkumů. Dalším plánovaným krokem je detekovat z tkání i jiné patogeny, kterými jsou *Coxiella burnetii*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia sp.* a *Francisella tularensis*.

P 14.

Nález *Aerococcus urinae* v moči u polymorbídneho pacienta s urotelovým karcinómom

Ž. Tóth (1, 2), Cs. Haver (2), L. Slobodníková (2)

(1) Univerzitná nemocnica Bratislava, Nemocnica Sv. Cyrila a Metoda, Urologické oddelenie, SK

(2) Mikrobiologický ústav Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitetnej nemocnice Bratislava, Bratislava, SK

Úvod

Bakteriálny druh *Aerococcus urinae*, opísaný v roku 1992, je gram-pozitívny fakultatívne anaeróbný alfa-hemolytický kok, ktorý sa z humánných klinických vzoriek neizoluje príliš často. Vyvoláva infekcie obvykle u starších pacientov so závažným základným ochorením a najčastejšie sa izoluje z moču a hemokultúr. Jeho výskyt vo vzorkách moču sa pohybuje okolo 4 %. V našej práci prezentujeme prípad polymorbídneho onkologického pacienta s infekciou uropoetického traktu, u ktorého sa kmeň *A. urinae* izoloval vo vysokej bakteriúrii.

Metodika

Odber, transport a mikrobiologické vyšetrenie moču pacienta sa uskutočnilo podľa platných štandardizovaných postupov. Po izolácii tohto málo frekvencovaného pôvodcu nasledovala retrospektívna analýza chorobopisu pacienta.

Výsledky

65-ročný pacient, ktorý mal v anamnéze stav po darcovskej nefrektómii, radikálnej cystektómii pre invazívny urotelový karcinóm, a po uretrektómii pre uretrálny karcinóm, sa dostavil na výmenu trvalej cievky v ureterokutánnej stómii. Pri výmene udával slabosť a pre zápachajúci moč sa odoslala vzorka na mikrobiologické vyšetrenie. Mikrobiologické vyšetrenie moču viedlo po kultivácii cez noc k izolácii kmeňa *E. faecalis* v počte 10⁵ CFU/ml a na základe citlivosti bola ordinovaná terapia ampicilínom. Predĺžená kultivácia moču poskytla aj druhý bakteriálny kmeň - *A. urinae* v počte > 10⁶ CFU/ml, ktorý mal viditeľný rast len na krvnom agare. Bol rezistentný voči kotrimoxazolu a citlivý na ostatné testované antibiotiká, vrátane ampicilínu, takže nebola nutná úprava antibiotickej terapie. Pacientov stav bol pri ďalšej kontrole zlepšený.

Záver

Spolupráca lekára a mikrobiológa je veľmi dôležitá pre správnu diagnostiku a následnú liečbu pacienta. Úlohou lekára je realizovať kvalitný odber a upozorniť na okolnosti, pre ktoré by sa mal materiál vyšetriť nadštandardne. Ak sa použije algoritmus určený pre bežné nekomplikované infekcie močových ciest, môže uniknúť identifikácia neobvyklých a málo izolovaných patogénov, a to najmä pri polymikrobiálnych infekciách močových ciest.

Seznam prvních autorů:

Prezentující autor	Číslo stránky	Prezentující autor	Číslo stránky
Bartková	39–42	Kučová	15
Baslerová	33	Lencová	12
Bednárová	43	Lopušná	48–49
Binka	44	Mělníkov	35
Brodíková	18	Novák	50
Czucz Varga	45	Ondrouch	19
Diabelko	23	Osowski	25
Diepoltová	28	Rebrošová	32
Farkas	10	Rozsypalová	51
Flodr	31	Sklenář	11
Hermanová	14	Štanclová	20
Hofmeisterová	30	Štindlová	29
Hollá	38	Tóth	52
Hrabovská	46	Urbanová	13
Hrušovská	16	Vacek	26
Jánošíková	47	Vávrová	27
Koňuchová	37	Vozárová	36
Koreneková	22	Závora	17
Kouřilová	24	Žigová	34
Kroneislová	21		

Poznámky:

Tomáškovy dny 2023
XXXII. konference mladých mikrobiologů

Mgr. Dominika Kleknerová (ed.)

Vydala Masarykova univerzita,
Žerotínovo nám. 617/9, 601 77 Brno
1. elektronické vydání, 2023

ISBN 978-80-280-0314-2

<https://doi.org/10.5817/CZ.MUNI.P280-0314-2023>

MUNI
PRESS

MUNI
MED

FAKULTNÍ
NEMOCNICE
U SV. ANNY
V BRNĚ 