

**XXXIV. konference mladých mikrobiologů**

# **TOMÁŠKOVY DNY 2025**



**Masarykova univerzita**  
Brno 2025

**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



**Kniha je šířena pod licencí CC BY-NC-ND 4.0  
(Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0)**

© 2025 Masarykova univerzita

ISBN 978-80-280-0776-8

<https://doi.org/10.5817/CZ.MUNI.P280-0776-2025>

Sponzoři



**GeneProof<sup>®</sup>**

Molecular diagnostics for your routine



**Konference se koná pod záštitou primátorky statutárního  
města Brna JUDr. Markéty Vaňkové.**

# Tomáškovy dny 2025 – program

2. 10. 2025

**09:00–09:10 Slavnostní zahájení**

**09:10–10:10 Bakteriologie a mykologie I**

**01. Invazivní infekce způsobené *Streptococcus pyogenes* – jaké biomarkery mohou pomoci?**

G. Kroneislová, J. Závora, V. Adámková

**02. Multirezistentní G– bakterie u hospitalizovaných pacientů, možnosti terapie, kazuistika**

R. Tejkalová, J. Hrudá, A. Siváková

**03. Gramnegativní nefermentující tyčinky – *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* complex, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* species – *in vitro* aktivita nových antibiotik**

A. Studená, G. Kroneislová, J. Závora, V. Adámková

**04. Komerční imunochromatografické testy k detekci karbapenemáz Gram-negativních bakterií**

M. Bačinská, A. Siváková, R. Tejkalová, F. Růžička

**05. Obtíže v diagnostice a terapii mikromycetárních infekcí u kriticky popálených pacientů**

B. Lipový, M. Hladík, I. Kocmanová, F. Raška, P. Bořilová Linhartová

**10:10–10:40 Coffee break**

**10:40–11:15 Bakteriologie a mykologie II**

**06. Raritní bakteriální izoláty z chronických ran**

P. Urbanová, V. Holá

**07. Selektivní kultivační média pro záchyt *Staphylococcus aureus* v klinickém materiálu**

Z. Švagerová, A. Siváková

**08. Možnosti stanovení citlivosti k vankomycinu izolátů *Staphylococcus aureus***

K. Sirůčková, A. Navrátilová, A. Siváková, D. Polášník Kleknerová, F. Růžička

## **11:15–12:10 Fágová terapie**

### **09. Studies of Microbiological Quality of Preparations with Antimicrobial Preservatives and Therapeutic Bacteriophages of the Genera *Pbunavirus* and *Kayvirus***

M. Komárková, M. Benešík, T. Procházková, A. Vinco, M. Laichmanová, S. Smetanová, P. Jelínek, M. Moša, T. Botka, M. Šoóš, R. Pantůček

### **10. Kombinovaná fágová terapie infekcí PVL-pozitivními kmeny *Staphylococcus aureus***

A. Siváková, E. Kučerová, R. Tejkalová, T. Botka, L. Vacek, J. Tkadlec, J. Vrbský, Z. Švagerová, L. C. Hermanová, M. Osowski, K. Rovňáková, P. Petráš, R. Pantůček, D. Polašík Kleknerová, M. Dvořáčková, P. Urbanová, F. Růžicka

### **11. Fágová terapie ve veterinární medicíně z pohledu legislativy**

J. Chumchalová

## **12:10–12:20 Robotika a automatizace**

### **12. Význam robotiky, automatizace a miniaturizace v mikrobiologické laboratoři**

M. Dvořáčková, E. Mátlová, L. Tesařová

## **12:20–14:00 Oběd**

## **14:00–14:15 Přednáška firmy Dynex – NGS applications in microbiology**

## **14:15–15:05 Sérologie a virologie**

### **14. Moderní sérologická diagnostika borreliózy pomocí mikroblood-array**

M. Dvořáková Heroldová

### **15. Prozánětlivá imunitní odpověď a její vztah k tvorbě specifických protilátek u pacientů s lymeskou boreliózou**

E. Sošková, A. Žákovská

### **16. Izolace na kultivační půdě *Borrelia burgdorferi sensu lato* ze živočišných tkání a potvrzení přítomnosti její DNA pomocí PCR**

T. Kutinová, A. Žákovská, M. Dušková

### **17. Zastoupení genotypů HCV ve FNHK z období 2019–2025**

J. Ondrouch, M. Fajfr, L. Ryšková, R. Bolehovská, R. Kukla

## **15:05–16:00 Coffee break + Poster session**

## **18:00–23:00 Společenský večer**

**3. 10. 2025**

**9:30–10:30 Antimikrobiální látky**

**18. Alternativní strategie v boji s multirezistentními kmeny *Pseudomonas aeruginosa***  
F. Volný, M. Šefranko, L. Vacek, A. Pavelka, L. Janda, F. Růžička

**19. Optimalizace koncentrace EDTA v kombinaci s chitosanem a antimikrobiálními peptidy pro léčbu ran**  
L. Vacek, A. Pavelka, J. Brtníková, L. Vojtová, B. Lipový, L. Janda, F. Růžička

**20. Hodnocení biocidního potenciálu hřebíčkovce vonného v repelentní ochraně proti klíšťatům a jeho vztah k přítomnosti *Borrelia burgdorferi sensu lato***  
A. Pechová, A. Kolasová, A. Žákovská

**21. Rastlinné extrakty ako alternatívne antimikrobiálne látky v orálnom zdraví**  
B. Nebus, J. Kováč, L. Slobodníková, E. Kurin, S. Bittner Fialová

**22. Searching for photo-antimicrobial activity of plants extracts**  
L. Černá, M. Limido, P. Lovecká, F. Bolognese, V. T. Orlandi

**10:30–11:00 Coffee break**

**11:00–12:15 Technická a environmentální mikrobiologie**

**23. Dlouhodobý vliv zinku na konjugaci a virulenci u *Enterococcus faecalis***  
D. Fenclová, K. Číhalová, K. Hrazdilová, L. Žůrek

**24. Sledování aktivity a pozitivitu klíšťat *Ixodes ricinus* a *Haemaphysalis concinna* na vybrané patogenní mikroorganismy**  
H. Vitulová, A. Pechová, A. Žákovská

**25. Průkaz protilátek proti vybraným sérovarům *Leptospira* spp. u malých savců v Moravském krasu**  
L. Sadilová, A. Žákovská, J. Nepeřený, E. Bártová

**26. Modelové štúdie rastu a virulencie *Staphylococcus aureus*: vplyv aktivity vody a riziká pre bezpečnosť potravín**  
J. Koreneková, A. Vavreková, P. Olejníková, L. Bírošová

**27. Vliv nanovlákných polykaprolaktonových materiálů na záchyt a proliferaci kvasinek**  
M. Štindlová, V. Jenčová, K. Havlíčková, S. Lencová, K. Zdenková

**28. Anoxygenní fototrofní bakterie a jejich potenciál pro desulfurizaci**  
V. Procházka, I. Kushkevych

**12:15 Slavnostní zakončení**

## Postery

**P 01. Protokol izolácie genomickej DNA z nechtov**

M. Benko, K. Lopusná, P. Bartíková, L. Kudlová, O. Mihalčo

**P 02. Citlivosť kmeňov *Escherichia coli* izolovaných z komplikovaných infekcií močových ciest na fágové prípravky a antimikrobiálne látky**

Ž. Fussy, M. Straka, S. Elnwrani, H. Drahovská, L. Slobodníková, A. Liptáková

**P 03. Diseminovaná forma nokardiózy u imunosuprimovaného pacienta**

C. Haver, Z. Žilinská, J. Mariš

**P 04. Seasonal Dynamics of Antibiotic-Resistant Bacteria in Surface Waters of Central Slovakia**

M. Hrušková, J. Koreneková, A. Tulipánová, Z. Imreová, T. Mackuľak, L. Bírošová, I. Bodík

**P 05. Integrácia génov zodpovedných za produkciu kyseliny olivetolovej do genómu kvasinky *Candida utilis***

L. Lukáčová, Ľ. Švantner, J. Krahulec

**P 06. Protocol for the generation of 3D cancer cell models and *in vitro* study of influenza virus infection**

M. Mladá, K. Donátová, A. Bitala, K. Lopusná, I. Nemčovičová

**P 07. Vliv koevolučního fágového tréninku v přítomnosti antibiotik na fenotyp a genotyp kmenů *Staphylococcus aureus***

J. Novotná, E. Kučerová, T. Botka

**P 08. Fágový trénink a izolace spontánních mutant jako cesta ke zvýšení účinnosti terapeutických fágů proti klinickým kmenům *Staphylococcus aureus***

V. Okonová, E. Kučerová, T. Botka

**P 09. A compact Raman spectroscopy-based device for rapid identification and characterization of pathogens directly from human body fluids**

K. Rebrošová, M. Šerý, L. Silhan, J. Ježek, O. Samek, V. Holá, F. Ruzicka

**P 10. Transplacentární přenos *Mycoplasma pneumoniae*, kazuistika**

J. Štanclová, R. Kukla, R. Bolehovská, L. Ryšková, J. Stráník

**P 11. Štúdium sekrécie cieľových génov a metabolizmu maltózy v produkčnom systéme kvasinky *Candida utilis***

Ľ. Švantner, L. Lukáčová, J. Krahulec

**P 12. Lemierrov syndróm – zriedkavá komplikácia ako súčasť komplexného klinického obrazu – kazuistika**

B. Tóth, F. Újfalusi, M. Tedla

**P 13. Mikrobiální diverzita a antimikrobiální rezistence u stafylokoků, streptokoků a enterokoků izolovaných z chronických ran pacientů**

N. Witkovská

**P 14. Štúdium ter génov z fága vKMB37 infikujúceho *Escherichia coli***

K. Zemanová, L. Juhásiková, B. Markusková, H. Drahovská

## 01. Invazivní infekce způsobené *Streptococcus pyogenes* – jaké biomarkery mohou pomoci?

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

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

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

*Streptococcus pyogenes* (STPY) způsobuje široké spektrum infekcí – tonzilitidu, infekce kůže, nekrotizující fascitidu, streptokokový syndrom toxického šoku a sepse. V posledních letech je celosvětově patrný nárůst incidence streptokokových infekcí, a to i invazivních forem.

Zvyšující incidenci potvrzují i data ze Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. V roce 2018 bylo zachyceno 148 unikátních kmenů STPY od pacientů ze Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, v roce 2019 to bylo 135 kmenů oproti tomu v letech 2023 bylo zachyceno 494 kmenů a v roce 2024 303 kmenů.

V období 2020–2025 je znepokojující narůstající trend mortality u invazivních infekcí vyvolaných *Streptococcus pyogenes* a vyvolává otázku, co je příčinou tohoto trendu. Jednou z možností je změna vyvolávajícího agens (vyšší virulence), možný výskyt hypervirulentní varianty M1<sub>UK</sub>. Další možností je změna imunitního potenciálu populace (snížená odolnost či zvýšená vnímavost nebo kombinace obou možností).

Management těchto invazivních infekcí je závislý nejen na výsledku mikrobiologických výsledků ale také na biochemických parametrech, především na hodnotách biomarkerů.

Pro infekce způsobené *S. pyogenes* jsou typické vysoké zánětlivé parametry, nejen C-reaktivní protein a leukocyty, ale také prokalcitonin (PCT) a poměr neutrofilů a lymfocytů (NLR). Např. v naší studii z roku 2020 byla průměrná hodnota PCT 12,51 ng/ml a NLR 22,5 u závažných infekcí vyvolaných *S. pyogenes*. U sepsí způsobených *E. coli* byla průměrná hodnota PCT 4,30 ng/ml a NLR 11,23.

Cílem naší další studie je sledování hodnot dalších biomarkerů (ICIS skóre (Intensive Care Infection Score), laktát, kreatinin, myoglobin, heparin binding protein (HBP), vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF), MR-proadrenomedulin). Stanovení imunologického profilu pacientů a identifikace možných faktorů virulence u *S. pyogenes* pomocí NGS (next generation sequencing), abychom mohli predikovat mortalitu u invazivních infekcí způsobených touto bakterií.

## **02. Multirezistentní G– bakterie u hospitalizovaných pacientů, možnosti terapie, kazuistika**

R. Tejkalová (1), J. Hruda (2), A. Siváková (1)

(1) Antibiotické středisko, Mikrobiologický ústav LF MU a FN u sv. Anny v Brně

(2) Anesteziologicko-resuscitační klinika LF MU a FN u sv. Anny v Brně

V nemocnicích představují v současnosti nejvyšší epidemiologické riziko kmeny gramnegativních bakterií produkujících různé karbapenemázy. Rezistence ke karbapenemům u enterobakterií, pseudomonád a acinetobakterů je způsobena enzymy schopnými účinně hydrolyzovat většinu betalaktamů včetně karbapenemů. Nebezpečí spočívá v tom, že tyto enzymy jsou kódovány na mobilních genetických elementech (plazmidy, transpozony) schopných horizontálního přenosu mezi bakteriemi a mohou se tedy velmi rychle šířit. Léčba infekcí způsobených takovými bakteriálními izoláty je významně omezena, výjimkou nejsou ani izoláty rezistentní ke všem dostupným antibiotikům.

Přednáška předkládá možnosti léčby těchto kmenů a mapuje aktuální situaci v naší nemocnici. Součástí sdělení je i krátká kazuistika.

### 03. Gramnegativní nefermentující tyčinky – *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* complex, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* species – *in vitro* aktivita nových antibiotik

A. Studená (1), 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 v Praze, 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

**Úvod:** Infekce gramnegativními nefermentujícími tyčinkami se vzhledem k jejich rozsáhlé přirozené i získané rezistenci stávají velkou výzvou pro správně zvolenou antimikrobiální terapii. I přesto, že se gramnegativní nefermentující tyčinky řadí mezi oportunní nosokomiální patogeny, u rizikových pacientů mohou vyvolat vážné infekce. V největším riziku jsou imunokompromitovaní pacienti, tedy pacienti onkologičtí nebo pacienti po transplantacích. Obzvláště závažná je přítomnost *Stenotrophomonas maltophilia* u pacientů s cystickou fibrózou. Nejčastěji způsobují bakterémii a ventilátorovou pneumonii, ale mohou se podílet i na endokarditidě, osteomyelitidě, infekcích měkkých tkání nebo močových infekcích. Správně provedený mikrobiologický screening se tak stává klíčovým nástrojem pro získání přehledu rezistence těchto problematických bakterií.

**Metody:** Prováděli jsme retrospektivní monocentrickou studii, do které byly vybrány unikátní izoláty gramnegativních nefermentujících tyčinek pocházejících z validních materiálů zachycených v období let 2022–2024 u vybrané skupiny pacientů ze Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. Identifikace bakterií byla provedena pomocí MALDI–TOF. Stanovili jsme minimální inhibiční koncentraci pomocí gradientového stripu u těchto antibiotik – cefiderokol (FCR), aztreonam avibaktam (AZA) a sulfamethoxazol–trimethoprim (COT).

**Výsledky:** Ve sledovaném souboru bakterií bylo zachyceno 94 kmenů gramnegativních nefermentujících tyčinek. Bylo otestováno 24 kmenů *Stenotrophomonas maltophilia* (STMA), 10 kmenů *Burkholderia cepacia* complex (BUCE), 30 kmenů *Pseudomonas aeruginosa* (PSAE) a 30 kmenů *Acinetobacter* species (ACSP). Vybrané hodnoty MIC 50 vyšly následovně. U STMA pro FCR 0,064, pro AZA 1, pro COT 0,125. U ACSP pro FCR 0,25, AZA 1, COT 0,5. U BUCE pro FCR 0,016, pro AZA 2, pro COT 1. U PSAE pro FCR 0,25, pro AZA 8.

**Závěr:** Sulfamethoxazol–trimethoprim si stále zachovává dobrou citlivost. Podle studií má však rezistence zvyšující se trend, je tak vhodný do kombinace s další antimikrobiální látkou. Aztreonam–avibaktam a cefiderokol vykazují velmi dobré výsledky. I u těchto látek se však vyskytuje rezistence, je proto důležité další monitorování situace.

#### 04. Komerční imunochromatografické testy k detekci karbapenemáz Gram-negativních bakterií

M. Bačinská (1), A. Siváková (2,3), R. Tejkalová (2,3), F. Růžicka (2,3)

(1) Gymnázium Brno, Slovanské náměstí, Brno, CZ

(2) Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno, CZ

(3) Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity, Brno, CZ

Bakteriální rezistence je v současnosti globální hrozbou zdravotnictví. Jedním z nejzávažnějších typů této rezistence je produkce karbapenemáz. Léčba pacientů s infekcí vyvolanou takto rezistentními mikroby je velmi omezená, nákladná, často i nemožná. Dalším problémem je fakt, že geny rezistence jsou horizontálně přenosné, což umožňuje jejich globální rozšíření mezi různými druhy mikrobů. Z těchto důvodů je vyhláškou Ministerstva zdravotnictví ČR (Věstník MZ z října 2012) nařízené pacienty kolonizované těmito bakteriemi aktivně vyhledávat. Screeningové testy musí být snadné, rychlé a levné, aby bylo možné je provádět na velkém souboru vzorků. Navíc by měly vykazovat co nejvyšší míru spolehlivosti. Tato kritéria splňují imunochromatografické testy.

Cílem této práce bylo porovnat dvě komerční imunochromatografické soupravy od firem NG Biotech a Coris BioConcept pro detekci karbapenemáz a naleznout vhodný a účinný algoritmus pro jejich použití.

Vyšetřili jsme 27 izolátů 5 různých bakterií řádu *Enterobacterales* a rodu *Pseudomonas* spp., produkujících karbapenemázy OXA-48, VIM, IMP a NDM. Souprava NG-Test CARBA 5 spolehlivě detekovala všechny testované typy karbapenemáz (OXA-48 like, VIM, IMP, NDM) s 96% senzitivitou. Druhá souprava, O.K.N.V.I. RESIST 5, která detekuje stejné typy karbapenemáz, prokázala nižší (60%) spolehlivost při detekci karbapenemázy IMP, celková senzitivita soupravy byla 85 %. Obě soupravy prováděly detekci rychle (do 10 min) a s vysokou senzitivitou. Výsledky potvrdily imunochromatografické testy jako vhodný screening pro detekci karbapenemáz.

Výzkum byl podpořen dodáním 1 kusu detekční soupravy O.K.N.V.I. RESIST-5 zdarma od firmy GALI spol. s r.o., z projektu MUNI/A/1784/2024 a z programového projektu Ministerstva zdravotnictví České republiky s registračním číslem NU21J-05-00035.

## **05. Obtíže v diagnostice a terapii mikromycetárních infekcí u kriticky popálených pacientů**

B. Lipový (1,2), M. Hladík (1), I. Kocmanová (3), F. Raška (4), P. Bořilová Linhartová (5)

(1) Klinika popáleninové medicíny, FNKV a 3. LF UK Praha, CZ

(2) CEITEC – Středoevropský technologický institut, VUT Brno, CZ

(3) Oddělení klinické mikrobiologie FN Brno, CZ

(4) Klinika popálenin a plastické chirurgie FN Brno a LF MU Brno, CZ

(5) RECETOX, PřF MU Brno, CZ

Pacienti s rozsáhlými popáleninami představují kriticky ohroženou populaci s vysokou morbiditou a mortalitou, přičemž významným přispívajícím faktorem jsou infekční komplikace. Kromě dobře zdokumentovaných bakteriálních infekcí se stále častěji ukazuje, že mikromycetární infekce jsou pro tuto skupinu pacientů závažným a často opomíjeným problémem. Patofyziologicky je zranitelnost způsobena kompromitací funkce kůže jako mechanické bariéry a systémovou imunomodulací, která vede k poruše celulární a humorální imunity. Tyto faktory vytvářejí ideální podmínky pro kolonizaci a invazi oportunních mikromycet. Diagnostika těchto infekcí je vysoce obtížná. Klinické projevy mohou být nespecifické a snadno zaměnitelné s bakteriálními superinfekcemi, což vede ke zpoždění v diferenciální diagnostice. Standardní mikrobiologické kultivační metody jsou často časově náročné a mají nízkou senzitivitu. Terapeutický management může u těchto pacientů být také komplikovaný, a to hned z několika důvodů. Systémová antifungální terapie je často zatížena toxicitou (zejména nefrotoxicitou a hepatotoxicitou), což je u kriticky nemocných pacientů s již narušenou funkcí orgánů zásadní problém. Navíc se objevuje rostoucí rezistence mikromycet na běžně používaná antimykotika, což vyžaduje pečlivé monitorování citlivosti. Současně je obtížné dosáhnout dostatečných farmakokinetických a farmakodynamických parametrů léčiv v poškozené/popálené/granulační tkáni. Vzhledem k těmto komplikacím je nutný multidisciplinární přístup, který zahrnuje nejen včasnou a přesnou diagnostiku, ale i individualizovaný terapeutický plán a agresivní chirurgické řešení infikované tkáně, což může zlepšit celkovou prognózu.

## 06. Raritní bakteriální izoláty z chronických ran

P. Urbanová (1), V. Holá (1)

(1) Mikrobiologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

Chronické rány představují komplikovaný problém z hlediska léčby, protože obsahují směs dobře známých patogenů i méně obvyklých bakterií. Tyto „raritní izoláty“ jsou často považovány pouze za kontaminaci nebo nevýznamný nález. Naše zkušenost však ukazuje, že některé z nich mohou disponovat faktory virulence a aktivně se podílet na průběhu infekce. V analyzovaných vzorcích byly identifikovány rody *Gleimia*, *Schaalia*, *Trueperella*, *Actinotignum*, *Myroides* či *Solobacterium*. Některé z těchto mikroorganismů prokazují schopnost tvorby biofilmu, produkce proteolytických enzymů nebo hemolysinů, což může zpomalovat hojení a poškozovat tkáň. U jiných rodů, například *Lancefieldella* či *Fenollaria*, zůstává jejich role zatím nejasná. Cílem prezentace je ukázat pestrost těchto izolátů, přiblížit jejich možné patogenní mechanismy a zdůraznit, že i zdánlivě marginální bakterie mohou hrát roli v chronických ranách. Tato práce je součástí grantového projektu Agentury pro zdravotnický výzkum MZd „Polymikrobiální podstata infekcí nehojících se ran a terapeutický potenciál konceptu založeného na 3D biotisku pro léčbu těchto infekcí“ (AZV NU22-05-00110).

## 07. Selektivní kultivační média pro záchyt *Staphylococcus aureus* v klinickém materiálu

Z. Švagerová (1), A. Siváková (1,2), F. Růžička (1,2)

(1) Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno, CZ

(2) Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

*Staphylococcus aureus* je Gram-pozitivní kok, patří mezi klinicky závažné virulentní mikroby skupiny ESKAPE, která vyvolává většinu nozokomiálních nákaz. Zároveň vytváří sekundární rezistence, které ztěžují jeho léčbu. Nejběžněji způsobuje hnisavé infekce kůže a měkkých tkání, ale i infekce zavedených katétrů nebo fulminantně probíhající pneumonie. Z tohoto důvodu je velice důležitá jeho včasná identifikace, a proto se již tradičně při zpracování materiálu tento nanáší i na selektivní krevní agar s přidavkem 10 % NaCl (KA + 10 % NaCl). Cílem této práce bylo porovnat záchyt *S. aureus* z klinického materiálu na selektivním chromogenním médiu CHROMagar™ Staph. aureus (CHROMagar™, FR) a tradičním KA + 10 % NaCl.

Otestovali jsme 160 klinických materiálů. Mezi vzorky byly stěry z ran, výtěry z nosu a tracheální aspirát. Materiál jsme nanесли na celou miskou krevního agaru, čtvrtinu KA + 10 % NaCl a osminu CHROMagar™ Staph. aureus a poté jsme ho vložili do termostatu a kultivovali celkem 48 hodin při 37 °C. Odečet probíhal za 24 hod a 48 hod kultivace. Nárůst suspektních kolonií byl ověřen pomocí MALDI TOF MS (Bruker Daltonik GmbH, DE).

Na obou selektivních půdách nerostly *Enterobacterales*, enterokoky, streptokoky. Na CHROMagar™ Staph. aureus nerostly ani kvasinky na rozdíl od KA + 10 % NaCl. Ze 160 vzorků klinického materiálu jsme zachytili nárůst stafylokoka ve 41 (25,6 %) vzorcích na krevním agaru. Na KA + 10 % NaCl narostl stafylokok za 24 hod ve 40 (25 %) a za 48 hod ve 41 (25,6 %) vzorcích. Na CHROMagar™ Staph. aureus narostl stafylokok za 24 hod i za 48 hod ve 40 (25 %) vzorcích. Růžové kolonie, které odpovídají růstu *S. aureus* na této chromogenní kultivační půdě byly ve 40 vzorcích, z toho ve směsi s koloniemi jiné barvy byly ve 3 vzorcích. Všechny velikostně odpovídající růžové kolonie (40 vzorků) byly identifikovány jako *S. aureus*. Podobný růst jako *S. aureus* na CHROMagar™ Staph. aureus jsme zaznamenali za 48 hod u *Corynebacterium striatum*, které však mělo drobnější růst.

CHROMagar™ Staph. aureus je stejně selektivní půda jako KA + 10 % NaCl, která navíc inhibuje růst kvasinek. Za 24 hod jsme na něm pozorovali nárůst 97,5 % *S. aureus*. Jeden z izolátů *S. aureus* nebyl na CHROMagar™ Staph. aureus zachycen, což mohlo být způsobeno menší kultivační plochou a nízkou koncentrací patogena ve vzorku. Výhodou CHROMagar™ Staph. aureus je barevné odlišení *S. aureus* při současné přítomnosti kožních stafylokoků ve vzorku, které mělo za 48 hod 91% specificitu.

Tato práce byla podpořena dodáním 1 krabice kultivačních půd CHROMagar™ Staph. aureus od firmy GALI spol. s.r.o a z projektu MUNI/A/1784/2024.

## 08. Možnosti stanovení citlivosti k vankomycinu izolátů *Staphylococcus aureus*

K. Sirůčková (1), A. Navrátilová (1), A. Siváková (1,2), D. Polašík Kleknerová (1,2), F. Růžička (1,2)

(1) Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(2) Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno, CZ

*Staphylococcus aureus* je oportunní patogen, který kolonizuje 20 až 30 % zdravé populace. Může však způsobit hnisavé infekce měkkých tkání, ran a abscedující pneumonie. Lékem první volby jsou beta-laktamová antibiotika, oxacilin, která však nelze použít pro terapii meticilin-rezistentních izolátů (MRSA). Zde se využívá glykopeptidové antibiotikum vankomycin, vůči kterému jsou rezistence u *S. aureus* vzácné. Cílem této práce bylo porovnat metody používané ke stanovení citlivosti k vankomycinu a zjistit podíl rezistentních (VRSA) a sníženě citlivých (VISA) izolátů *S. aureus*.

Na Mikrobiologickém ústavu FN u sv. Anny a LF Masarykovy univerzity v Brně bylo za rok 2024 zachyceno 55 izolátů MRSA a 51 oxacilin-citlivých izolátů *S. aureus*, které byly vyšetřeny pěti metodami: E-testem, mikrodilučním a makrodilučním testem, screeningovou půdou SVAN a experimentálně diskovým difuzním testem. U E-testu a makrodilučního testu byla doba inkubace prodloužena kvůli možnému nárůstu pomalu rostoucích potenciálně rezistentních kolonií. Odečet tedy probíhal za 24 a 48 hodin inkubace v 37 °C. Jako standard byl zvolen makrodiluční test, neboť využívá vyššího objemu inokula, čímž lze lépe zachytit nárůst rezistentních subpopulací. Zjištěné hodnoty MIC byly porovnány s výsledky makrodilučního testu a mezi sebou. Citlivost kmenů jsme stanovili na základě hraničních hodnot vydanými Evropskou společností pro testování citlivosti na antibiotika (EUCAST) pro rok 2024.

Nejvyšší shoda MIC vankomycinu byla mezi makrodilučním testem a E-testem: 47 kmenů (44 %). Protože je makrodiluční metoda pracná, z výsledků se jeví E-test jako nejspolehlivější metoda pro běžnou praxi stanovení přesné MIC. Na půdě SVAN vyrostla v 1 případě kolonie, která při retestování měla MIC 2 mg.L<sup>-1</sup>, nešlo tedy o rezistentní izolát. Průměry inhibičních zón diskového difuzního testu nekorelovaly s hodnotami MIC, není doporučenou metodou pro stanovení citlivosti vankomycinu u *S. aureus*. Hodnota MIC vankomycinu mezi izoláty MRSA byla 1 mg.L<sup>-1</sup> u 36 kmenů (65 %) a 2 mg.L<sup>-1</sup> u 19 kmenů (35 %), všechny kmeny tedy byly citlivé. Hodnota MIC vankomycinu mezi oxacilin-citlivými izoláty byla 1 mg.L<sup>-1</sup> u 27 kmenů (53 %) a 2 mg.L<sup>-1</sup> u 22 kmenů (43 %) a 4 mg.L<sup>-1</sup> u 2 kmenů (4 %). Kmeny s hodnotami MIC 4 mg.L<sup>-1</sup> patří mezi vankomycin intermediárně citlivé *S. aureus* (VISA).

Tato práce byla podpořena z projektu MUNI/A/1784/2024.

## 09. Studies of microbiological quality of preparations with antimicrobial preservatives and therapeutic bacteriophages of the genera *Pbunavirus* and *Kayvirus*

M. Komárková (1), M. Benešík (2), T. Procházková (2), A. Vinco (1), M. Laichmanová (1), S. Smetanová (1,3), P. Jelínek (4), M. Moša (2,5), T. Botka (1), M. Šoóš (4), R. Pantůček (1)

(1) Department of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, CZ

(2) MB Pharma s.r.o., Prague, CZ

(3) RECETOX, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, CZ

(4) Department of Chemical Engineering, University of Chemistry and Technology, Prague, CZ

(5) Faculty of Science, Charles University, Prague, CZ

Antimicrobial preservatives can be used to maintain the microbiological quality of phage preparations, but due to their potential antiviral effect, they may have an adverse influence on phage activity. Moreover, there is a possibility of physicochemical incompatibilities between phage particles and the preservatives. These phenomena may disrupt the effectiveness and quality of the final dosage form containing phages as an active ingredient. For this reason, the subject of this study is the compatibility of antimicrobial preservatives with therapeutic phages in liquid dosage form.

We evaluated the stability of phage activity after exposure to 12 preservatives selected from various chemical classes by the double-layer agar method. Staphylococcal phage DSM 33473 of the genus *Kayvirus* and the pseudomonal phage DSM 33593 of the genus *Pbunavirus*, with a 9 log PFU/ml titer purified into physiological saline solution, were tested. The influence of the phages on the effect of the preservatives was determined by the microdilution method on *Escherichia coli* CCM 4517, *Candida albicans* CCM 8215 and *Aspergillus brasiliensis* CCM 8222. Physicochemical incompatibilities were evaluated by dynamic light scattering analysis.

The assessed preservatives were classified into suitable, moderately suitable and unsuitable for manufacturing phage preparations. The suitable preservatives with slight reduction in phage titre were m-cresol, phenylethyl alcohol, sodium benzoate and sodium propionate. The unsuitable were chlorhexidine digluconate, benzalkonium chloride, thimerosal and diazolidinylurea. Chlorhexidine precipitated in the absence of phages, while benzalkonium only in the presence of phages. Thimerosal caused a decrease of 7 log PFU/ml only in DSM 33593. Diazolidinylurea led to a complete loss of titer in both genera.

The result of this work is a classification of preservatives that can be used to optimise dosage forms with bacteriophages and ensure that they do not pose risks to patients due to microbial contamination or phage degradation caused by excipients.

The study was supported by the National Institute of Virology and Bacteriology (LX22NPO5103) - Funded by the EU - NGEU. The students wish to thank the GA MU for its support (MUNI/A/1603/2024).

## 10. Kombinovaná fágová terapie infekcí PVL-pozitivními kmeny *Staphylococcus aureus*

A. Siváková (1), E. Kučerová (2), R. Tejkalová (1), T. Botka (2), L. Vacek (1), J. Tkadlec (3), J. Vrbský (1), Z. Švagerová (1), L. C. Hermanová (1), M. Osowski (1), K. Rovňáková (2), P. Petráš (4), R. Pantůček (2), D. Polašník Kleknerová (1), M. Dvořáčková (1), P. Urbanová (1), F. Růžicka (1)

(1) Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u sv. Anny a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně, CZ

(2) Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, CZ

(3) Ústav lékařské mikrobiologie, 2. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, CZ

(4) Národní referenční laboratoř pro stafylokoky, Státní zdravotní ústav, CZ

*Staphylococcus aureus* je jedním z hlavních lidských patogenů, který působí především infekce ran a měkkých tkání. Virulenci některých kmenů zvyšuje produkce toxinů, např. Panton-Valentinova leukocidinu (PVL), nebo biofilmu. U části populace je přítomen jako komenzál na nosní sliznici i jinde po těle. Jeho přítomnost je rizikovým faktorem vyžadujícím eradikaci v definovaných případech, např. před kardiochirurgickými výkony nebo při rekurentních infekcích kmeny *S. aureus* produkujícími PVL. Jako součást dekolonizace se používá nosní aplikace mupirocinu v kombinaci s mytím celého těla antiseptiky a dezinfekcí prostředí. Tato dekolonizace však až u 30 % pacientů selhává a musí se opakovat. Bakteriofágy slouží jako alternativní terapie pronikající do biofilmu, kterou je možné kombinovat s antibiotickou léčbou, a proto jsme testovali jejich vzájemnou interakci.

V naší studii jsme vyšetřili citlivost 37 izolátů z ran PVL-pozitivních *S. aureus* k fágu 812K1/420 z rodu *Kayvirus* a interakci mezi tímto fágem a mupirocinem. Všechny testované kmeny *S. aureus* byly citlivé k mupirocinu,  $MIC_{50} = MIC_{90} = 0,125$  mg/L. Vůči fágu bylo 10,8 % izolátů rezistentních, ostatní byly citlivé. Pro porovnání interakce mupirocinu a fága byla použita metoda checkerboard assay a byla stanovena vzájemná interakce. Výsledkem testu je inhibice fága při podání s mupirocinem u mupirocin citlivých kmenů. V kontrolní skupině mupirocin rezistentních izolátů *S. aureus* fág inhibován nebyl. MIC antibiotika nebyla aplikací fága ovlivněna v žádné ze skupin.

Současné podání fága 812K1/420 s mupirocinem nesnižuje účinnost standardní dekolonizační léčby. Kombinovaná terapie přináší proti tomu výhodu eradikace mupirocin rezistentních kmenů *S. aureus* a pomáhá zabránit šíření této rezistence.

## **11. Fágová terapie ve veterinární medicíně z pohledu legislativy**

J. Chumchalová (1)

(1) Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv (ÚSKVBL), Brno, CZ

Požadavky na veterinární léčivé přípravky určené k fágové terapii jsou regulovány jak na evropské úrovni, tak také na národní úrovni. Stěžejní evropskou legislativou je Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/6 o veterinárních léčivých přípravcích a Nařízení komise (EU) 2021/805, kterým se mění příloha II nařízení (EU) 2019/6. Nařízení charakterizují veterinární léčivé přípravky speciálně určené pro bakteriofágovou terapii jako přípravky určené pro nové léčebné postupy, jejichž registrace podléhá centralizovanému postupu registrace. Požadavky uvedené v nařízení pak dále rozvádí pokyn Evropské lékové agentury (EMA) „Pokyn pro kvalitu, bezpečnost a účinnost veterinárních léčivých přípravků speciálně určených pro fágovou terapii“. Dále je pro léčivé přípravky pro fágovou terapii pro veterinární použití v platnosti poměrně nová monografie Evropském lékopisu 5.31. Účinné látky a léčivé přípravky fágové terapie pro humánní a veterinární použití“ a ve fázi připomínkování další monografie Evropského lékopisu 2.7.38. „Stanovení účinnosti bakteriofágů“. V rámci platné národní legislativy lze v ČR řešit možné použití neregistrovaných přípravků na bázi fágové terapie pro veterinární použití dle zákona č. 378/2007 Sb., o léčivech, konkrétně dle § 48a Veterinární speciální léčebné programy.

## 12. Význam robotiky, automatizace a miniaturizace v mikrobiologické laboratoři

M. Dvořáčková (1), E. Mátlová (1), L. Tesařová (1)

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

V běžné výuce je často hodně času věnováno historii jednotlivých oborů, ale v dnešním rychle se měnícím světě je důležité, aby studenti získali dovednosti, které jim umožní úspěšně čelit výzvám budoucnosti. Jednou z těchto klíčových oblastí je robotika, automatizace i miniaturizace.

Díky novým moderním metodám se posunujeme k precizní a personalizované medicíně. Na příkladu vyšetřovacího automatu pro průkaz nukleové kyseliny (NAT) infekčních nemocí přenášených transfúzí (TTID) metodou Real-Time PCR se laborantky seznámí s robotem, který plně respektuje v ČR nově platnou vyhlášku, která stanovuje povinnost testovat konkrétní agens (HIV 1, 2/HBV/HCV) dle Vyhlášky č. 195/2023 Sb., o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek (vyhláška o lidské krvi).

V současné době dochází ke změnám trendů v laboratorních metodách směrem k vyšší:

- Specifičnosti a senzitivitě, což umožňuje přesnější analýzy a detekci.
- Složitějším technologiím: S pokrokem technologií jsou laboratorní postupy sofistikovanější a vyžadují znalost moderních přístrojů a zařízení.
- Miniaturizaci a úspoře reagensů: Robotizace umožňuje provádět testy na menších objemech, což šetří reagenty a zvyšuje efektivitu.

Robotizace má nesporné výhody:

- Přesnost: Roboti provádějí úkoly s minimální chybou, což je klíčové pro laboratorní analýzy.
- Opakovatelnost: Roboti mohou provádět stejné úkoly opakovaně bez únavy.
- Šetření času: Díky automatizaci lze zpracovávat více vzorků naráz, což zvyšuje produktivitu.

Začlenění robotického procesu do rutinní laboratoře a problematika IVDR (Regulace *in vitro* diagnostiky) na certifikovaném systému je přiblížena pomocí krátkého videa.

## 13. NGS applications in microbiology

D. Omelchenko (1)

(1) DYNEX TECHNOLOGIES s.r.o.

Next-Generation Sequencing (NGS) has become a transformative tool in microbiology, offering deep, culture-independent insights into microbial genomes, communities, and functional dynamics. Central to the power of NGS are two major approaches: short-read and long-read sequencing.

Short-read technologies enable highly accurate, high-throughput sequencing, making them ideal for applications such as microbial diversity profiling, antimicrobial resistance detection, and metagenomic surveys. However, their limited read lengths can hinder the resolution of complex genomic regions and the assembly of complete genomes.

In contrast, long-read sequencing provides extended read lengths that allow for the reconstruction of full microbial genomes, plasmids, operons, and structural variants. This capability is critical for resolving closely related strains, tracking horizontal gene transfer, and understanding genome architecture with minimal assembly errors. Although long-read methods may currently have higher error rates or costs, their ability to capture genomic context complements the accuracy and depth of short-read data.

The integration of both short- and long-read sequencing is increasingly enabling hybrid approaches that combine accuracy with completeness, greatly enhancing the resolution of microbial studies. From clinical diagnostics and epidemiology to environmental microbiome research and industrial biotechnology, NGS continues to redefine the scope and precision of microbiological analysis. As technologies advance and analytical tools evolve, NGS stands at the forefront of a systems-level revolution in microbial science.

## 14. Moderní sérologická diagnostika borreliózy pomocí mikroblood-array

M. Dvořáková Heroldová (1), I. Štěpánková (1)

(1) Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, CZ

Lymeská borrelióza (LB) patří v České republice mezi nejvýznamnější zoonózy a je typickým příkladem nákazy s přírodní ohniskovostí. Přenašečem je klíště *Ixodes ricinus* a ročně je v ČR hlášeno 3–4 tisíce případů. Klíčovou roli v diagnostice hraje dvoustupňový algoritmus sérologického vyšetření protilátek IgM a IgG, kombinující screening (EIA, CLIA) a konfirmační metodu westernblot/imunoblot.

Mikroblood-array je moderní varianta imunoblotu, v níž jsou rekombinantní antigeny naneseny do jamek mikrotitrační destičky a vyhodnocení je plně automatizováno, což zajišťuje objektivní a reprodukovatelné výsledky. Příspěvek shrne princip metody, její hlavní výhody a dosavadní zkušenosti našeho pracoviště po několikaměsíčním rutinním používání.

## 15. Prozánětlivá imunitní odpověď a její vztah k tvorbě specifických protilátek u pacientů s lymeskou boreliózou

E. Sošková (1), A. Žáková (1,2)

(1) Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno, CZ

(2) Katedra biologie, Pedagogická fakulta, Masarykova univerzita, Brno, CZ

Lymeská borelióza, infekce způsobená bakteriemi komplexu *Borrelia burgdorferi sensu lato*, je jednou z nejčastějších nemocí přenášených vektory v Evropě. Infekce postihuje různé orgány a tkáně, což vede k široké škále klinických manifestací. Nedostatečná léčba boreliózy může mít za následek dlouhodobé zdravotní komplikace, které významně ovlivňují kvalitu života pacienta.

Cílem této studie bylo zhodnotit přítomnost specifických protilátek tříd IgM a IgG u pacientů testovaných na lymeskou boreliózu na základě vyšetření séra metodou ELISA s využitím celobuněčných i rekombinantních antigenů. Současně byla hodnocena možná asociace mezi výskytem a sérovými hladinami prozánětlivých cytokinů TNF- $\alpha$  a IL-6 a pozitivitou těchto protilátek. Detekce specifických protilátek IgM a IgG proti bakteriím *Borrelia burgdorferi sensu lato* ve vzorcích patientských sér byla provedena metodou nepřímé ELISA. Následná kvantifikace TNF- $\alpha$  a IL-6 byla provedena stejnou metodou. Získaná data byla statisticky zpracována.

Předběžné výsledky studie naznačují, že použití celobuněčného antigenu ve srovnání s rekombinantním antigenem může vést k rozdílným výsledkům při detekci specifických protilátek IgM a IgG, což by mohlo mít vliv na diagnostiku této nemoci. Výsledky dále implikují, že sérové koncentrace sledovaných prozánětlivých cytokinů mají tendenci být vyšší u vzorků s pozitivními a hraničními výsledky.

Zvýšené sérové koncentrace TNF- $\alpha$  a IL-6 u pacientů ukazují na zánětlivou imunitní odpověď. Souvislost mezi jejich hladinami a přítomností specifických protilátek může přinést důležité poznatky o dynamice imunitní odpovědi. Mimo jiné by hladiny TNF- $\alpha$  a IL-6 mohly potenciálně indikovat možné komplikace v pozdní fázi onemocnění, což by nabízelo další možné zpřesnění diagnostiky.

## 16. Izolace na kultivační půdě *Borrelia burgdorferi sensu lato* ze živočišných tkání a potvrzení přítomnosti její DNA pomocí PCR

T. Kutinová (1), A. Žákovská (1,2), M. Dušková (1)

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

(2) Katedra biologie, Pedagogická fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

Původcem závažného onemocnění lymeská borrelióza je bakterie *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Má široké spektrum potenciálních zdrojů, od různých druhů vektorů až po rezervoárové hostitele, například drobné savce. Nejčastějším vektorem u nás je klíště *Ixodes ricinus*. Může být izolovaná z tkání bezobratlých vektorů, ale také z orgánů i tělesných tekutin obratlovčích hostitelů. Izolace živých bakterií je značně složitá a zdlouhavá, proto se pro průkaz nákazy obvykle nevyužívá, nicméně spolu s přímým průkazem DNA patogenu může přispět k pochopení dynamiky přenosu této bakterie a pro hodnocení rizik pro člověka.

Vzorky byly získány odchytem volně žijících hlodavců a sběrem larev komárů a klíšťat. Tkáně byly kultivovány v tekuté půdě po dobu 6–8 týdnů a z těchto půd byla vyizolována DNA. Celkem bylo dosud plně zpracováno 40 vzorků pocházejících z hlodavců, 23 vzorků larev komárů a 22 vzorků klíšťat. Všechny vzorky byly analyzovány metodou PCR s cílem detekovat patogenní agens.

Dosavadní výsledky ukazují 2 pozitivní vzorky ze 40 u hlodavců, u larev komárů zatím nebyl zjištěn pozitivní nález a z 22 vzorků klíšťat byl pozitivní 1.

Dosavadní výsledky ukazují nízký podíl pozitivních vzorků u sledovaných skupin. Přesto nález pozitivních vzorků potvrzuje význam jejich role v přenosu patogenů a zdůrazňuje potřebu dalšího sledování.

## 17. Zastoupení genotypů HCV ve FNHK z období 2019–2025

J. Ondrouch (1), M. Fajfr (1), L. Ryšková (1), R. Bolehovská (1), R. Kukla (1)

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

*Úvod:* Určení genotypů HCV poskytuje zásadní informaci při volbě režimu léčby přímo působícími antiviroty (DAA). Genotyp 1b souvisí především s iatrogenní cestou přenosu, genotypy 1a a 3a zase spíše s injekčním užíváním drog. Vliv na zastoupení genotypů HCV v dané oblasti má zejména počet injekčních uživatelů drog, vývoj hygienických standardů ve zdravotnictví a vývoj migrační situace. V roce 2022 vyhlásila WHO strategii, jejímž cílem je eliminace HCV jako hrozby veřejného zdraví do roku 2030. V tomto světle má určení genotypů HCV význam i za nyní upřednostňovaném, ale nákladnějším, pangenotypovém režimu léčby. Systematické sledování epidemiologie genotypů HCV v daných zájmových oblastech by poskytlo zásadní zpětnou vazbu pro zacílení ochrany veřejného zdraví. V neposlední řadě také nabízí volbu levnějšího genotypově specifického režimu léčby pro rozpočtově omezenější zdravotnické systémy.

*Metodika:* Pro stanovení HCV RNA se ve FNHK využívají dvě metody. Reverzní transkriptázová PCR na systému Abbott (*m2000sp* a *m2000rt*) a reverzní transkriptázová PCR na systému GeneXpert Xpert HCV Viral Load. Pro průkaz genotypu HCV se ve FNHK využívají také dvě metody. První je reverzní transkriptázová multiplex nested PCR pro detekci genotypů 1a, 1b, 2a, 2b, 3a (Okamoto et al., 1992). Druhou metodou je reverzní transkriptázová nested PCR s následnou sekvenací dle Sangera v core oblasti a oblasti NS5B.

*Výsledky:* V časovém rozmezí od ledna 2019 do června 2025 bylo ve FNHK prokázáno celkem 930 HCV PCR pozitivních pacientů. Genotypy byly určeny celkem v 632 jedinečných případech. Zastoupení genotypů HCV bylo následující: **1a** 25,5 %, **1b** 39,4 %, **3a** 33,7 %. Ve zbylých 2,4 % jsou zastoupeny genotypy 2, 4, 6 a/nebo případy smíšených genotypů.

*Závěr:* Za Českou Republiku nejsou ucelená data dostupná. Podobná situace je ovšem napříč celou Evropou. V Evropě jsou nejčastější genotypy 1 a 3, méně pak 2 a 4. Z našich výsledků vyplývá, že nejčastější byl genotyp **1b** (39,4 %) následovaný **3a** (33,7 %) a **1a** (25,5 %). Výskyt jednotlivých genotypů v ČR tedy odpovídá situaci ve většině Evropy.

## 18. Alternativní strategie v boji s multirezistentními kmeny *Pseudomonas aeruginosa*

F. Volný (1), M. Šefranko (1), L. Vacek (1), A. Pavelka (2), L. Janda (2), F. Růžicka (1)

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

(2) Klinická imunologie a imunologie infekčních chorob, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno, CZ

*Pseudomonas aeruginosa* je multirezistentní patogen, který představuje vážný problém pro současnou antimikrobiální terapii. Díky jeho rezistenci k širokému spektru antibiotik a schopnosti tvořit biofilm dochází často k selhání léčby. Proto je nezbytné hledat alternativní strategie, jak s touto bakterií bojovat.

Cílem studie bylo posoudit *in vitro* antibakteriální a antibiofilmový účinek katelcidinů, skupiny přirozeně se vyskytujících antimikrobiálních peptidů.

Antibakteriální aktivita pěti katelcidinů (LL-37, CATH-2, PMAP-23, protegrin-1 a SMAP-29) byla testována proti 19 multirezistentním kmenům *P. aeruginosa* izolovaných z klinických vzorků. Byla stanovena hodnota MIC (minimální inhibiční koncentrace potřebná k desetinásobnému snížení počtu bakterií) a MIC<sub>50</sub> (hodnota MIC dosažená u nejméně poloviny testovaných kmenů). U vybraných kmenů byla hodnocena antibakteriální aktivita katelcidinových kombinací a následně byl vypočítán index frakční inhibiční koncentrace. U těchto kmenů byla sledována také schopnost narušit vytvořený biofilm pomocí katelcidinu LL-37.

Všechny testované kmeny byly citlivé alespoň k jednomu katelcidinu. Hodnoty MIC se pohybovaly v rozmezí 0,63–12,5 µg/ml. Katelcidinové kombinace vykazovaly synergické i antagonistické účinky. U kombinace LL-37 a SMAP-29 byl pozorován největší synergický efekt. Pro redukci bakteriálních počtů byly v kombinacích potřebné nižší koncentrace peptidů než při jejich samostatné aplikaci. Koncentrace LL-37 v kombinaci se pohybovaly v rozmezí 1,56–3,13 µg/ml, koncentrace SMAP-29 v rozmezí 0,08–0,16 µg/ml. LL-37 byl schopný ve vyšších koncentracích narušit také biofilm testovaných kmenů.

Katelcidiny jsou schopné potlačit růst *P. aeruginosa* a zároveň modulovat imunitní odpověď, což z nich dělá perspektivní antibakteriální agens. Jejich kombinace s antibiotiky či fágovými preparáty by mohla představovat účinnou strategii pro léčbu biofilmových infekcí způsobených *P. aeruginosa*.

Podpořeno Ministerstvem zdravotnictví ČR ve spolupráci s Agenturou pro zdravotnický výzkum ČR v rámci projektu č. NU22-05-00475.

## 19. Optimalizace koncentrace EDTA v kombinaci s chitosanem a antimikrobiálními peptidy pro léčbu ran

L. Vacek (1), A. Pavelka (2), J. Brtníková (3), L. Vojtová (3), B. Lipový (3,4), L. Janda (2), F. Růžička (1)

(1) Mikrobiologický ústav Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně a Lékařské fakulty Masarykovy Univerzity, Brno, CZ

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

(3) Pokročilé biomateriály, Středoevropský technologický institut Vysokého učení technického, Brno, CZ

(4) Kliniky popáleninové medicíny, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady (FNKV) a 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Praha, CZ

Léčba infekcí kůže a měkkých tkání, zejména těch, které jsou komplikovány tvorbou biofilmu a mikroorganismy rezistentními vůči lékům, představuje v moderní zdravotní péči narůstající problém. Použití kombinovaných terapií využívajících chelatační činidla, jako je kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA), biopolymery, jako je chitosan, a antimikrobiální peptidy (AMP), se jeví jako slibná strategie pro zvýšení antimikrobiální účinnosti a podporu regenerace tkání.

Klíčovým aspektem tohoto kombinovaného přístupu je identifikace koncentrací EDTA, které poskytují maximální antimikrobiální účinky při zachování kompatibility, nízké cytotoxicity a stability formulace pro topické aplikace na rány.

Pro zjištění ideálního antimikrobiálního složení byl použit karbapenemáza rezistentní kmen *Pseudomonas aeruginosa*. Byl prokázán synergický účinek EDTA jak s chitosanem, tak i s antimikrobiálními peptidy, a to v koncentracích, které jsou běžně považovány na netoxické pro lidské tělo.

Podpořeno Ministerstvem zdravotnictví ČR ve spolupráci s Agenturou pro zdravotnický výzkum ČR v rámci projektu č. NU22-05-00475.

## 20. Hodnocení biocidního potenciálu hřebíčkovce vonného v repelentní ochraně proti klíšťatům a jeho vztah k přítomnosti *Borrelia burgdorferi sensu lato*

A. Pechová (1), A. Kolasová (1), A. Žákovská (1,2)

(1) Katedra biologie, Pedagogická fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(2) Oddělení fyziologie a imunologie živočichů, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno, CZ

Klíšťata patří mezi významné přenašeče patogenů ohrožujících lidské i zvířecí zdraví. Jedním z nejčastějších je komplex bakterií *Borrelia burgdorferi sensu lato*, původce lymské boreliózy. S rostoucím výskytem těchto onemocnění roste i potřeba efektivních preventivních opatření, mezi něž patří i využití repelentních prostředků. Cílem této studie bylo vyhodnotit biocidní účinek vybraných látek s repelentním potenciálem a zároveň molekulárně detekovat přítomnost borrelií u vybraného druhu klíštěte.

Testovány byly tři typy repelentních přípravků: přírodní produkt na bázi hřebíčkovce vonného, komerční repelent Predator a ethanol jako kontrolní látka. Účinnost byla sledována u klíšťat *Ixodes ricinus* a *Dermacentor reticulatus*, se zohledněním jejich vývojového stádia a pohlaví. Klíšťata *I. ricinus* byla sbírána v oblasti Brno–Pisárky, zatímco *D. reticulatus* pocházela z městského prostředí Wrocław (Polsko). Repelentní efekt byl hodnocen bezprostředně po aplikaci a po dvou hodinách. Přítomnost DNA *Borrelia burgdorferi s. l.* u 60 jedinců *D. reticulatus* byla analyzována pomocí PCR a následné agarózové elektroforézy.

Výsledky prokázaly vysokou účinnost komerčního i přírodního repelentu, přičemž přírodní látka vykazovala výrazný efekt zejména u *D. reticulatus*. Ethanol neprokázal statisticky významný repelentní účinek. Po dvou hodinách došlo k poklesu účinnosti přírodního repelentu (z 80,53 % na 54,05 %), zatímco účinek komerčního přípravku zůstal téměř zachován. Molekulární analýza potvrdila výskyt borrelií u části testovaných jedinců *D. reticulatus*, přičemž výsledky naznačují možné souvislosti mezi výskytem patogenu, lokalitou a pohlavím klíšťat.

Studie poukazuje na potenciál přírodních repelentů jako alternativy ke komerčním přípravkům, a zároveň podtrhuje význam molekulární detekce patogenů v rámci komplexního přístupu k prevenci onemocnění přenášených klíšťaty. Zjištěná pozitivita *Borrelia burgdorferi s. l.* u *D. reticulatus* potvrzuje jeho roli v epidemiologii lymské boreliózy.

## 21. Rastlinné extrakty ako alternatívne antimikrobiálne látky v orálnom zdraví

B. Nebus (1), J. Kováč (2), L. Slobodníková (1), E. Kurin (3), S. Bittner Fialová (3)

(1) Ústav lekárskej mikrobiológie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského a Univerzitná nemocnica Bratislava, Bratislava, SK

(2) Klinika stomatológie a maxilofaciálnej chirurgie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského a Nemocnica sv. Alžbety, Bratislava, SK

(3) Katedra farmakognózie a botaniky, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, SK

*Enterococcus faecalis* je významný patogén endodontických infekcií, ktorý často vedie k zlyhaniu liečby koreňových kanálikov a prispieva k chronickým zápalom. Vzhľadom na rastúcu antimikrobiálnu rezistenciu sa zvyšuje potreba hľadať alternatívne prístupy využívajúce prírodné látky. Cieľom štúdie bolo vyhodnotiť antibakteriálnu účinnosť vodných extraktov zo zeleného čaju (*Camellia sinensis*) a mäty piepornej (*Mentha × piperita*) a ich hlavných bioaktívnych zlúčenín proti klinickým kmeňom *E. faecalis*.

Vodné extrakty boli pripravené ako infúzie a analyzované na obsah trieslovín, flavonoidov, hydroxyškoricových derivátov a celkových polyfenolov. Antibakteriálna aktivita bola stanovená mikrodilučnou metódou, pričom bola určená minimálna inhibičná a minimálna baktericídna koncentrácia. Testované boli aj čisté zlúčeniny epigalokatechín galát, epikatechín, kyselina kávová a kyselina rozmarínová.

Extrakt zo zeleného čaju vykázal najvyššiu účinnosť s hodnotami MIC/MBC 1,25–2,5/5–10 mg/ml, pričom epigalokatechín galát bol najúčinnějšíou zlúčeninou (MIC/MBC 0,25–0,5/1 mg/ml). Extrakt z mäty preukázal len miernu aktivitu a jeho hlavné fenolové kyseliny dosahovali vyššie hodnoty MIC/MBC. Zmes oboch extraktov mala antagonistický efekt s nižšou účinnosťou než jednotlivé extrakty.

Výsledky ukazujú, že zelený čaj, najmä epigalokatechín galát, predstavuje perspektívnu prírodnú alternatívu k antibiotikám v prevencii a liečbe orálnych infekcií spôsobených *Enterococcus faecalis*. Kombinácia so zmesou mäty piepornej však neprináša aditívny prínos.

### POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporená Ministerstvom školstva Slovenskej republiky, grantové číslo VEGA 1/0170/24.

## 22. Searching for photo-antimicrobial activity of plants extracts

L. Černá (1), M. Limido (2), P. Lovecká (1), F. Bolognese (2), V. T. Orlandi (2)

(1) Department of Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology Prague, CZ

(2) Department of Biotechnologies and Life Sciences, University of Insubria, Varese, IT

Corresponding author email: cernbu@vscht.cz

Traditional antibiotics are becoming increasingly ineffective against common microbial pathogens. Among the most innovative techniques, the photo-antimicrobial approaches are gaining increasing interest due to their broad-spectrum efficacy and low potential for inducing resistance. In this field, two main techniques have been developed: antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) and antimicrobial Blue Light (aBL). In this study, we investigated one promising approach that involves 20 plant derived extracts and blue light (380–430 nm, 0.537 mW/cm<sup>2</sup>). The extracts used in this study were obtained from six different plants: *Rosmarinus*, *Cupressus*, *Viola*, *Betula*, *Platanus* and *Ficus*. Our experiments were carried out against both Gram-positive and Gram-negative model microorganisms, *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*, respectively. The drop and spread methods were used to describe counting viable bacteria through CFU/mL, from which the antibacterial or photodynamic effects were determined. To evaluate the antimicrobial effects, we compared the activity of the plant extracts in the dark with the ones irradiated under blue light for 3 hours. As expected, according to our previous studies, the extracts are selectively efficient against the Gram-positive bacteria. In particular, some plant extracts (250 µg/mL) showed intrinsic antimicrobial activity or showed enhanced effects upon blue light irradiation, indicating a potential photodynamic mechanism. Our results suggest that these tested plant extracts have considerable potential for the development of new therapies against infectious diseases.

Acknowledgements: The financial support by TA ČR of project No. TN02000044 is greatly appreciated.

## 23. Dlouhodobý vliv zinku na konjugaci a virulenci u *Enterococcus faecalis*

D. Fenclová (1), K. Číhalová (1), K. Hrazdilová (1), L. Žůrek (1)

(1) Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta Mendelovy univerzity v Brně, Brno, CZ

Oxid zinečnatý (ZnO) byl dlouhodobě používán v krmných směsích pro selata jako profylaktikum proti průjmům po odstavu a jako růstový stimulátor, kdy nahradil dříve používaná antibiotika. Podávané dávky dosahovaly až 3000 mg/kg krmiva. V Evropské unii byla později zavedena regulace, avšak v řadě zemí mimo EU tato omezení dosud neplatí, a proto problém nadměrné expozice zinkem přetrvává. Takto vysoké dávky mohou působit nejen selekční tlak, ale také indukovat horizontální přenos genů (HGT), například u *Enterococcus faecalis*, kde přenos plasmidu pCF10 řídí feromon recipienta – přičemž ZnO zde funguje jako nekanonický agonista feromonové signální dráhy.

Cílem bylo prověřit, zda dlouhodobá expozice ZnO nebo ZnONPs modifikuje fenotyp *E. faecalis* a ovlivňuje konjugaci. Použity byly kmeny OG1RF:pCF10 (donor) a OG1SSp (recipient), které byly 20× pasážovány s 2 mg/mL ZnO nebo ZnONPs. Hodnocena byla morfologie (SEM), růst, tvorba biofilmu, citlivost k antibiotikům a exprese vybraných genů pomocí qPCR. Konjugační frekvence byla stanovena jako T/D.

Dlouhodobá expozice vedla u donora po ZnO k výrazné buněčné agregaci s vrstvou extracelulárních polymerních látek a k nárůstu biofilmu u obou kmenů, přičemž ZnO mělo silnější efekt než ZnONPs. Citlivost k antibiotikům zůstala převážně beze změny. Exprese genů souvisejících s pCF10 (zejména prgB a prgU) byla po zinkové zátěži významně zvýšená. Ošetření recipienta vedlo k vyšší frekvenci přenosu, nejvíce po ZnONPs s řádovým nárůstem T/D. Krátkodobá expozice efekt nevyvolala.

Dlouhodobá expozice zinku tedy mění fenotyp *E. faecalis* a zvyšuje pravděpodobnost přenosu plasmidu pCF10. Historická zátěž Zn v chovech tak může akcelarovat HGT a podporovat šíření genů rezistence a virulence. Zinek je třeba hodnotit v rámci konceptu One Health a tyto fenotypy aktivně sledovat.

Výzkum byl podpořen grantem Interní grantové agentury Agronomické fakulty MENDELU IGA24-AF-IP-032.

## **24. Sledování aktivity a pozitivitu klíšťat *Ixodes ricinus* a *Haemaphysalis concinna* na vybrané patogenní mikroorganismy; zaměřeno na *Borrelia burgdorferi* s. l., *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffensis*, *Coxiella burnetii* a *Francisella tularensis***

H. Vitulová (1), A. Pechová (2), A. Žáková (2,3)

(1) Gymnázium a obchodní akademie Bučovice, p. o., Bučovice, CZ

(2) Katedra biologie, Pedagogická fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

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

Cílem práce je analýza přítomnosti vybraných patogenních mikroorganismů, bakterie *Borrelia burgdorferi* s. l., původce zoonózy Lymeská borrelióza, v biologických vzorcích izolovaných z klíšťat *Ixodes ricinus* a *Haemaphysalis concinna* z lokality ve Slavkově u Brna u golfového hřiště. Zjištěním míry aktivity a pozitivitu odchycených klíšťat je možné vymezit kritický měsíc jejich výskytu v dané aglomeraci, ale také upozornit na nebezpečí přenosu patogenů na lidi nacházející se v dané oblasti výskytu klíšťat.

Hlavními technikami, které byly k této práci použity, jsou práce v terénu a analýza patogenní DNA pomocí metody PCR zaměřené na přítomnost patogenní bakterie *Borrelia burgdorferi* s. l., a dále dalších patogenních bakterií – *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffensis*, *Coxiella burnetii* a *Francisella tularensis*.

Z testovaných klíšťat *Ixodes ricinus* bylo na borrelie pozitivních 16,68 % (tj. 12 klíšťat), neprokázala se naopak ani u jednoho z testovaných *Haemaphysalis concinna*. Kritickým měsícem pro hostitele je srpen.

## 25. Průkaz protilátek proti vybraným sérovarům *Leptospira* spp. u malých savců v Moravském krasu

L. Sadilová (1), A. Žáková (1,2), J. Nepeřený (3), E. Bártová (4)

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

(2) Katedra biologie, Pedagogická fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

(3) Bioveta, a.s., Ivanovice na Hané, CZ

(4) Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, VETUNI, Brno, CZ

Bakterie rodu *Leptospira* mohou u člověka a zvířat způsobovat leptospirozu – zoonotické onemocnění, které může být i smrtelné. V České republice se jedná o 20 až 30 případů onemocnění lidí ročně. Nejčastějšími hostiteli těchto bakterií jsou malí savci, převážně hlodavci. Cílem práce je detekce protilátek proti vybraným sérovarům *Leptospira* spp. u volně žijících malých savců z CHKO Moravský kras a stanovení míry rizika infekce pro člověka. Tento dílčí projekt je součástí dlouhodobého výzkumu probíhajícího na jižní Moravě.

Celkem bylo vyšetřeno 171 vzorků od malých volně žijících savců odchycených v letech 2021–2024 v Moravském krasu zahrnující 8 druhů: myšice lesní (59), myš domácí (51), norník rudý (40), hraboš polní (14), myšice křovinná (3), rejsek obecný (2), myšice temnopásá (1) a plch velký (1). Protilátky proti sérovarům *Leptospira* spp. byly prokazovány pomocí MAT (Mikroskopický Aglutinační Test), který je považován za zlatý standard, a ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Celkem 9 sérovarů *Leptospira* spp. (Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Istricta, Pomona, Sejroe, Sorex Jalna a Tarassovi), vyskytující se na území ČR, bylo použito jako antigeny pro metody MAT i ELISA. Základním ředěním vzorků (výplachů orgánů) bylo 1:100. Metodou MAT byly zjištěny protilátky u 29,8 % (51/171) vzorků s prokázanými sérovary Grippotyphosa (19 vzorků, 11,1 %), Istricta (18 vzorků, 10,5 %), Icterohaemorrhagiae (14 vzorků, 8,2 %), Bratislava (11 vzorků, 6,4 %), Sejroe (4 vzorky, 2,3 %) a Canicola, Pomona a Sorex Jalna po 1 vzorku (0,6 %). Metodou ELISA byly zjištěny protilátky u 25,7 % (44/171) vzorků proti mixu 9 sérovarů. Statistické porovnání výsledků z obou metod vykazovaly nízkou shodu (33,9 % vzorků, 58/171, Cohenova kappa = 0,041;  $p = 0,2$ ).

Oproti výsledkům z předchozích let na stejných lokalitách (6,1 % pozitivita s průkazem 2 sérovarů, Pomona 47/855 a Grippotyphosa 4/855, ve vzorcích z otisku srdce), byla nyní zjištěna mnohem vyšší pozitivita i širší spektrum sérovarů. Tento rozdíl může být ovlivněn mimo jiné i typem vzorků. Ukazuje se, že výplachy orgánů jsou k serologickému vyšetření vhodnější a citlivější a mnohem citlivější než otisk srdce. V odchycích se bude pokračovat i v dalších letech, a kromě serologického vyšetření budou tkáně zvířat analyzovány i pomocí PCR, neboť leptospiry zůstávají v tělech hostitelů po celý jejich život.

## 26. Modelové štúdie rastu a virulencie *Staphylococcus aureus*: vplyv aktivity vody a riziká pre bezpečnosť potravín

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 enterotoxíny (SE), produkované predovšetkým druhom *Staphylococcus aureus*, sú príčinou závažných alimentárnych intoxikácií. Ich produkcia je ovplyvnená viacerými faktormi, vrátane typu SE, charakteristík konkrétneho kmeňa a podmienok prostredia. Pochopenie vplyvu stresových faktorov (zmeny  $a_w$ , pH, teploty a pod.) na rast a produkciu SE je kľúčové z hľadiska bezpečnosti potravín.

V tejto štúdii boli analyzované tri potravinové izoláty *S. aureus* produkujúce enterotoxíny A–E. Cieľom bolo vyhodnotiť vplyv NaCl na rast a produkciu SE v modelovom médiu pri ôsmich hodnotách aktivity vody ( $a_w$  v rozmedzí 1,00–0,86). Rastová rýchlosť bola závislá od kmeňa, pričom nízky prídavok soli (do 7,95 %) mal pozitívny vplyv na rast aj napriek predĺženiu lag fázy, čo korešponduje s halofilným charakterom druhu *S. aureus*. Paralelne sme hodnotili virulenciu izolátov na modelovom organizme *Galleria mellonella*, pričom najnižšia hodnota LD<sub>50</sub> bola zaznamenaná u producenta SEE medzi 1.–2. dňom po inokulácii.

Poznatky o bezpečnosti potravín z hľadiska výskytu *S. aureus* neustále napredujú, avšak je potrebné ďalej skúmať mechanizmy regulácie génovej expresie spojené s produkciou SE. Rozširovanie vedomostí o raste *S. aureus* a produkcii SE má zásadný význam pre potravinársky priemysel, keďže umožňuje optimalizovať výrobné procesy, minimalizovať riziko kontaminácie a zvýšiť bezpečnosť potravín.

## 27. Vliv nanovláknenných polykaprolaktonových materiálů na záchyt a proliferaci kvasinek

M. Štindlová (1), V. Jenčová (2), K. Havlíčková (2), S. Lencová (1), K. Zdeňková (1)

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

(2) Katedra chemie, Technická univerzita Liberec, Liberec, CZ

Nanovláknenné materiály (NM) jsou dnes hojně využívány ve zdravotnictví, např. jako krytí ran nebo součást vzduchových filtrů a zdravotnických masek. Velikost, povrch vláken a porézní struktura materiálu přispívají k riziku kolonizace mikroorganismy, kvasinkami nevýjimaje. Kvasinkové infekce jsou dnes léčeny antimykotiky a léčba trvá v rámci týdnů, během nichž si mohou kvasinky vytvořit rezistenci k danému léčivu. Kvůli problémům s rostoucí rezistencí by se proto měl výzkum ubírat ke strukturování povrchů nanovláken za vytváření nanohrotů či nanobřitů, které by znesnadnily nebo znemožnily kolonizaci NM a tím nahradily nutnost léčiv.

Pro zjištění účinnosti strukturování vláken NM byly testovány dva typy polykaprolaktonových (PCL) NM o rozdílných molekulových hmotnostech a tím i průměru vláken (45 a 80 kDa) ve variantě hladkých vláken (h) nebo strukturovaných postřikem PCL80 v pentylacetátu (s). Jako modelové kvasinky byly zvoleny *Candida albicans* CCM 8215 a *Saccharomyces cerevisiae* CCM 8191. NM byly podrobeny: i) filtraci suspenzí za atmosférického tlaku, (ii) 1 h kultivaci na povrchu agaru pokrytého kvasinkovými buňkami, a (iii) dlouhodobé kultivaci v tekutém médiu s kvasinkami. Testy jsou v současné době vyhodnoceny kvantitativně pomocí KTJ/cm<sup>2</sup>.

Při filtraci vykazují testované NM záchyt 1–2 řádů při optické denzitě (OD) 1 McF a až 3 řády při OD = 0,5 McF, kdy jsou buňky zadržovány primárně na vrchní straně filtru. NM PCL80 mají obecně vyšší záchyt než PCL45. V případě přenosu z agaru na PCL NM dochází k přenosu průměrně kolem 20 % KTJ při krátkodobé prekultivaci se stovkami KTJ. Při dlouhodobé prekultivaci (10<sup>7</sup> KTJ) dochází k přenosu až 50 % KTJ u PCL\_s.

Ze získaných dat vyplývá, že na záchyt a proliferaci má hlavní vliv průměr vláken. Struktury na vláknech vytvořené pomocí postřiku PCL80 v pentylacetátu zlepšují zádržnost a v některých případech i přenos z agaru, ale spíše podporují proliferaci při dlouhodobé kultivaci. V budoucnosti tedy bude záležet na uplatnění, zda bude vhodné upravit postřik pro snížení (antifungální účinky) anebo zvýšení (probiotika) počtu adherovaných kvasinkových buněk na PCL NM.

Výzkum byl podpořen Grantovou agenturou České republiky, grant č. 23-05154S.

## 28. Anoxygenní fototrofní bakterie a jejich potenciál pro desulfurizaci

V. Procházka (1), I. Kushkevych (1)

(1) Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

Purpurové a zelené sírné bakterie (PSB a GSB) jsou ekologické skupiny anoxygenních fototrofních bakterií. Na rozdíl od sinic a eukaryotických fototrofů jejich fotosyntéza nezahrnuje fotooxidaci vody na elementární kyslík. Místo toho využívají jiné donory elektronů, nejčastěji  $\text{H}_2\text{S}$ , které přeměňují buď na elementární síru, nebo na síran. Tato jejich vlastnost by mohla být potenciálně využita v biotechnologii, například při odsiřování bioplynu.

Kultury PSB a GSB byly získány z anoxických sedimentů pomocí Vinogradského kolony. Pro kultivaci bylo využito kapalně médium zahrnující základní minerály,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{NaHCO}_3$  jako zdroj uhlíku a kyanokobalamin jako prekurzor bakteriochlorofylů. Pro rychlejší růst byly přidány organické živiny: acetát a citrát. Jako zdroj světla byla použita klasická žárovka se spojitým spektrem. Kultivace probíhala ve vialkách s 50 ml média pod dusíkovou atmosférou, uzavřených butylovými septy. Kultury byly dokrmovány roztoky  $\text{H}_2\text{S}$  a  $\text{NaHCO}_3$  vždy, když koncentrace  $\text{H}_2\text{S}$  klesla na nulu.

Cílem práce bylo studovat fotosyntetickou aktivitu několika kultur PSB a GSB. Sledované parametry byly optická denzita a koncentrace  $\text{H}_2\text{S}$ . První experiment probíhal po dobu 14 dnů s měřením každý den. Jelikož zkoumané kultury PSB zpravidla spotřebovaly veškerý  $\text{H}_2\text{S}$  během jednoho dne, byl proveden ještě podrobnější experiment s měřením v intervalu 1 hodiny. Ukázalo se, že PSB dovedou spotřebovat  $\text{H}_2\text{S}$  o koncentraci 1,2 mmol/l již za 5 hodin. GSB byly méně metabolicky aktivní než PSB, pro další využití tedy lze doporučit spíše PSB.

Naše výsledky ukazují, že anoxygenní fototrofní bakterie mohou účinně odstraňovat  $\text{H}_2\text{S}$  z médií, což potvrzuje jejich potenciál pro odsiřování bioplynu. Takováto technologie by mohla být ekologičtější alternativou k současným chemickým procesům odsiřování a učinila by bioplyn, který je významným biopalivem, ještě udržitelnějším. Vedlejším produktem této technologie by byla biomasa, bohatá na síru, bakteriochlorofyly a glykogen. Ta by mohla být také využita, například jako mikrobiální hnojivo. V dalším kroku se plánuje pracovat s fotobioreaktorem většího objemu a využít bioplyn jako zdroj  $\text{H}_2\text{S}$  a  $\text{CO}_2$ .

## **P 01.**

### **Protokol izolácie genomickej DNA z nechťov**

M. Benko (1), K. Lopušná (1), P. Bartíková (1), L. Kudlová (1), O. Mihalčo (2)

(1) Virologický Ústav, Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, v.v.i., Bratislava, SK

(2) Oddelenie neonatologickej intenzívnej medicíny, Detská fakultná nemocnica Košice, Košice, SK

Izolácia DNA z nechťov predstavuje nový neinvazívny prístup k analýze ľudskej genomickej DNA. Na rozdiel od štandardne používaných postupov (odber krvi) je analýza genomickej DNA z nechťov neinvazívna metóda, ktorá má potenciál nahradiť štandardne využívané postupy izolácie DNA z pacientov. V tejto práci prezentujeme protokol izolácie genomickej DNA z nechťu pacienta. Nechť bol homogenizovaný pomocou elektrickej brúsky na jemný prášok. DNA z prášku sme izolovali pomocou kitu (Thermo Scientific, US). Približne 0,1 g prášku z nechťu bolo lyzované v lyzačnom pufri dodanom výrobcom s pridaním proteínázy K pri teplote 56 °C. Na overenie prítomnosti vyizolovanej ľudskej DNA z nechťu bola použitá PCR s primermi špecifickými pre gén DDX5. Okrem ľudskej genomickej DNA sme analyzovali prítomnosť aj vírusovej DNA. Ľudský herpesvírus 6 (HHV-6) je dvojvláknový DNA vírus, ktorý spôsobuje detské ochorenie roseola infantum. Bolo preukázané, že HHV-6 sa môže integrovať do ľudského genómu ako tzv. chromozomálne integrovaný HHV-6 (ciHHV-6). Do PCR reakcie bol použitý OneTaq Quick-Load (2X) Master Mix, 2 ng DNA a primery špecifické pre detekciu HHV-6 a DDX5. Výsledný PCR produkt bol vizualizovaný pomocou agarózovej elektroforézy s farbením etídiumbromidom. V rámci tejto práce sa nám podarilo z nechťu pacienta úspešne izolovať genomickú DNA, ktorá bola použitá ako templát do PCR reakcie. Genomická DNA izolovaná pomocou nami navrhnutého protokolu môže byť využitá aj pri ďalších analýzach ako je: detekcia mutácií súvisiacich s rakovinou/ rezistenciou na antivirotiká alebo celogenómové sekvenovanie.

Táto práca vznikla na základe podpory Agentúry na podporu výskumu a vývoja (APVV-23-0288), Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied (VEGA 2/0140/25) a grantového programu Slovenskej akadémie vied pre postdoktorandov (PostdokGrant APD0120).

## P 02.

### Citlivosť kmeňov *Escherichia coli* izolovaných z komplikovaných infekcií močových ciest na fágové prípravky a antimikrobiálne látky

Ž. Füßy (1,2), M. Straka (2), S. Elnwrani (3), H. Drahovská (3), L. Slobodníková (2), A. Liptáková (2)

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

(2) Mikrobiologický ústav Lekárskej fakulty a UN Bratislava, SK

(3) Katedra molekulárnej biológie Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského, Bratislava, SK

**Úvod:** Liečba uroinfektov predstavuje v súčasnosti veľkú výzvu, hlavne v kontexte stúpajúcej antibiotickej rezistencie. Preto rastie záujem o alternatívne postupy liečby – vrátane fágových prípravkov. Bakteriofágy sú vírusy so schopnosťou cielene napádať baktérie. Ich výhodou je schopnosť infikovať a lyzovať aj kmene rezistentné voči antibiotikám vzhľadom na ich odlišný mechanizmus účinku. Cieľom tejto práce bolo analyzovať vzorky moču od pacientov s chronickými a recidivujúcimi infekciami, identifikovať pôvodcov, vyhodnotiť ich citlivosť na antibiotiká a fágové prípravky.

**Metodika:** Vzorky moču sme získavali na urologickej ambulancii v Nemocnici sv. Cyrila a Metoda v Bratislave. Izolované kmene *Escherichia coli* boli testované z hľadiska citlivosti na antimikrobiálne látky, komerčné fágové prípravky Enko, Pyo a Intesti (Eliava Bio Preparations, Gruzínsko) a fágový koktejl pripravený na Prírodovedeckej fakulte UK z fágov izolovaných zo splaškovej vody na Slovensku. Na testovanie citlivosti fágov bola použitá metóda tvorby plakov.

**Výsledky:** Z 22 kmeňov *E. coli* sme v štyroch prípadoch evidovali multirezistenciu, v dvoch prípadoch polyrezistenciu na ATB. Štyri kmene boli citlivé na všetky testované ATB. Slovenský fágový koktejl pokrýval najširšie spektrum kmeňov (15 – 68,2 %) – vrátane polyrezistentných - v porovnaní s prípravkom Intesti (9– 40,9 %), Enko (11 – 50,0 %) a Pyo (12 – 54,5 %). Dva multirezistentné kmene *E. coli* boli citlivé iba na slovenský fágový koktejl, 7 kmeňov (31,8 %) nebolo citlivých na žiaden z prípravkov.

**Záver:** Fágové prípravky ukázali vysokú účinnosť *in vitro* voči ATB polyrezistentným, a niektorým multirezistentným kmeňom *E. coli*. Fágové prípravky by mohli predstavovať v budúcnosti vhodnú náhradnú, respektíve komplementárnu metódu k liečbe antibiotikami.

*Táto práca bola podporená grantom APVV-23-0140.*

### **P 03.**

#### **Diseminovaná forma nokardiózy u imunosuprimovaného pacienta**

C. Haver (1), Z. Žilinská (1), J. Mariš (1)

(1) Klinika nefrológie a transplantácií obličiek LF UK a UNB, Bratislava, SK

*Úvod:* Nokardióza je zriedkavé infekčné ochorenie spôsobené baktériami z rodu *Nocardia*, prísne aeróbna tyčinka s rozvetvenými vláknami v tkanivách a kultivačných médiách. Sú ubikvitárne, bežne sa vyskytujú v pôde, vode a rozkladajúcej sa vegetácii. Infekcie sú vždy exogénne, incidencia 0,375 - 0,87 prípadov /100 000 obyvateľov. V špecifických rizikových skupinách stúpa. Prejavujú sa ako oportunistické infekcie u imunokompromitovaných ľudí. K infekcii dochádza inhaláciou alebo priamou inokuláciou cez narušenú kožu. Rozdeľuje sa na lymfokutánnu, pľúcnu a diseminovanú formu. Dg. sa opiera o klinický obraz, kultiváciu a pomocné vyšetrenia. Terapia je antibiotická.

*Metodika:* Analýza súčasných poznatkov o nokardióze a retrospektívna analýza zdravotnej dokumentácie pacienta.

*Výsledky:* Opisujeme prípad 67r. pacienta s anamnézou systémového chronického zápalového ochorenia s intersticiálnou pľúcnou zložkou a renálnym postihnutím na liečbe kortikosteroidmi. Pacient bol akútne prijatý pre zápalový syndróm a zhoršené renálne parametre. HRCT hrudníka s nálezom kavitovaných nodulov v pľúcnom parenchýme, mediastinálnej LAP a cýst paraezofageálne. Na CT brucha prítomné cysty v m. psoas bilat. a v pravej obličke, paraaortálna LAP. Urobený odber biologického materiálu punkciou cysty pri m. psoas l.sin. Do liečby bol pridaný empiricky kotrimoxazol, flukonazol. Prednison postupne detrahoval. Vzorky punkčátu odoslané na histologické, kultivačné, parazitologické a serologické vyšetrenie, so záchytnom *Nocardia farcinica*. Pre rezistenciu na cotrimoxazol liečba cielene zmenená na meropenem. Pozorujeme postupnú úpravu zápalových parametrov, n-katabolity bez výraznej úpravy, KVP pri detrahovanej dávke Prednisonu zhoršený (1,075). Pacient následne odporúčaný špecializovanej nemocnici sv. Svorada v Zobore.

*Záver:* Prípad zdôrazňuje potrebu identifikovať rizikových pacientov a myslieť na atypické a zriedkavé infekčné agensy. Kľúčová je včasná identifikácia zápalových fokusov, neodďaľovanie odberu biologického materiálu, včasné zahájenie cielenej liečby a redukcia imunosupresív. Týmto minimalizujeme dobu trvania empirickej liečby, pacientov stav sa zlepší a zabránime aj vzniku rezistentných baktérií.

## P 04.

### Seasonal dynamics of antibiotic-resistant bacteria in surface waters of Central Slovakia

M. Hrušková (1), J. Koreneková (1), A. Tulipánová (2), Z. Imreová (2), T. Mackuľák (2), L. Bírošová (1), I. Bodík (2)

(1) Department of Nutrition and Food Quality Assessment, Institute of Food Science and Nutrition, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava

(2) Department of Environmental Engineering, Institute of Chemical and Environmental Engineering, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava

[monika.hruskova@stuba.sk](mailto:monika.hruskova@stuba.sk)

Aquatic ecosystems are one of key reservoirs and vectors for antimicrobial resistance, posing risks to human health and contributing to the spread of resistant bacteria. This study investigates the presence of total and antibiotic-resistant coliforms, *Escherichia coli*, and enterococci in surface waters of the Štiavnické vrchy region in central Slovakia.

Water samples were collected from five reservoirs in Štiavnické vrchy during summer and winter seasons of 2023–2024 ( $n = 10$ ). *E. coli* and coliforms were identified using ISO 9308 (2014), and enterococci via ISO 7899 (2000). Antibiotic resistance was assessed by supplementing agar media with selected antibiotics, following EUCAST guidelines (2023–2024). All tests were performed in triplicate, with results expressed as mean values. Statistical analysis was conducted using one-way ANOVA at a 95% confidence level.

Significant seasonal variation was observed in total number of *E. coli* in three samples, while coliforms and enterococci showed no notable differences between summer samples. When comparing the winter seasons 2023–2024, no differences were recorded, except in the case of total numbers of *E. coli*. Coliform bacteria exhibited the highest levels of antibiotic resistance, while *E. coli* showed the lowest, independent of sampling season. Coliforms were present in all samples (1.30–4.13 log CFU/100 mL), *E. coli* in 70% of samples (0.60–2.78 log CFU/100 mL), and enterococci in 80% (0.30–2.77 log CFU/100 mL). Resistance to ampicillin and gentamicin was most frequently detected in coliforms and *E. coli*, whereas vancomycin-resistant enterococci were identified in all reservoirs, predominantly in winter samples.

These findings underscore the necessity for ongoing surveillance of antimicrobial resistance in aquatic ecosystems, as the presence of resistant bacteria in surface waters represents a potential hazard to both public health and microbial biodiversity.

**Acknowledgements:** This work was created with the support of the projects: Agency for the Support of Research and Development APVV-22-0292 and APVV-19-0250; Operational Program Integrated Infrastructure for the project No. 313011ASS8, co-financed by the European Regional Development Fund.

## P 05.

### **Integrácia génov zodpovedných za produkciu kyseliny olivetolovej do genómu kvasinky *Candida utilis***

L. Lukáčová (1), Ľ. Švantner (1), J. Krahulec (1)

(1) Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, SK

Kanabinoidy považujeme za najštudovanejšiu skupinu zlúčenín izolovaných z rastliny *Cannabis sativa*. Objav tetrahydrokanabinolu a endokanabinoidného systému, otvorili otázky o terapeutickom využití kanabinoidov v medicíne, ako aj o ich biosyntéze v mikrobiálnych systémoch. Cieľom práce je integrácia génov zodpovedných za produkciu kyseliny olivetolovej (OL) do genómu kvasinky *Candida utilis*.

Pre syntézu OL sú nevyhnutné enzýmy tetraketid syntáza (TKS) a cykláza kyseliny olivetolovej (OAC). V predošlej práci sme navrhli optimalizované gény *CCsTKS* (obsiahnutý v plazmide pGC2) a *CCsOAC* (obsiahnutý v plazmide pGC3). Gény záujmu sú umiestnené pod kontrolou silného konštitučného promótora  $P_{GAP}$ . S cieľom integrácie plazmidu pGC2 do chromozómu kmeňa *C. utilis* – *CuP* (obsahujúci gén pre tvorbu prenyltransferázy) sme plazmid poštiepili enzýmom *RsrII* a následne transformovali do kompetentných buniek. Selekcia klonov prebiehala na YPD platniach so zeocínom. Správna integrácia do genómu bola potvrdená metódou PCR. Génová dóza a miera transkripcie génu boli stanovené metódou qPCR. Postup viedol k tvorbe nového kmeňa *C. utilis* – *CuPTZ*. Keďže kmeň *CuPTZ* obsahuje gén rezistencie na zeocín, pokračovali sme odstránením rezistencie, pričom došlo ku vzniku nového kmeňa *C. utilis* – *CuPT*, ktorý bol taktiež analyzovaný prostredníctvom qPCR metódy. V práci sme následne pokračovali integráciou plazmidu pGC3 do chromozómu kvasinky *C. utilis* – *CuPT*. Proces integrácie prebiehal za rovnakých podmienok, ako v prípade plazmidu pGC2. Výsledkom procesu bola tvorba nového kmeňa *C. utilis* – *CuPTCZ*, ktorý nesie esenciálne gény biosyntetickej dráhy vedúcej k tvorbe OL.

V našej práci sme úspešne vytvorili kmeň *C. utilis* s integrovanými génmi potrebnými pre syntézu kyseliny olivetolovej (OL). Keďže tieto kmene zároveň nesú gén pre prenyltransferázu, výsledný kmeň *CuPTCZ* je schopný produkovať nielen OL, ale aj hlavný prekursor kanabinoidov – kyselinu kanabigerolovú (CBGA). Vytvorené kmene budú následne podrobené funkčnej, ako aj proteínovej analýze.

## **P 06.**

### **Protocol for the generation of 3D cancer cell models and *in vitro* study of influenza virus infection**

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

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

This study aimed to develop 3D spheroid models from lung cancer cell lines. 3D models better mimic the tumor microenvironment, allowing more accurate evaluation of viral replication and structural changes, compared to 2D cultures. Additionally, tumor spheroids are used to evaluate drug efficacy and resistance in a more realistic tumor environment. Influenza viruses are respiratory pathogens. Their high mutation rate and ability to cross species barriers drive seasonal epidemics and pandemics. Strains A/H1N1 and A/H3N2 are currently the main causes of outbreaks, posing a serious risk to immunocompromised individuals, including cancer patients.

Spheroids were generated from tumor (SHP-77, A549) and non-tumor (MRC-5) primary lung cell lines at various concentrations, with Vero E6 cells (non-lung origin) as a control. Two methods were applied for spheroid formation: (a) the liquid overlay method using U-bottom microplates, and (b) the hanging drop method. To assess how these 3D models mimic organ-specific intracellular signaling, we infected spheroids with influenza viruses A/Puerto Rico/8/1934/H1N1 or A/Mississippi/1/85/H3N2. Then, spheroids were incubated under optimal normoxic conditions. In parallel, 2D models were prepared for comparative analysis. Uninfected 3D and 2D cultures served as negative controls. Finally, viral titers were determined by plaque assay.

We observed that the most suitable cell concentration for spheroids was  $2 \times 10^4$  cells/well and that spheroids were permissive to influenza infection. Visible changes were detected at a viral dilution ranging from  $10^0$  to  $10^3$ , including necrosis at 24 hours, accompanied by morphological changes such as cell rounding post-infection. Overall, we found that spheroids prepared using the hanging drop method were not suitable for further experimentation – the cells did not form typical spheroid structures, remained in loose clusters, and began detaching by day 4. Morphological changes in spheroid integrity, including necrosis and spheroid disintegration, demonstrated the permissiveness of 3D models to IAV.

The project was supported by the Slovak Research and Development Agency (APVV-23-0288, APVV-24-0351) and by the Scientific Grant Agency of the Slovak Republic (VEGA-02/0026/22).

## P 07.

### Vliv koevolučního fágového tréninku v přítomnosti antibiotik na fenotyp a genotyp kmenů *Staphylococcus aureus*

J. Novotná (1), E. Kučerová (1), T. Botka (1)

(1) Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno, CZ

Šíření multirezistentních kmenů bakteriálních patogenů má negativní vliv na průběh a léčbu onemocnění, jež způsobují. Důležitým aspektem při řešení tohoto problému je nejen pochopení mechanismů vzniku rezistence, ale zejména nalezení komplementárních nebo alternativních léčebných postupů ke standardně využívaným antibiotikům. Tím je tzv. fágová terapie využívající bakteriálních virů (bakteriofágů), případně jejich kombinaci s antibiotiky. Její výhodou je schopnost fágů adaptovat se a infikovat dříve rezistentní kmeny, čehož lze dosáhnout cíleně a efektivně v laboratorním prostředí prostřednictvím adaptivní laboratorní evoluce (ALE), tzv. fágového tréninku. V rámci prezentované práce byla ALE využita pro koevoluční fágový trénink, kdy dochází k evoluční adaptaci stafylokokového lytického fága rodu *Kayvirus* i bakteriálního kmene současně, za přítomnosti i nepřítomnosti antibiotika amoxicilin (AML). Cílem experimentu bylo vyhodnotit, jak selekční tlak vybraných fágů, AML nebo kombinace fágů a AML ovlivňuje evoluční trajektorii klinického kmene *Staphylococcus aureus* v laboratorních podmínkách. ALE byla provedena s využitím 10 pasáží a získané varianty klinického kmene byly následně charakterizovány s využitím antibiotického diskového difuzního testu, spektrofotometrie a sekvenování kompletního genomu na platformě Oxford Nanopore. U variant vystavených antibiotiku byl zaznamenán zvýšený výskyt antibiotické rezistence. Zároveň došlo k rozvoji nebo naopak ztrátě rezistence k použitým fágům. Výsledky také ukázaly, že kombinace fágů a AML nevedla k signifikantně odlišnému rozvoji rezistence oproti působení AML samotného.

Tato práce byla podpořena projektem Národního institutu virologie a bakteriologie (program EXCELES, ID projektu č. LX22NPO5103) financovaným Evropskou unií – Next Generation EU, a dále grantem z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU21J-05-00035.

## **P 08.**

### **Fágový trénink a izolace spontánních mutant jako cesta ke zvýšení účinnosti terapeutických fágů proti klinickým kmenům *Staphylococcus aureus***

V. Okonová (1), E. Kučerová (1), T. Botka (1)

(1) Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ

Chronické infekce způsobené *Staphylococcus aureus* představují závažný problém, neboť infikující bakteriální buňky vykazují sníženou metabolickou aktivitu, a tím i nízkou citlivost k antibiotikům a fágům. Cílem práce bylo získat fágy schopné efektivně infikovat a lyzovat bakterie ve stacionární fázi. K tomu byla využita izolace spontánních fágových mutant a fágový trénink.

Izolací plaky spontánní mutanty fága 812 na rezistentním kmeni *S. aureus* 11/608 byl získán fág 812vo a jeho aktivita byla testována na exponenciálních a stacionárních kulturách. Byla stanovena sekvence jeho genomu, který byl srovnán s parentálním fágem. Genomová analýza fága 812vo odhalila přítomnost několika mutací v genech kódujících hypotetické proteiny. Fág 812vo vykázal v exponenciální fázi vyšší lytickou aktivitu než původní fág a dokázal účinně infikovat původně rezistentní kmen. Navíc byl schopen lyzovat i buňky ve stacionární fázi.

Fág P68 byl podroben desetidennímu tréninku na stacionárních kulturách kmene *S. aureus* 11/608 ve třech různých kultivačních médiích, poté následovalo testování lytické aktivity při infekci exponenciálních i stacionárních kultur. Trénovaný fág P68 vykazoval odlišnou lytickou aktivitu v závislosti na použitém kultivačním médiu. V některých případech se projevilo zlepšení účinnosti při infekci stacionárních kultur.

Výsledky ukazují, že adaptace a fágový trénink mohou zvýšit účinnost fágů vůči populacím *S. aureus* v různých fyziologických stavech a představují slibnou cestu k rozšíření možností fágové terapie chronických infekcí.

Tato práce byla podpořena projektem Národního institutu virologie a bakteriologie (program EXCELES, ID projektu č. LX22NPO5103) financovaným Evropskou unií – Next Generation EU, a dále grantem z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU21J-05-00035.

**P 09.**

**A compact Raman spectroscopy-based device for rapid identification and characterization of pathogens directly from human body fluids**

K. Rebrošová (1), M. Šerý (2), L. Silhan (2), J. Ježek (2), O. Samek (2), V. Holá (1), F. Růžicka (1)

(1) Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Masaryk University & St. Anne's University Hospital, Brno, CZ

(2) Institute of Scientific Instruments of the Czech Academy of Sciences, Brno, CZ

Rapid and accurate identification of pathogens is one of the biggest challenges in medicine. Timely identification of causative agents and their antimicrobial resistance profile can significantly improve the management of infection, lower costs for healthcare, mitigate ever-growing antimicrobial resistance and, in many cases, save lives.

Raman spectrometry is a physical method with a broad spectrum of applications – it is suitable for identifying substances, their structure, and composition by “mirroring” chemical bonds present in a sample. In the last few years, it is also being used to identify and describe biological systems ranging from biomolecules to whole cells and organisms. Moreover, it allows single-cell analyses when combined with other methods, e.g. optical tweezers. Optical tweezers use a tightly focused laser beam, which creates an optical trap, where an object can be held.

We have prepared a compact device consisting of a microfluidic chip and optical tweezers systems, which can be added to a commercial Raman spectrometer to quickly, non-invasively, and non-destructively detect and further characterize microbes and their resistance/sensitivity to antimicrobial agents directly from human body fluids. We have a functioning system and are fine-tuning the optical tweezers part to reach the quality of Raman fingerprints sufficient for identifying pathogens.

The work was supported by grants AZV NU21-05-00341 (Czech Health Research Council), SQ01010185 (TACR), MUNI/A/1784/2024, MUNI/11/ACC/1/2022, and MUNI/LF-ACC/1316/2023 (Grant Agency of Masaryk University).

## P 10.

### Transplacentární přenos *Mycoplasma pneumoniae*, kazuistika

J. Štanclová (1), R. Kukla (1), R. Bolehovská (1), L. Ryšková (1), J. Stráník (2)

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

(2) Porodnická a gynekologická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové, CZ

*Mycoplasma pneumoniae* patří mezi hlavní původce respiračních onemocnění zejména u dětí školního věku a mladých dospělých do 30 let v několikaletých cyklech. Mykoplasmové respirační infekce probíhají většinou pod obrazem tracheobronchitidy nebo faryngitidy, příznaky onemocnění ale přetrvávají déle narozdíl od jiných respiračních infekcí. Pneumonie se vyskytuje u 3 – 30 % nemocných obvykle bez alterace celkového stavu, těžký průběh bývá u chronicky nemocných jedinců. Velká část onemocnění však probíhá mírně nebo asymptomaticky. Přenos *Mycoplasma pneumoniae* z matky na dítě během těhotenství je tak celosvětově velmi raritní.

19letá žena byla přijata na Porodnické a gynekologické klinice pro předčasný odtok plodové vody. Po hospitalizaci byla provedena amniocentéza, a vzhledem k intra-amniálnímu zánětu (IL-6 v plodové vodě 11111 pg/ml) a zvýšenému CRP (54,0 mg/l) byla zahájena antibiotická terapie (klaritromycin + ampicillin/sulbactam). Plodová voda byla odeslána na kultivační a molekulárně-biologické vyšetření pro průkaz bakteriální DNA a panelu urogenitálních bakterií (*Ureaplasma* spp., *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* a *Mycoplasma genitalium*).

Kultivační vyšetření a PCR urogenitálního panelu byly negativní. V případě průkazu bakteriální DNA však byla prokázána silná pozitivita a sekvenační analýzou byla identifikována DNA *Mycoplasma pneumoniae* s 99% pravděpodobností identifikace. Nález byl potvrzen cílenou real-time PCR reakcí. I přes nález *M. pneumoniae* 4,5 dne před porodem proběhl samotný porod bez komplikací.

Předčasně narozený novorozenec s velmi nízkou porodní hmotností byl po porodu vitální. Postnatálně se u něho rozvinul syndrom dechové tísně vyžadující dechovou podporu. Vzhledem k intra-amniálnímu zánětu matky byla podána antibiotika, k rozvoji infekce u novorozence však nedošlo. Při poslední kontrole v dětské rizikové poradně psychomotorický vývoj dítěte odpovídal jeho korigovanému věku. Detekce výše uvedeného velmi vzácného nálezu *M. pneumoniae* v plodové vodě byla umožněna sekvenační analýzou bakteriální DNA. Do budoucnosti je tak nutné počítat i s touto bakterií v problematice intra-amniálních infekcí, hlavně v době epidemie.

## **P 11.**

### **Štúdium sekrécie cieľových génov a metabolizmu maltózy v produkčnom systéme kvasinky *Candida utilis***

L. Švantner (1), L. Lukáčová (1), J. Krahulec (1)

(1) Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, SK

Kvasinky sú významné eukaryotické mikroorganizmy, ktoré sa využívajú v potravinárskom, farmaceutickom aj biotechnologickom priemysle. Ich schopnosť uskutočňovať posttranslačné modifikácie, genetická stabilita, rýchly rast a jednoduchá kultivácia ich predurčujú na využitie v expresných systémoch. Medzi nekonvenčné, no čoraz významnejšie druhy patrí kvasinka *Candida utilis*, ktorá sa vyznačuje efektívnou sekréciou, metabolickou flexibilitou a bezpečnosťou (GRAS).

Cieľom tejto práce je vytvoriť efektívny expresný systém na báze *C. utilis*, ktorý by bol vhodný na produkciu rekombinantných proteínov. V prvej časti práce sme sa zamerali na ukotvenie ľahkého reťazca ľudskej enterokinázy (hEKL) do lumenu Golgiho aparátu pre lepšie procesovanie sekretovaného proteínu. Do chromozómu *C. utilis* boli úspešne integrované plazmidy pXE10 a pXE20, čím sa podarilo získať päť klonov s potvrdenou integráciou a zachytenou enterokinázovou aktivitou.

Druhá časť práce sa zameriava na štúdium metabolizmu maltózy s cieľom vytvoriť silný inducibilný maltázový promótor so zníženou katabolickou represiou glukózou a zachovanou citlivosťou na maltózu. V kmeni nulovom pre maltázu sme uskutočnili deléciu MAL aktivátora pomocou plazmidu p $\Delta$ Akt, čím sme získali nulového mutanta pre maltázu aj aktivátor (Cu $\Delta$ AM). Ďalším krokom je testovanie vplyvu génovej dózy MAL aktivátora na expresiu z maltázových promótorov pML9 a pML11 vrátane variantov s mutovanými MIG väzbovými miestami.

Výsledky tejto práce tvoria základ pre vývoj efektívneho expresného systému *C. utilis* so zlepšenou sekréciou a regulovaným metabolizmom maltózy, čo zvyšuje jej biotechnologický potenciál.

Táto práca bola podporená projektmi APVV-21-0076 a APVV-23-0576.

## **P 12.**

### **Lemierrov syndróm – zriedkavá komplikácia ako súčasť komplexného klinického obrazu – kazuistika**

B. Tóth (1), F. Ujfalusi (2), M. Tedla (1)

(1) Klinika otorinolaryngológie a chirurgie hlavy a krku LF UK a UNB, SK

(2) Klinika infektológie a geografickej medicíny LF UK a UNB, SK

*Úvod:* Lemierrov syndróm predstavuje infekčnú tromboflebitídu vena jugularis interna. Vzniká ako komplikácia zápalu v ORL oblasti premnožením anaeróbných kmeňov komenzálu. Pacienta okrem septických horúčok ohrozuje na živote aj embolizácia uvoľnenými fragmentmi trombu. Ochorenie paradoxne postihuje mladších, zdravých jedincov.

*Metodika:* 47-ročný pacient bol preložený z V. internej kliniky LF UK a UNB pre hlbokú krčnú infekciu a trombózu ľavej vena jugularis interna po neúspešnej antibiotickej liečbe. Vykonala sa drenáž, po ktorej sa stav pacienta zlepšil a 4 dni po výkone bol prepustený. Pre opätovné horúčky pacient po dvoch týždňoch bol znova prijatý na ORL kliniku, kde pretrvával stav so septickými teplotami. Po resekcii postihnutého úseku jugulárnej vény ho následne prevzala Klinika infektológie a geografickej medicíny LF UK a UNB pre ďalšiu diagnostiku. Ku dňu 10.09. diagnostický proces febrilit stále prebieha.

*Výsledky:* Počas viacmesačnej hospitalizácie pacienta sa vykonali početné mikrobiologické vyšetrenia, ale väčšina z nich nedospela k pozitívnemu záveru. V evakuovanom obsahu sa dokázala prítomnosť *Cutibacterium acnes*, zo steru z orofaryngu sa vykultivoval multirezistentný kmeň *Klebsiella pneumoniae*. Rozšírená diagnostika na klinike infektológie nepotvrdila prítomnosť žiadneho patogénu. Punktát z pretrvávajúceho opuchu kolena, dovtedy opisovaného ako úraz, uzavreli ako exsudát bez mikrobiálnej zložky.

*Diskusia:* Lemierrov syndróm bude pravdepodobne len jeden z väčšieho súboru diagnóz. V literatúrach sa uvádza *Fusobacterium necrophorum* ako špecifický kauzatívny agens ochorenia, výskyt *Cutibacterium acnes* je skôr považovaný za kontamináciu. Jednorazový záchyt multirezistentného kmeňa *Klebsiella pneumoniae* v orofaryngu nevysvetľuje septické horúčky, ktoré pretrvávajú aj po odstránení potenciálneho fokusu a silnej antibiotickej terapii. Sterilná tekutinová kolekcia v kolene naznačuje reumatickú zložku klinického obrazu.

*Záver:* Aj negatívne výsledky mikrobiologickej diagnostiky sú smerodajným bodom v manažmente pacienta. Presná etiológia sepsu imitujúcich horúčok u pacienta nie je doteraz známa, podľa momentálne dostupných výsledkov sa berie do úvahy popri infekčnej etiológii aj paralelne bežiaci autoimunitný resp. reumatický proces.

### P 13.

#### **Mikrobiální diverzita a antimikrobiální rezistence u stafylokoků, streptokoků a enterokoků izolovaných z chronických ran pacientů**

N. Witkovská (1), S. Kočiová (1), D. Kuropata (1), S. Vaculčíaková (1), R. Veselý (2,3), R. Zukal (2,3), T. Do (1), K. Číhalová (1), K. Šmerková (1)

(1) Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Brno, CZ

(2) Úrazová nemocnice v Brně, Brno, CZ

(3) Klinika úrazové chirurgie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno, CZ

Korespondující autor: H. Nejezchlebová, helanej@sci.muni.cz

Antibiotická rezistence je závažný celosvětový problém, který omezuje účinnost antibakteriální terapie. Poranění kůže a měkkých tkání jsou zvláště náchylná k infekcím způsobeným rezistentními bakteriálními kmeny, což může vést k selhání léčby, rozvoji sepse a zvýšené mortalitě. Účinná terapie proto vyžaduje přesnou identifikaci původců infekce a stanovení jejich profilů rezistence. Ze 91 vzorků chronických ran pacientů bylo získáno 219 bakteriálních izolátů, které byly identifikovány pomocí MALDI-TOF MS, případně byla identita ověřena sekvenací genu 16S rRNA. Analýza rezistence byla zaměřena na tři nejčastější grampozitivní druhy. Antibiotická rezistence byla stanovena metodou minimální inhibiční koncentrace (MIC) a následně byla zjišťována přítomnost vybraných genů rezistence pomocí PCR. Nejčastěji byly izolovány stafylokoky, především *Staphylococcus aureus* (n = 65) a *Staphylococcus epidermidis* (n = 16), následované rody *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Proteus* a *Pseudomonas*. U stafylokoků byla zjištěna vysoká rezistence k penicilinu (71,2 %), erytromycinu (33,3 %) a klindamycinu (24,1 %). Multirezistence (MDR) byla prokázána u 16 izolátů *S. aureus* a 10 izolátů *S. epidermidis*. Nejčastěji detekovaným genem rezistence byl *blaZ*. U streptokoků dominovaly *Streptococcus pyogenes* (n = 14) a *Streptococcus agalactiae* (n = 12), které vykazovaly vysokou rezistenci hlavně vůči ciprofloxacinu (71 %). Multirezistence byla obzvláště častá u *S. agalactiae* (n = 8). K nejvíce zastoupeným rezistenčním genům patřil *intTn*. Z enterokoků převažoval *Enterococcus faecalis* (n = 15), u něhož byla zjištěna vysoká rezistence k erytromycinu (94,1 %). Multirezistence byla přítomna u 14 izolátů. Nejčastěji byl identifikován gen *ermB*. V chronických ranách se nachází rozmanité spektrum bakterií vykazujících rezistenci vůči více třídám antibiotik, přičemž významný podíl představují multirezistentní kmeny. Tyto výsledky zdůrazňují nutnost cílené diagnostiky a terapie ke zlepšení léčebných výsledků.

## P 14.

### Štúdium *ter* génov z fága vKMB37 infikujúceho *Escherichia coli*

K. Zemanová (1), L. Juhásiková (1), B. Markusková (1), H. Drahovská (1)

(1) Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, SK

Teluričitanový operón (*ter*) bol pôvodne identifikovaný na plazmidoch gramnegatívnych baktérií, pričom primárne kóduje rezistenciu na toxické zlúčeniny telúru. Zohráva kľúčovú úlohu aj v ochrane pred kolicínmi, virulenciou, inhibíciou fágovej infekcie a prežívaní počas fagocytózy. Operón pozostáva z génov *terZABCDEF*. Gén *terC*, vykazuje evolučnú konzervovanosť u viacerých druhov patogénnych baktérií vrátane *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Yersinia pestis* či *Klebsiella pneumoniae*. Lytický bakteriofág vKMB37 (rod *Justusliebigvirus*, podčeľaď *Stephanstirmvirinae*) je schopný infekcie kmeňov *E. coli*, primárne fylogenetických skupín B1, B2 a D. V genóme fága bol identifikovaný klaster *ter* génov (*terCDF*) homologických k *ter* génom UPEC *E. coli*. Ich funkcia pre životný cyklus fága ostáva neznáma.

Cieľom práce preto bolo štúdium *ter* operónu z bakteriofága vKMB37.

V prvej časti práce sme pomocou bioinformatických metód porovnali *ter* gény fága vKMB37 (*terC* až *terD*; 6570 bp). Zistili sme, že *ter* gény sú konzervované u príbuzných fágov. Pri porovnaní štyroch fágov z rodov *Justusliebigvirus* (vKMB37, phi92), *Phaphecovirus* (phAPEC8) a *Vequintavirus* (rV5) bola zistená vysoká podobnosť *ter* oblasti vKMB37 s príbuzným fágom phi92, nižšia u fága phAPEC8 a u príbuzného rodu *Vequintavirus* tieto gény neboli prítomné. Konzervované boli predovšetkým gény *tox* (proteín rezistencie voči toxickým aniónom) a *terC*, kódujúci integrálny membránový proteín TerC. Komparácia potvrdila vysokú mieru konzervovanosti väčších proteínov, pričom u fága phAPEC8 chýbala homologická zhoda pri niektorých menších génoch.

V druhej časti práce sme pripravili sériu delečných mutantov fága vKMB37 pomocou CRISPR-Cas plazmidu so spacermi cielenými na oblasť *ter* génov. Oblasť delécie mutantov bola namapovaná pomocou multiplex PCR a NextGen sekvenovaním. Fágové mutanty obsahovali delécie s veľkosťou od niekoľko báz až po 15 kbp. Pri analýze rastových parametrov vybraných mutantov nebol zistený vplyv delécie na rast fágov v štandardných podmienkach.

Práca bola podporená projektom APVV-23-0140.

### Seznam prvních autorů:

| <b>První autor</b>  | <b>Číslo stránky</b> |
|---------------------|----------------------|
| Bačinská            | 11                   |
| Benko               | 36                   |
| Černá               | 29                   |
| Dvořáčková          | 19                   |
| Dvořáková Heroldová | 21                   |
| Dynex               | 20                   |
| Fenclová            | 30                   |
| Füssy               | 37                   |
| Haver               | 38                   |
| Hrušková            | 39                   |
| Chumchalová         | 18                   |
| Komárková           | 16                   |
| Koreneková          | 33                   |
| Kroneislová         | 8                    |
| Kutinová            | 23                   |
| Lipový              | 12                   |
| Lukáčová            | 40                   |
| Mladá               | 41                   |
| Nebus               | 28                   |
| Novotná             | 42                   |
| Okonová             | 43                   |

| <b>První autor</b> | <b>Číslo stránky</b> |
|--------------------|----------------------|
| Ondrouch           | 24                   |
| Pechová            | 27                   |
| Procházka          | 35                   |
| Rebrošová          | 44                   |
| Sadilová           | 32                   |
| Sirůčková          | 15                   |
| Siváková           | 17                   |
| Sošková            | 22                   |
| Studená            | 10                   |
| Štanclová          | 45                   |
| Štindlová          | 34                   |
| Švagerová          | 14                   |
| Švantner           | 46                   |
| Tejkalová          | 9                    |
| Tóth               | 47                   |
| Urbanová           | 13                   |
| Vacek              | 26                   |
| Vitulová           | 31                   |
| Volný              | 25                   |
| Witkovská          | 48                   |
| Zemanová           | 49                   |

**Tomáškovy dny 2025**  
**XXXIV. konference mladých mikrobiologů**

Mgr. Lukáš Vacek, Ph.D. (ed.)  
Mgr. Frederik Volný (ed.)

Vydala Masarykova univerzita,  
Žerotínovo nám. 617/9, 601 77 Brno  
1., elektronické vydání, 2025  
ISBN 978-80-280-0776-8

MUNI  
PRESS

MUNI  
MED

FAKULTNÍ  
NEMOCNICE  
U SV. ANNY  
V BRNĚ

