

SBORNÍK ABSTRAKTŮ

Antibiotická rezistence v ČR

jak společně zastavit nezastavitelné

14. a 15. listopadu 2024
Hotel DUO, Praha

Konference Antibiotická rezistence v ČR: jak společně zastavit nezastavitelné se koná pod záštitou ministra pro vědu, výzkum a inovace Marka Ženíška, ministra zdravotnictví Vlastimila Válka, ministra zemědělství Marka Výborného a ministra životního prostředí Petra Hladíka.



MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ
ČESKÉ REPUBLIKY



MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ

Ministerstvo životního prostředí

Úvodní slovo

(Praha, 14. a 15. 11. 2024)

Jsem rád, že jako ministr zemědělství mohu za svůj resort potvrdit, že se otázkou antibiotické politiky zabýváme velmi odpovědně, systematicky a dlouhodobě a zajišťujeme i odpovídající institucionální zázemí. Z pohledu Ministerstva zemědělství byla otázka tlumení rizik spojených s používáním antibiotik chápána vždy v kontextu „Jedno zdraví“, neboť vzájemné a často velmi úzké vztahy člověka, zvířat, zemědělské krajiny a životního prostředí jsou základem odpovědného přístupu k zemědělství.

Jak známo, používání antibiotik přispělo zásadním způsobem k rozvoji moderní medicíny. Hrají důležitou roli v prevenci případných bakteriálních komplikací u řady chirurgických výkonů, jsou nezbytná v oborech, kde infekce může mít fatální důsledky. Kromě benefitů je ale jejich používání příčinou vzniku antibiotické rezistence. Podle Evropské komise a Světové zdravotnické organizace je hrozba této rezistence jednou ze tří největších zdravotních hrozeb. Infekce vyvolané rezistentními bakteriemi jsou hůře léčitelné, je tedy třeba použití alternativních antibiotik, která mohou být toxická a jejich volba také nákladnější.

Podle Evropského centra zemře ročně v Evropě na následky antibiotické rezistence přes 35 000 lidí. Infekce způsobené rezistentními bakteriemi stojí ročně zdravotní systémy EU 1,1 miliardy eur. Přesto je šance nepříznivou situaci zlepšit. Řešením je přistupovat k problematice v duchu „One Health“. Tento způsob boje s antimikrobiální rezistencí představuje integrovaný a sjednocující přístup usilující o udržitelnou rovnováhu a optimalizaci zdraví lidí, zvířat a ekosystémů. Uznává, že zdraví lidí, domácích i divokých zvířat, rostlin a širšího prostředí jsou úzce propojené a vzájemně závislé. Nutno dodat, že nepříznivou situaci komplikuje stagnující vývoj nových antibiotik, bakteriální infekce tak mohou znovu být příčinou úmrtí.

Pro české zemědělství, a hlavně chovatele hospodářských zvířat to znamená věnovat se problematice zdraví zvířat a chovů a jejich ekonomické rentabilitě, která je klíčovou součástí pro zajištění bezpečnosti potravinového řetězce a dostupnosti potravin pro populaci. Prevence onemocnění hospodářských zvířat je jedním z předpokladů zajištění dobrého zdravotního stavu a užitkovosti ustájených zvířat i dosažení ekonomické rentability chovů. Rozvoj antibiotické rezistence v chovech hospodářských zvířat lze významně ovlivnit zavedením, a hlavně důsledným dodržováním zásad správné chovatelské praxe, welfare, principů biologické bezpečnosti a důkladné péče o zvířata. Zavedení preventivních programů v podobě vakcinací zvířat je základem pro další udržení dobrého zdravotního stavu a pohody chovaných zvířat.

Evropská komise proto požaduje, aby měla každá země Strategii obsahující a plnící Evropský akční plán Jednoho zdraví proti antimikrobiální rezistenci. My jsme měli Akční plán Národního

antibiotického programu ČR 2019–2022. Nyní se chystá Strategie Národního antibiotického programu ČR 2024–2030 našeho resortu s resorty zdravotnictví a životního prostředí.

Ministerstvo zemědělství se do řešení antibiotické politiky zapojilo od počátku jejího formování. Například od roku 2003 u nás začal pravidelný sběr dat o spotřebě veterinárních léčivých přípravků, tedy včetně antimikrobik. Na základě všech plánů a zkušeností s přípravou a následnou realizací se nyní připravuje zmíněná Strategie, která bude aktuálně zahrnovat čtyři základní cíle v boji s antimikrobiální rezistencí. A to zachovat účinné postupy léčby infekčních onemocnění u lidí a zvířat, zlepšit informovanost o stavu antibiotické rezistence, sledovat spotřeby antibiotik, prevence antibiotické rezistence a podpora vědy a výzkumu.

Dobrou zprávou je, že spotřeba antimikrobik vztažená k populaci hospodářských zvířat chovaných v ČR za posledních 5 let klesla o 26 %. Znamená to zlepšení českých chovů a nadále pokračující trend odpovědného chování veterinárních lékařů a chovatelů při produkci potravin živočišného původu. Stále je však prostor na zlepšení. V českém zemědělství je snaha naplnit kvantitativní a kvalitativní cíle. Kromě jiného je to snížení celkové spotřeby antimikrobik u zvířat alespoň o další 12,5 %. Zkrátka opatření k tlumení rizik souvisejících s používáním antimikrobik jsou nedílnou součástí politiky a strategie našeho ministerstva.

Marek Výborný
ministr zemědělství



Hlavní partneři



Mediální partneři



Partneři



Vystavovatelé



ABSTRAKTY PŘEDNÁŠEK

(řazeny abecedně dle jména hlavního autora)

Projekt EU-WISH a další mezinárodní iniciativy v oblasti surveillance odpadních vod

prof. Ing. Jan Bartáček, Ph.D.

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

S moderními metodami stopové chemické analýzy a se zpřístupněním molekulárních metod pro běžnou laboratorní praxi se městské odpadní vody staly extrémně bohatým zdrojem informací pro epidemiologii v mnoha různých oblastech. Jejich analýzu lze využít např. pro monitoring zneužívání nelegálních drog, užívání antibiotik, šíření bakterií rezistentních vůči antibiotikům (ARB) nebo šíření mnoha lidských patogenů.

Přestože termín „Wastewater-Based Epidemiology“ (WBE) se používá minimálně již od roku 2014, teprve pandemie COVID-19 jasně ukázala, jak mocným nástrojem může WBE být. Od roku 2020 byly publikovány tisíce vědeckých článků na téma sledování výskytu viru SARS-CoV-2 v odpadních vodách, WBE však lze využít i pro jiná onemocnění, jako je dětská obrna nebo opičí neštovice a sledování odpadních vod se již stává součástí národních protiepidemických systémů.

Jak ukazují mnohé studie, WBE lze na různých úrovních použít ke sledování zdrojů epidemií, sledování šíření nových variant virů nebo k vysvětlení celkového vývoje epidemií. Potenciál WBE si již uvědomuje i řada mezinárodních organizací a např. Evropská unie v revidované směrnici o čištění městských odpadních vod (Směrnice 91/271/EHS) požaduje, aby všechny členské státy zavedly program sledování odpadních vod z hlediska výskytu antibioticky rezistentních organismů a tzv. „emerging pathogens“.

Tento příspěvek si klade za cíl poskytnout komplexní pohled na možnosti, které WBE nabízí ve všech relevantních oblastech. Ukáže současný stav v oblasti WBE a zhodnotí nejvýznamnější mezinárodní iniciativy, které celosvětově propagují používání WBE pro ochranu veřejného zdraví. Významná pozornost bude věnována projektu EU-WISH, který zahrnuje 62 institucí ze 26 evropských zemí a kterýž má za cíl harmonizovat systémy WBE na úrovni jednotlivých členských států a vytvořit celoevropský systém monitoringu a zveřejňování dat.

Klíčové trendy pro boj s AMR

MUDr. Tomáš Borán

SÚKL, Šrobárova 48, Praha

Přednáška představí posluchačům klíčové trendy pro boj s AMR, ke kterým patří vývoj v následujících oblastech: bakteriofágy, terapie modulující mikrobiom, antivirulenní přístupy, antimikrobiální peptidy (AMP), imunomodulační přístupy a vakcíny.

Potenciál fágů při řešení problematiky antibiotické rezistence v environmentálním prostředí

Josef Boštík

Juraj Vronka¹ a Ladislava Matějů²

¹AUMED, a.s., Praha, CEO; ²Státní zdravotní ústav, Laboratoře hygieny půdy a odpadů

Vedle medicínské sféry významně přispělo k celosvětově rostoucí krizi antibiotické rezistence také nadužívání antibiotik v činnostech souvisejících s chovem zvířat a navazující veterinární péčí. Z těchto a jiných sektorů, které antibiotika využívají, se problematika rezistencí k antibiotikům a narůstající rezidua antibiotik logicky odráží v navazujícím řetězci, kterým je široká oblast životního prostředí. Jedna z nadějí, jak tento proces zpomalit je vkládána do využití bakteriofágů. Vedle jejich terapeutického antibakteriálního uplatnění je možné bakteriofágy použít také na snížení selekčního tlaku, který pohání evoluci a šíření rezistence v environmentálních bakteriálních populacích. V komerčních výzkumných tématech narůstá snaha využít bakteriofágy jednak k cílené likvidaci rezistentních bakterií v širokém spektru odpadového hospodářství, k dekontaminaci prostředí, kde převládají bakterie odolné vůči antibiotikům nebo ke zpomalení extrémně rychlého šíření rezistenčních genů, které souvisí s vysokou koncentrací antibiotik v životním prostředí i do patogenních kmenů. Fágy mají svůj potenciál využití také v systémech monitorování životního prostředí, k detekci a kvantifikaci bakterií odolných vůči antibiotikům v různých environmentálních vzorcích. Širší použití bakteriofágů, nejen jako doplňující alternativy k antibiotikům v praktických aplikacích, by mohlo pomoci snížit množství rezistentních reziduí, vstupujících do životního prostředí.

Současné aktivity EU a WHO v oblasti antimikrobiální resistance

MUDr. Pavel Březovský, MBA

SZÚ, Šrobárova 49/48, Praha 10, ČR

Zvýšená aktivita v oblasti antimikrobiální resistance (AMR) v EU se datuje od roku 2010, akcelpace snažení o zvládnutí negativních důsledků AMR probíhá zejména po ukončení pandemie SARS CoV-2. Ve sdělení budou publikovány globální aktivity přesahující zdravotnický sektor, reprezentovaný WHO a navazujícími aktivitami EU. Zvyšování resistance bakterií představuje pro globální finanční systém systémové riziko, proto se do snahy o snižování antibiotické resistance zapojují i globální ekonomičtí hráči.

Zkušenosti s využitím bakteriofágů v klinické praxi

Ing. Milan Buňata

MB Pharma s.r.o.

Antibiotická rezistence je zásadní hrozbou pro veřejné zdraví a posiluje zájem o bakteriofágovou terapii jako inovativní alternativu k antibiotikům. Bakteriofágy, viry specificky napadající bakterie, vykazují značný potenciál při léčbě infekcí způsobených multirezistentními patogeny. Pro jejich úspěšné zavedení do klinické praxe je klíčové zvládnutí komplexních farmaceutických požadavků, zahrnujících výrobu, kontrolu kvality, zajištění jakosti a dodržení regulativních standardů.

Výroba bakteriofágových preparátů vyžaduje precizní postupy, které zajistí stabilitu, čistotu a účinnost produktů. Důležitou součástí je kontrola kvality, která zahrnuje detailní analýzy čistoty, koncentrace a aktivity bakteriofágů proti cílovým bakteriálním kmenům. Zajištění jakosti (QA) je dále nutné pro konzistenci a bezpečnost produktů při opakované výrobě.

Regulativní rámec pro bakteriofágovou terapii se liší podle jurisdikce. V České republice, Evropské unii i dalších zemích podléhají bakteriofágové přípravky specifickým požadavkům, které zajišťují jejich bezpečnost a účinnost. Harmonizované standardy v EU se již začínají vytvářet, což usnadní širší implementaci této inovativní terapie v klinické praxi.

Oxid zinečnatý vs. nanočástice: Dopad na antimikrobiální rezistenci a patogenezi

Kristýna Číhalová¹, Denisa Fenclová¹, Martina Coufalová¹, Martin Řiháček¹, Luděk Žůrek¹

¹Ústav chemie a biochemie, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00, Brno

Zinek v podobě oxidu zinečnatého (ZnO) je rozsáhle využíván v zemědělství jak v rostlinné, tak i živočišné produkci. V rostlinné výrobě je ZnO aplikován jako součást hnojiv k obohacení půdy. V živočišné výrobě je ZnO přidáván do krmiv pro hospodářská zvířata. Selatům po odstavu byly podávány vysoké dávky ZnO (2000-3000 ppm) se stejným účelem jako u dříve používaných antibiotik. Kvůli následnému silnému znečištění životního prostředí zinkem je od června 2022 maximální povolená hladina zinku v krmivech stanovena na 150 ppm. Zinku jsou tak vystaveny střevní mikroorganismy zvířat, ale i půdní bakterie, které jsou pak zapojením do trofického řetězce přeneseny do trávicího traktu člověka. Dlouhodobé používání ZnO indukuje antimikrobiální rezistenci (AMR) a virulenci bakterií. Proto se těžké kovy začínají syntetizovat a testovat v jiných formách, včetně nanočástic (NPs). Naší dřívější studií bylo prokázáno, že suplementace krmiva odstavených selat ZnNPs zvyšuje příbytek jejich hmotnosti v porovnání s konvenčně používaným ZnO. Bylo by ale používání zinku v podobě nanočástic v praxi z pohledu vývoje rezistence a virulence bezpečné?

Pomocí fenotypových metod a molekulárního profilování genů, proteinů a meziproductů citrátového cyklu byl porovnáván vliv dlouhodobé opakované expozice subinhibičních dávek ZnO a ZnONPs na bakterii *Escherichia coli*.

Analýzy potvrdily vliv ZnO na vývoj rezistence vůči některým antibiotikům, tvorbu biofilmu, morfologii a růst bakterií. Naše výsledky prokazují, že expozice ZnO a ZnONPs ovlivňuje i bazální metabolismus. Vlivem obou forem zinku došlo k dysregulaci meziproductů TCA cyklu včetně sukcinátu, který může stimulovat zánětlivou odpověď buněk střevního epitelu člověka. Toto zjištění zdůrazňuje skutečnost, že vliv zemědělských polutantů na bakteriální patogenezi je značný a není zcela objasněn. Porovnání účinků ZnO a ZnONPs na fyziologii bakteriálních buněk může sloužit jako významná platforma pro optimalizaci testování a používání těžkých kovů v zemědělství a zajistit tak prevenci vzniku a šíření AMR.

Jak rychle a správně detekovat antibiotickou rezistenci v podmínkách klinické laboratoře

prof. Ing. Jaroslav Hrabák, Ph.D.

Biomedicínské centrum Lékařské fakulty v Plzni Univerzity Karlovy

I přes bouřlivý rozvoj některých medicínských oborů v posledních letech představují infekční komplikace významnou hrozbu. Proto je nezbytné v podmínkách klinické laboratoře poskytovat rychle robustní výsledky. V přednášce budou shrnuty současné přístupy k včasné diagnostice antibiotické rezistence.

"Vzkříšení" a modifikace starých antimikrobních léčiv – nový trend?

Martin Krátký

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Stále rostoucí rezistence mikrobiálních patogenů vůči antimikrobiálním látkám představuje závažnou hrozbu pro veřejné zdraví, což vytváří naléhavou potřebu nových antimikrobiálních léčiv. Avšak vzhledem k náročnosti, vysokým nákladům a dalším komplikacím při vývoji nových léčiv jsou hledány alternativní strategie, např. kombinační terapie, repurposing zavedených léčiv, a to i „neantibiotických“, nebo návrat ke starým molekulám.¹

Na pomezí klasické medicínální chemie a repurposingu stojí modifikace známých léčiv, ať už v současné době hojně používaných, okrajových nebo již opuštěných. Poslední dvě skupiny sloučenin byly v minulosti omezeny či vyřazeny z klinického použití kvůli vedlejším účinkům, rozvoji rezistence či nižší účinnosti. Jejich současnými výhodami jsou zejména minimální výskyt rezistence v důsledku nízkého selekčního tlaku i předchozí klinické zkušenosti, proto se k nim navracíme. Příkladem jsou fosfomycin v terapii močových i systémových infekcí¹ nebo sulfonamidy používané v nové indikaci pro rezistentní formy tuberkulózy.²

Typickým rizikem při modifikaci známých léčiv za vzniku me-too drugs je zkřížená rezistence s parentní molekulou. Přesto je možné jednoduchými chemickými obměnami dosáhnout molekul, které si mezi jinými výhodami zachovávají aktivitu i proti kmenům rezistentním na dané léčivo. To se podařilo např. u antituberkulotika isoniazidu,³ antibakteriálních sulfonamidů (včetně mafenidu)² nebo analog nitrofuránů.⁴ Zde je však nevýhodou případný celý navazující proces preklinického a klinického hodnocení.



„Vzkříšení“ a jednoduché modifikace starých antimikrobiálních léčiv tak mohou představovat účinný nástroj v boji proti globální krizi antibiotické rezistence. Tento trend lze považovat za slibnou, i když jen částečnou alternativu k objevování zcela nových tříd léčiv.

Projekt Národní institut virologie a bakteriologie (Program EXCELES, ID: LX22NPO5103) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

1. Beneš J. Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití. Praha: Grada Publishing, 2018.
2. Krátký M. Future Med. Chem. 2024, 16(6), 545.
3. Vosátka R., Krátký M. et al. Eur. J. Med. Chem. 2018, 151, 824.
4. Le H.V.H.; Rakonjac J. PLoS Pathog. 2021, 17(7): e1009663.

Praktické využití výstupů a zkušeností ze tří let fenotypového a genotypového screeningu gramnegativních bakterií v Nemocnici Na Homolce

MUDr. Jan Kubele^{1,2}, MUDr. Václav Mat'oška¹

¹Nemocnice Na Homolce, Praha

²Státní zdravotní ústav, Národní referenční centrum pro infekce spojené se zdravotní péčí, Praha

V posledních letech je celosvětově alarmující vzestup výskytu karbapenemy rezistentních gramnegativních bakterií u pacientů a je jednou z priorit mezinárodních surveillance a preventivních aktivit. V České Republice je v posledních letech jednoznačně potvrzen endemický výskyt v mnoha zdravotních zařízeních. Multirezistentní enterobakterie, acinetobaktery a pseudomonády jsou velmi častými původci závažných nemocničních infekcí s atributivně zvýšenou morbiditou a mortalitou (například infekce krevního řečiště, infekce v místě chirurgického výkonu a pneumonie). Správně nastavený lokální screening vybraných pacientů zohledňující riziko umožňuje snížit pravděpodobnost šíření multirezistentních kmenů. Současně je včasná detekce mechanismů rezistence k antibiotikům v klinických vzorcích zásadní k nastavení cílené léčby kriticky nemocných pacientů. Budou prezentovány výsledky nastaveného screeningu rezistence ke karbapenemům u pacientů v Nemocnici Na Homolce. Na konkrétních případech bude poukázáno na důležitost paralelní fenotypové a genotypové detekce rezistence umožňující včasná rozhodnutí jak v preventivních opatřeních, tak i v antibiotické terapii pacientů. Zároveň bude zdůrazněna důležitost časné odborné interpretace, mezioborové komunikace a zpětné analýzy výsledků jednotlivých vyšetření. Srovnáním s národními daty bude demonstrováno, že k celkovému povědomí a monitoraci vývoje situace je zásadní i zajištění ověřování a analýzy izolátů v národních referenčních laboratořích.

Sledování antibiotické rezistence ve vodním prostředí: *Citrobacter* sp. v odpadních a povrchových vodách v České republice

Jarmila Laušová^{1,2,3}, Iva Sukkar^{2,3}, Lenka Davidová Geržová^{2,3}, Monika Dolejská^{1,2,3,4}

¹Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Brno

²Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň

³Středoevropský technologický institut, Veterinární univerzita Brno, Brno

⁴Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Ústav laboratorní medicíny, Fakultní nemocnice Brno

Bakterie rodu *Citrobacter* se běžně vyskytují v životním prostředí, zejména ve vodě a půdě, ale jsou také komenzály lidí a zvířat. U imunokompromitovaných jedinců mohou způsobovat infekce močových a dýchacích cest nebo meningitidy. Léčba je komplikovaná vzhledem k přirozené rezistenci *Citrobacter* sp. vůči většině penicilinů, cefalosporinům první generace a inhibitorům beta-laktamáz. Navíc tyto bakterie často nesou plazmidově kódované geny pro AmpC a širokospektré beta-laktamázy a stále častěji se vyskytují kmeny rezistentní ke karbapenemům. Cílem studie bylo identifikovat rezistentní kmeny *Citrobacter* sp. izolované z nemocničních, odpadních a povrchových vod v ČR.

Ve třech českých městech bylo odebráno pět různých typů vod: nemocniční odpadní voda, přítok a odtok z městské čistírny odpadních vod (ČOV) a z řeky nad a pod touto ČOV. Bylo získáno celkem 75 izolátů *Citrobacter* sp., které byly analyzovány pomocí celogenomového sekvenování. Izoláty byly identifikovány jako *C. freundii* (n=42), *C. portucalensis* (n=14), *C. braakii* (n=11), *C. youngae* (n=3), *C. gilenii* (n=2), *C. pasteurii* (n=1) a *C. europaeus* (n=1). Celkově bylo detekováno 54 různých sekvenčních typů, z nichž 17 bylo nově popsáno. Multirezistentní profil byl identifikován u 39 izolátů (52 %). Nejčastěji byla pozorována rezistence k beta-laktamovým antibiotikům (100 %), ciprofloxacinu (55 %) a aminoglykosidům (49 %). Rezistence k beta-laktamům byla nejčastěji kódována některou z 26 variant genu *bla_{CMY}*, rezistence k ciprofloxacinu byla spojena s přítomností genu *qnrB*. Dále bylo identifikováno pět různých genů kódujících produkci karbapenemáz: *bla_{GES-5}* (n=10), *bla_{NDM-4}* (n=2), *bla_{VIM-1}* (n=2), *bla_{VIM-4}* (n=1) a *bla_{OXA-48}* (n=1). Pomocí sekvenování dlouhých čtení bylo potvrzeno, že všechny tyto geny byly nesený na plazmidech. Porovnání sekvencí plazmidů nesoucích *bla_{GES-5}* z této studie s dostupnými daty prokázalo velkou podobnost s plazmidy z jiných oblastí ČR.

Studie ukazuje, že odpadní a povrchové vody v ČR slouží jako rezervoár multirezistentních kmenů *Citrobacter* sp. včetně těch rezistentních ke karbapenemům, což zdůrazňuje potřebu jejich monitorování.

Vliv managementu chovu na spotřebu antimikrobních látek v chovech hospodářských zvířat

doc. MVDr. Pavel Novák, CSc., Ing. Gabriela Malá, Ph.D.

Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha Uhřetěves

Management chovu hospodářských zvířat v souladu se zásadami správné chovatelské praxe musí vycházet z analýzy kritických kontrolních bodů v oblasti zdravotního stavu, zootechnické a veterinární evidence, úrovně chovného prostředí, technologických systémů, DDDDD a kvality produktů a vyúsťovat do návrhu opatření ke snížení rizika vzniku a šíření AMR.

Streptomycety asociované s člověkem – unikátní ekologická nika, unikátní biosyntetický potenciál

Kateřina Petříčková¹, Lucia Šateková¹, Jan Bobek¹, Matouš Čihák¹, Jiří Hrdý¹, Hynek Kopecký¹,
Veronika Beníšková¹, Lucie Kotrbová^{2,3} a Alica Chroňáková²

¹ *Ústav imunologie a mikrobiologie, I. lékařská fakulta UK, Praha*

² *Laboratoř environmentální mikrobiologie, Ústav půdní biologie a biogeochemie, Biologické centrum AV ČR, České Budějovice*

³ *Katedra biologie ekosystémů, Přírodovědecká fakulta, JU, České Budějovice*

Streptomycety jsou nejvýznamnějším přírodním zdrojem komerčně používaných antibiotik a dalších látek s antiinfekčním, imunomodulačním a kancerostatickým účinkem. Kromě jejich tradičních habitatů, půdy a vody, se množí četné důkazy o jejich, často velmi těsné, symbióze s vyššími organismy. Typicky zde svými biologickými aktivitami přispívají k ochraně svých hostitelů před patogeny. Repertoár jejich bioaktivit je pak evolučně jemně „doladen“ pro účely harmonického soužití s konkrétním hostitelem a dle jeho charakteru může cílit na úzké spektrum jeho potenciálních patogenů nebo ovlivňovat chování jeho imunitního systému. Streptomycety asociované s vyššími organismy tak představují zcela unikátní a především značně neprozkoumaný zdroj nových biologicky aktivních látek s terapeutickým potenciálem.

Naše rostoucí sbírka kmenů streptomycet izolovaných z lidských klinických vzorků, zejména z dolních dýchacích cest pacientů s chronickými respiračními obtížemi, je světově unikátní kolekcí cca stovky taxonomicky diverzních kmenů. Dle našich pilotních experimentů lidské kmeny s neobvykle vysokou frekvencí produkují hemolytické fungicidní polyeny, téměř všechny inhibují růst *Candida albicans*, některé blokují též vláknité mikromycety, včetně rezistentních klinických izolátů *Mucor* a *Aspergillus*.

Z antibakteriálních aktivit převažují ty cílící na Gram-pozitivní bakterie, aktivity proti těm Gram-negativním se obvykle omezují na rody *Moraxella* a *Neisseria*, výjimečně na klebsiely. Genomové analýzy potvrzují přítomnost četných biosyntetických genových shluků pro další potenciální, strukturou a aktivitou odlišná antiinfektiva. V poslední době testujeme též produkci látek s antimykobakteriálním účinkem. Kromě klasických aktivit antimikrobních některé kmeny ovlivňují i virulenci patogenů (hemolýza, tvorba pouzdra) a produkují též látky ovlivňující imunitní odpověď makrofágů.

Do naší snahy charakterizovat význam lidských streptomycet řadíme i zmapování jejich potenciálních virulenčních faktorů a rezistenčních profilů ke klinicky významným antibiotikům. Některé kmeny komenzálních streptomycet totiž mohou prokazatelně způsobovat oportunní infekce, které mohou vyžadovat nasazení odpovídající antibiotické terapie.

Cílený výzkum bioaktivit lidských streptomycet může přinést zajímavé poznatky i nové aktivní molekuly potenciálně uplatnitelné při léčbě infekčních onemocnění.

Antimikrobika u zvířat: výzvy spojené s řízením rizik AMR

Mgr. Lucie Pokludová, Ph.D.

Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv

Rovnováha mezi potřebou léčit zvířata a tlakem na minimalizaci podání antimikrobik s cílem snížit rozvoj a šíření rezistence jsou pro veterinární medicínu náročnou výzvou s přesahem do oblasti zdraví lidí i životního prostředí.

Podaří se přesvědčit odborníky i praktiky, aby věnovali část svých sil pro smysluplnou realizaci konkrétních opatření Akčního plánu NAP?

Role klonálního šíření ve vzestupu AMR u klebsiel v intenzivní péči

Vladislav Raclavský

Ústav mikrobiologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

Prezentujeme naše zkušenosti s průběžnou typizací bakteriálních izolátů od pacientů, doplněnou o srovnání s izoláty ze široce pojatého sběru vzorků z prostředí. Získané výsledky podporují následující závěry:

- (1) V intenzivní péči se ve FN Olomouc dominantně klonálně šíří *Klebsiella pneumoniae*, příp. *K. variicola*. Dalšími významněji se šířícími druhy jsou *Pseudomonas aeruginosa* a hemolytické kmeny *Escherichia coli*
- (2) U všech těchto druhů pozorujeme v dospělé intenzivní péči poměr vlastních unikátních kmenů k nemocničním klonům 2 : 1, tj. každý třetí klinický izolát je nemocniční.
- (3) Zejména u klebsiel je velký rozdíl ve výskytu ESBL fenotypu u „vlastních“ unikátních kmenů (27 %), oproti klonálně se šířících kmenů (téměř 60 % ESBL+).
- (4) Některé multirezistentní nemocniční klony jsou v šíření násobně úspěšnější a díky tomu kolují v populaci pacientů dlouhodobě, ve dvou případech jsme pozorovali pasážování po celou dobu jednoletého sledování.

Na základě těchto výsledků vyslovujeme hypotézu, že na dlouhodobém celkovém vzestupu AMR v populaci klebsiel v intenzivní péči se nejvýznamněji podílí horizontální šíření již existujících kmenů oproti *de novo* vývoji rezistence, který je facilitován antibiotickou léčbou. Pro zařízení s dobře nastaveným ATB stewardshipem je proto klíčové se zaměřit na identifikaci slabých míst v bariérovém režimu péče. Na základě našich zkušeností uvedeme také konkrétní slabá místa, která jsme v rámci našeho sledování zatím identifikovali.

Možnosti antimikrobiální terapie s využitím bakteriofágů a léčiv jimi inspirovaných

prof. MUDr. Filip Růžička, Ph.D.

Mikrobiologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a FN u sv. Anny v Brně

Bakteriofágy byly k léčbě využívány již počátkem minulého století. Sezavedení antibiotik do klinické praxe však jejich obliba poklesla. V dobřerostoucí rezistenci k antibiotikům je využití bakteriofágů jedna z perspektivních cest boje s bakteriemi. Cestu k jejich opětovnému využití otevřela řada nových poznatků o těchto agens.

Genomika v monitoringu antibiotické rezistence: Metagenomika vs. celogenomové sekvenování

Iva Sukkar

*Středoevropský technologický institut, Veterinární univerzita Brno
Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň*

Léčba bakteriálních infekcí, které jsou způsobeny multirezistentními kmeny, patří celosvětově k jedné z nejpálčivějších výzev dnešního zdravotnictví. Antibiotická rezistence přispívá k vysoké mortalitě a morbiditě pacientů, které se mají v následujících letech nadále zvyšovat.

Detekce a charakterizace bakterií rezistentních k antibiotikům byla v minulosti založena zejména na fenotypové analýze kmenů izolovaných z nemocných pacientů. Tento přístup poskytuje velmi málo informací o patogenu a jeho širší epidemiologii. Rychlý rozmach vysoce výkonných sekvenačních technologií v posledních letech přináší revoluci v charakterizaci těchto izolátů potažmo antibiotické rezistence, a díky snižujícím se finančním nákladům se stávají genomické analýzy široce dostupné.

Celogenomové sekvenování poskytuje detailní informace o rezistentním a virulentním profilu izolátu, uplatňuje se v identifikaci zdroje a možných cest přenosu patogenu, umožňuje rozlišení nosokomiálních infekcí od komunitních. Všechny tyto informace je možné využít pro léčbu a prevenci infekce. Nemalý význam má i možnost určení mobilních genetických elementů nesoucí determinanty antibiotické rezistence. Další genomický nástroj pro sledování antibiotické rezistence představuje sekvenování metagenomové DNA přímo z environmentálních nebo klinických vzorků. Tento přístup obchází laboratorní kultivaci bakterií, čímž má potenciál rychlejší diagnostiky izolátu a detekci dosud nekultivovatelných patogenů. Naopak metagenomická analýza

odpadních vod byla navržena jako eticky přijatelný a ekonomicky proveditelný přístup pro kontinuální dohled a predikci antibiotické rezistence v globálním měřítku.

Přestože bylo v posledních letech dosaženo nesmírného pokroku v charakterizaci kmenů rezistentních k antibiotikům, naplnění příslibu genomiky jako rutinního nástroje pro sledování antibiotické rezistence zůstává nadále velkou výzvou.

Role životního prostředí v Národním antibiotickém programu

Hana Zvěřinová Mlejnková

Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, veřejná výzkumná instituce

Príspevek bude informovat o roli životního prostředí v Akčním plánu Národního antibiotického programu ČR na období 2024-2030, do něhož byl nově zařazen sektor životního prostředí. Role životního prostředí v problematice antibiotické rezistence souvisí s faktem, že bakterie rezistentní k antibiotikům se přenáší nejen mezi lidmi, zvířaty a potravinami, ale také prostředím.

Antibiotic stewardship a prevence infekcí v nemocnici – investice do bezpečí pacientů

prof. MUDr. Helena Žemličková, PhD.

*NRL pro antibiotika, Státní zdravotní ústav
Ústav mikrobiologie 3. LF UK, FNKV a SZÚ*

Infekce spojené s poskytováním zdravotní péče významně ohrožují pacienty hospitalizované ve zdravotnických zařízeních, mají nezanedbatelný podíl na morbiditě a mortalitě pacientů a zvyšují náklady na péči o ně. Antibiotic stewardship a program prevence a kontroly infekcí v nemocnicích jsou komplementární programy, které mají společný cíl. Zásadní součástí řešení problematiky antibiotické rezistence je aplikace antibiotického stewardshipu. Tento termín lze definovat jako soubor souvislých akcí, které podporují odpovědné užívání antibiotik. Cílem ATB stewardshipu je používání antibiotik takovým způsobem, aby byl zajištěn udržitelný přístup k antibiotické léčbě pro všechny, kdo ji potřebují. Spolu s programem prevence a kontroly infekcí pak zlepšit výsledky péče o pacienty, snížit výskyt antibiotické rezistence a omezit vznik infekcí v nemocničních prostředích.



ABSTRAKTY POSTERŮ

(řazeny abecedně dle jména hlavního autora)

Budování sbírek bakteriofágů a lytických enzymů: Rychlý zdroj antimikrobiálních agens pro léčbu infekcí způsobených bakteriemi rezistentními k antibiotikům

Martin Benešík^{1,2,3}, Tereza Procházková^{2,3}, Tomáš Bartejs^{2,3}, Simona Košiarčíková^{2,3},
Dana Šveráková^{2,3}, Marek Moša^{2,3}

¹Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, MBL, Brno, ²MB PHARMA, Praha
³FAGOFARMA, Praha

Rezistence bakterií k antibiotikům představuje celosvětovou hrozbu pro veřejné zdraví, která vyžaduje inovativní terapeutické přístupy. Mezi perspektivní strategie patří využití bakteriofágů a jejich lytických enzymů (endolysinů), které selektivně napadají specifické bakterie a vykazují minimální vedlejší účinky na lidskou mikrobiotu. Bakteriofágy představují díky své přirozené rozmanitosti efektivní nástroj pro boj proti infekcím způsobeným multirezistentními patogeny.

Naše firma disponuje “know how“ k izolaci fágů z prostředí a jejich rychlé charakterizaci. Zaměřili jsme se na budování sbírky bakteriofágů, která nyní obsahuje více jak 100 izolátů zaměřených na bakterie jako *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. coli*, *A. salmonicida*, *C. acnes* atd. Každý z fágů byl pečlivě charakterizován, což umožňuje jejich potencionálně rychlé využití jako terapeutických agens, pokud bude fágová terapie legislativně dostupná.

Kromě přímého využití bakteriofágů jako antimikrobiálních agens představuje jejich genetický obsah cenný zdroj pro objevy nových antimikrobiálních enzymů, zejména endolysinů. Ty jsou z hlediska legislativy lépe uchopitelné a jejich cesta do klinické praxe tak může být snadnější. Unikátní genové sekvence našich bakteriofágů umožňují objevování a charakterizaci nových enzymů s potenciálem účinně lyzovat bakteriální buněčné stěny rezistentních kmenů. Díky tomu se naše sbírka bakteriofágů stává nejen nástrojem pro terapeutickou aplikaci, ale také základním zdrojem pro výzkum a vývoj v oblasti antimikrobiálních enzymů.

Naše iniciativa se snaží přispívat k rychlému rozvoji terapie zaměřené na infekce způsobené rezistentními bakteriemi a rozšiřuje možnosti cílených antimikrobiálních strategií. Sbírkou je navržena jako rychle dostupný zdroj pro výzkum i klinické aplikace, což může významně posílit a urychlit schopnost reagovat na hrozby spojené s antibiotickou rezistencí bakterií.

Role fosfotransferázového systému (PTS) v regulaci rezistence vůči antibiotiku rifampicinu u bakterie *Bacillus subtilis*

Šárka Bobková, Michaela Plechatá, Zdeněk Kameník, Libor Krásný, Jana Wiedermannová

Mikrobiologický ústav AVČR, Praha

Rifampicin je makrolidové antibiotikum používané v praxi zejména k léčbě tuberkulózy a lepry. V bakteriích se váže na enzym RNA polymerázu a tím blokuje transkripci. Popsané mechanismy rezistence vůči tomuto antibiotiku zahrnují mutace v cílovém místě - tedy v genu pro RNA polymerázu - a/nebo inaktivaci antibiotika pomocí modifikace jako je ADP-ribosylace, fosforylace, rozštěpení apod.

Bylo popsáno, že za fosforylaci je zodpovědný enzym rifampicin fosfotransferáza (Pps), který se skládá z několika podjednotek strukturně podobných jednotlivým proteinům tzv. fosfotransferázového systému. Fosfotransferázový systém (PTS) je soubor bílkovin, který umožňuje transport a zároveň fosforylaci cukrů přenášných touto cestou do bakteriální buňky. Kromě toho se také podílí na regulaci exprese různých genů. V bakterii *Bacillus subtilis* hraje klíčovou roli v PTS kaskádě protein HPr, který může být fosforylován buď na His-15 nebo na Ser-46. Tyto dvě fosforylované formy hrají roli v regulaci metabolismu uhlíku a transportu cukrů přes cytoplazmatickou membránu. Při našich proteomických analýzách bylo zjištěno, že HPr protein též souvisí s rezistencí na rifampicin, neboť byl nadprodukovaný v podmínkách, kdy byly bakterie kultivovány v subinhibičních koncentracích tohoto antibiotika. V dalších experimentech bylo potvrzeno, že mutant nesoucí delecii v genu kódujícím HPr protein, byl více citlivý vůči rifampicinu než divoký kmen. Dále jsme prokázali, že rezistence vůči rifampicinu závisí na fosforylaci HPr na Ser-46 a funkčnosti fenoménu zvaném katabolická represe. Biochemické experimenty s přečištěnými proteiny PTS systému a rifampicinem dále ukázaly, že komplex PTS proteinů je schopný fosforylovat a tím inaktivovat rifampicin, což poukazuje na komplexní obranu vůči tomuto antibiotiku. V posteru budou diskutovány uvedené výsledky a ukázán model popisující roli PTS systému v rezistenci vůči rifampicinu.

Tato práce byla podpořena grantem GAČR č. 24-10700S.

Výskyt mikroorganismů v chronických ranách a jejich antibiotická rezistence

Iveta Brožková, Ivana Stará, Nikola Fantová, Petra Mořková a Markéta Vydržalová

Univerzita Pardubice, Fakulta Chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd, Studentská 573, 532 10 Pardubice

Nehojící se rány jsou vážným sociálním a ekonomickým problémem pro pacienty po celém světě. Cílem této studie bylo zjistit výskyt mikroorganismů v chronických ranách, zjištění jejich antimikrobiální citlivosti a antimikrobiální vliv nově syntetizovaných materiálů u sbírkových kmenů a kmenů izolovaných z chronických ran pacientů. Zaměřili jsme se na antimikrobiální aktivitu obvazových materiálů ze staplových vláken na bázi kyseliny hyaluronové a oxidovaného škrobu s přídavkem okyselujících látek. Bylo odebráno celkem 55 vzorků výtěrů z ran od 30 pacientů. Nejčastěji se vyskytující chronickou ranou byly dekubity, u nichž jsme izolovali bakterie *Ps. aeruginosa*, *Corynebacterium striatum*, *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *Morganella morganii*, *St. haemolyticus*, *St. epidermidis*, *Ps. monteilii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* a *Finnegoldia magna*. Všechny aerobní bakterie izolované z dekubitů vykazovaly závažnou antibiotickou rezistenci. V bérkových vředech jsme nacházeli bakterie *Proteus mirabilis*, *Corynebacterium striatum*, *Ps. aeruginosa*, *St. schleiferi*, *St. haemolyticus*, *St. aureus*, *Str. agalactiae*, *Ent. faecalis* a *Morganella morganii*. Mezi rezistentní kmeny patřili *St. aureus*, *St. schleiferi* a *Proteus mirabilis*. U ostatních chronických ran jsme zaznamenali bakterie, jež jsou přirozenou součástí kožní mikroflóry. Přesto, že se tyto kmeny běžně vyskytují na kůži pacientů, vykazovaly antibiotickou rezistenci.

V rámci testování nových obvazových materiálů jsme zjistili, že multirezistentní kmeny vykazovali vyšší vnímavost vůči nově vyvinutým antimikrobiálním látkám, než antibioticky citlivější mikroorganismy.

Poděkování

Tato práce byla podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR jako účelová podpora specifického univerzitního výzkumu [číslo grantu SGS_2023_005 a SGS_2024_002].

Molekulární základy rezistence k antibiotikům u *Streptococcus pneumoniae*

Karolína Buriánková, Bohumil Kubeša a Pavel Branny

Laboratoř buněčné signalizace, Mikrobiologický ústav, AV ČR, v. v. i., Praha

Streptococcus pneumoniae (*S. pneumoniae*, pneumokok) je grampozitivní bakterie a oportunní patogen, který kolonizuje horní cesty dýchací a patří mezi nejčastější bakteriální původce infekcí, jako jsou zánět středního ucha, zánět nosních dutin, pneumonie, sepsa a meningitida. Rostoucí rezistence pneumokoků vůči antibiotikům je významným problémem veřejného zdraví, na který upozornila i Světová zdravotnická organizace (WHO), když zařadila *S. pneumoniae* mezi 15 prioritních patogenů.

S. pneumoniae si vyvinul rezistenci na různá antibiotika, včetně penicilinu, makrolidů, fluorochinolonů a sulfamethoxazolu–trimethoprimu. V posledních letech byly aktualizovány genetické funkční studie, molekulární detekce a charakterizace nově objevených mechanismů. Tento poster si klade za cíl shrnout mechanismy rezistence na antibiotika u *S. pneumoniae* v souvislosti s vakcinací a užíváním antibiotik.

Naše laboratoř se zaměřuje na výzkum signálních mechanismů v bakteriích, zejména na ty, které jsou zprostředkovány serin/threoninovými proteinkinázami eukaryotního typu. *S. pneumoniae* obsahuje jedinou kinázu tohoto typu StkP. Ta hraje prostřednictvím fosforylace svých substrátů klíčovou roli v buněčném dělení, virulenci a regulaci syntézy peptidoglykanu. Jedním ze substrátů StkP studovaných v naší laboratoři je i protein MurM, který hraje významnou roli v pneumokokové rezistenci k β -laktamovým antibiotikům. Dalším substrátem spojeným s rezistencí k antibiotikům je i námi studovaný protein GpsB. Vzhledem ke své zásadní roli v buněčném dělení a virulenci je StkP považována za potenciální cíl pro vývoj nových antibiotik proti *S. pneumoniae*.

Lepší porozumění mechanismům antibiotické rezistence by mohlo v konečném důsledku napomoci klinické léčbě a zabránit šíření kmenů rezistentních k antibiotikům.

Antibakteriální účinek peptidu RGD-Pac525 na intracelulární infekci *Escherichia coli*

Martina Coufalová¹, Hana Michálková¹, Vedran Milosavljevic¹, Kristýna Číhalová¹,
Luděk Žůrek¹

¹*Ústav chemie a biochemie, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00, Brno*

Intracelulární infekce vyvolané bakteriemi schopnými invaze představují komplexní problém v léčbě infekcí, neboť tyto bakterie mohou přežívat a rozmnožovat se uvnitř hostitelských buněk, kde unikají běžným léčebným postupům. Jen omezené množství antibiotik má schopnost proniknout do intracelulárního prostoru, což vyvolává potřebu vývoje nových antimikrobiálních látek. K zabránění zvyšování rizika vzniku rezistentních bakteriálních kmenů se jeví vhodnou strategií inspirace přírodními látkami. Tyto látky zpravidla působí nespecifickými mechanismy a tím minimalizují selekční tlak. Mezi ně patří antimikrobiální peptidy, které jsou součástí produkce vrozené imunity všech tříd živých organismů a jsou jednoduše synteticky modifikovatelné, čímž lze výrazně zlepšit jejich účinnost či specifitu.

Cílem výzkumu byl vývoj nového konceptu léčiva pro léčbu intracelulárních bakteriálních infekcí na bázi krátkých antimikrobiálních peptidů. Jako výchozí kandidát byl zvolen antimikrobiální peptid s vysokým obsahem tryptofanu (Pac525), který byl konjugován s tripeptidovou doménou RGD, jejíž sekvence je komplementární k sekvenci integrinů na povrchu eukaryotních buněk, čímž umožňuje vazbu na jejich povrch a penetraci do intracelulárního prostoru. Byly syntetizovány tři peptidy – RGD, Pac525 a konjugát RGD-Pac525, jejichž vlastnosti byly ve studii porovnávány. Zkoumána byla účinnost peptidu na intracelulární infekci způsobenou invazivním kmenem *Escherichia coli* KV203 při testování na makrofágové buněčné linii RAW 264.7. Fluorescenční mikroskopie potvrdila schopnost konjugátu proniknout do intracelulárního prostoru eukaryotních buněk a kultivační metodou byl potvrzen antimikrobiální účinek peptidu ve vnitřním prostředí buňky. Výzkumem byla prokázána signifikantní antimikrobiální účinnost peptidu RGD-Pac525 na intracelulární infekci, kdy došlo ke snížení počtu kultivovatelných bakterií o 50,9 % po čtyřech hodinách účinku.

Výzkum byl podpořen grantem Interní grantové agentury Agronomické fakulty MendelU AF-IGA2023-IP-014.

Antibakteriálně účinné látky proti rezistentním klinickým izolátům rodu *Staphylococcus*

L. Černá¹, U. Bildziukevich², A. Massyagutova¹, Z. Wimmer^{1,2}, P. Lovecká¹

¹Vysoká škola chemicko-technologická, Praha

²Akademie věd České republiky, v. v. i., Praha

Rostlinné sekundární metabolity se řadí mezi významné zdroje, známé zejména pro jejich prospěšné biologické aktivity. Přírodní rostlinné extrakty byly v historii používány k léčbě mnoha nemocí, ale mnoho rostlin s léčivými vlastnostmi stále zůstává neprozkoumanými a chybí podrobnosti o jejich biologických aktivitách a mechanismech účinku. Zároveň jejich syntetické deriváty mohou často vykazovat zlepšené farmakologické vlastnosti například z hlediska zvýšení biologické dostupnosti. Hlavní náplní tohoto příspěvku je shrnutí výsledků z měření antibakteriálních účinků extraktů získaných z rostliny *Rosmarinus* a také syntetizovaných oximových derivátů betulonové a platanové kyseliny získávaných z rostlin patřících do čeledi *Betulaceae* a *Platanaceae*. Antibakteriální účinky testovaných látek byly zjišťovány na modelové sbírkové patogenní bakterii *Staph. aureus* a následně na čtyřech rezistentních klinických izolátech z rodu *Staphylococcus*. K testování byla použita diluční metoda následovaná resazurinovým testem. Bylo pozorováno, že nejúčinnější vzorky vykazovaly 90–100% inhibice růstu proti rezistentním kmenům *Staph. aureus* 368, *Staph. epidermidis* 335, *Staph. aureus* 670. Naše výsledky naznačují, že testované látky mají značný potenciál pro vývoj nových antibiotických terapií.

Tato práce byla finančně podpořena z projektu TA ČR č. TN02000044

Adjuvantní terapie: staronový nástroj k řešení antibiotické rezistence

Dvořák Michal, Lipovová Petra, Brdová Daniela, Špaček Jan, Ludvíková Anna, Křížkovská Bára, Guglielmo Tedeschi, Lipov Jan, Viktorová Jitka

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

V současnosti čelíme vážné hrozbě antibiotické rezistence, která výrazně omezuje naše možnosti léčby bakteriálních infekcí. Nízké tempo schvalování nových antibiotik a nedostatek investic do výzkumu v této oblasti špatnou situaci jen umocňují. V minulosti odradilo farmaceutické společnosti od vývoje nových antibiotik přesycení trhu a tedy nízká ziskovost. Dnes je však situace zcela jiná – nová antibiotika a inovativní způsoby léčby jsou naléhavě potřebné. I přesto se ale stále zkoumá především antimikrobiální účinek jednotlivých látek, zatímco potenciál jejich kombinovaného působení s existujícími antibiotiky (tzv. adjuvantní terapie) zůstává často nevyužitý. V souladu s Akčním plánem Národního antibiotického programu České republiky je nezbytné hledat nové strategie, jak efektivně bojovat s patogenními bakteriemi. A právě adjuvantní terapie se jeví jako slibný přístup, který by mohl oživit stávající neúčinná antibiotika a zpomalit vývoj rezistence.

Nejdéle používanou adjuvantní terapií pro léčbu lékově-rezistentních bakteriálních infekcí je Augmentin, který se v klinické praxi používá již více než 40 let. I další úspěšné příklady adjuvantní terapie v praxi se ovšem limitují pouze na zabránění inaktivace β -laktamových antibiotik. Inhibitory dalších enzymů rezistence jsou tak prozatím omezené pouze na vědecké publikace či preklinická testování a jejich užití v adjuvantní terapii tedy prozatím není možné.

Cílem naší laboratoře je nalezení nových inhibitorů, které by mohly sloužit jako adjuvans pro kombinovanou terapii rezistentních infekcí. K tomuto účelu využíváme klinické izoláty rezistentních kmenů, nanoporové sekvenování, metody genového inženýrství k přípravě geneticky modifikovaných bakterií a následně vysokokapacitní testování.

Antibiotická rezistence u netuberkulózních mykobakterií

Jarmila Hnilicová¹, Věra Dvořáková²

¹Laboratoř regulačních RNA, Katedra genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecká fakulta
Univerzity Karlovy, Praha, ²Národní referenční laboratoř pro mykobakterie,
Státní zdravotní ústav, Praha

Počet infekcí způsobených netuberkulózními mykobakteriemi ve vyspělých zemích každoročně stoupá, ať už jde o infekce způsobené *Mycobacterium abscessus*, které se šíří mezi pacienty s cystickou fibrózou, nebo o plicní infekce způsobené *Mycobacterium avium* či dalšími druhy. V České republice byly nedávno v klinických izolátech dokonce objeveny zcela nové druhy mykobakterií. Netuberkulózní mykobakterie jsou běžně přítomné v prostředí a naším cílem je zjistit, proč některé z nich způsobují onemocnění. Pomocí nanoporového sekvenování jsme identifikovali několik nových plazmidů u *Mycobacterium abscessus* a *Mycobacterium chimaera*, které by mohly souviset s vyšší virulencí a rezistencí na antibiotika.

Zatímco většina kmenů *Mycobacterium tuberculosis*, které způsobují tuberkulózu, je citlivá na rifampicin, zjistili jsme, že citlivost na rifampicin se u jednotlivých druhů netuberkulózních mykobakterií výrazně liší. U rychle rostoucích druhů jsme identifikovali gen *heliD*, který hraje roli v regulaci genové exprese a zároveň přispívá k rezistenci na rifampicin. Proto by infekce způsobené těmito druhy mykobakterií neměly být léčeny rifampicinem,

U mnoha druhů netuberkulózních mykobakterií stále není jasné, jaká antibiotika jsou vhodná pro jejich léčbu. Vytváříme unikátní dataset o citlivosti jednotlivých druhů netuberkulózních mykobakterií na současně používaná antibiotika, který bude v budoucnu sloužit lékařům v klinické praxi při rozhodování o léčbě pacientů.

Neenzymatická rezistence k beta-laktamům u *Haemophilus influenzae*

Vladislav Jakubů^{1,2}, Lucia Mališová^{1,2}, Helena Žemličková^{2,1}

1 - Národní referenční laboratoř pro antibiotika, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Šrobárova 49/48, 100 00 Praha 10, Praha, Česká republika

2 - Mikrobiologické oddělení, 3. lékařská fakulta, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady a Státní zdravotní ústav, Univerzita Karlova, Ruská 87, 100 00 Praha 10, Praha, Česká republika

Úvod

Aminopeniciliny a cefalosporiny jsou doporučenými přípravky pro infekce vyvolané *Haemophilus influenzae*. Jedním z mechanismů rezistence k β -laktamům je změna transpeptidázové oblasti penicilin vázajícího proteinu 3 (PBP3), která je způsobena mutacemi v genu *ftsI*. Takové kmeny se označují jako BLNAR nebo rPBP3. Od roku 2010 došlo v České republice k nárůstu prevalence BLNAR z 0,8 % v roce 2010 na 15 % v roce 2020 a 6,7 % v roce 2023. Aminokyselinové (AK) záměny v PBP3 se mohou vyskytovat na více jak 20 místech a jejich podíl na úrovni rezistence zůstává nejasný.

Cílem sdělení je sumarizovat dílčí výstupy projektu zaměřeného na kmeny rPBP3.

Metody

Testování citlivosti k antibiotikům dle metodiky EUCAST (disková difuzní metoda, minimální inhibiční koncentrace (MIC)); pasážování/kultivace kmenů 30 dní v tekutém médiu v přítomnosti beta-laktamových antibiotik; parciální sekvenace genu *ftsI*; komparativní analýza AK záměn; MLST populační analýza; optická a elektronová mikroskopie; celogenomová sekvenace.

Výsledky

Cílová místa AK záměn; kombinace AK záměn

Fylogenetická analýza epidemiologické příbuznosti klinických kmenů

Evoluce mutací v genu *ftsI* při kultivaci s beta-laktamy;

Změny v genomu (WGS) při ovlivnění morfologie buněk po kultivaci s beta-laktamy

Vhodnost jednotlivých beta-laktamů coby detekčních systémů kmenů rPBP3

Diskuse

Sdělení podává souhrn výstupů dílčích úkolů grantového projektu zaměřeného na neenzymatickou rezistenci u populace kmenů *H. influenzae*. Část výsledků je celosvětově unikátních (např. evoluce mutací v genu *ftsI* při pasážování v přítomnosti antibiotik; sonda do genomu a morfologie buněk v přítomnosti antibiotik; pokus statisticky zhodnotit přínos některých AK záměn na zvýšení/snížení hodnoty MIC). Další výstupy byly zaměřeny na porovnání stavu dané problematiky v ČR a v Evropě/ve světě (výskyt a kombinace AK záměn; posouzení schopnosti beta-laktamů detekovat kmeny rPBP3; interpretační shoda metod vyšetření citlivosti; populační MLST analýza). Závěrem lze říci, že projekt přinesl množství informací, které problematiku neenzymatické rezistence u *H. influenzae* částečně objasňují.

Financování: AZV, Ministerstvo zdravotnictví ČR; NU21-09-00028.

Charakterizace nových transkripčních faktorů u bakterie *Bacillus subtilis*

Veronika Kočárková, Hana Šanderová, Jiří Pospíšil, Marek Schwarz a Libor Krásný

Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha

V průběhu evoluce se u bakterií vyvinula řada mechanismů regulace genové exprese umožňujících rychlou adaptaci na měnící se prostředí. Klíčovou roli v této regulaci hrají proteiny zvané transkripční faktory (TF), které se mohou vázat do regulačních oblastí DNA a zamezovat či napomáhat interakci RNA polymerasy s promotorovou DNA. Navzdory rozsáhlému výzkumu však zůstává mnoho TF neznámých.

Pomocí přístupu deep learning byly u bakterie *Bacillus subtilis* predikovány domnělé TF. Přestože tato bakterie představuje jeden z nejvíce studovaných modelových organismů, je funkce asi 20 % jejích proteinů stále neznámá či velmi špatně charakterizována.

Cílem tohoto projektu je charakterizovat funkci 15 vybraných predikovaných TF u *B. subtilis*. V rámci prvotních experimentů byly připraveny deleční kmeny příslušných TF a provedeny fenotypové charakterizace. Následně byly připraveny kmeny s FLAG-značenými TF. Byla provedena imunoprecipitace značených proteinů a pomocí hmotnostní spektrometrie byly identifikovány potenciální interakční partneři. V současné době zároveň probíhají experimenty ChIP-seq, které umožní charakterizaci DNA vazebných míst vybraných TF napříč genomem *B. subtilis*. Tato metoda bude doplněna transkriptomickou analýzou (RNA-seq), která objasní vliv studovaných TF na genovou expresi.

Náš nedávný pokrok zahrnuje identifikaci TF, který se podílí na rezistenci *B. subtilis* vůči antibiotiku D-cykloserinu. Bude diskutován mechanismus této rezistence a její regulace. Tento projekt poskytne lepší pochopení toho, jak organismy reagují na vnější vlivy prostřednictvím regulace transkripce.

Tato práce je podpořena grantem č. 23-06295S Grantové agentury ČR.

Efekt farmaceutických konzervantů na antibakteriální účinek bakteriofágů proti *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*

Marie Komárková^{a*}, Martin Benešík^b, Tereza Procházková^b, Adam Vinco^a, Soňa Smetanová^{a,c},
Marek Moša^b, Tibor Botka^a, Roman Pantůček^a

^a*Ústav experimentální biologie, Oddělení genetiky a molekulární biologie, Přírodovědecká
fakulta, Masarykova Univerzita, 611 37, Brno*

^b*MB Pharma s.r.o., 120 00, Praha*

^c*RECETOX, Přírodovědecká fakulta, Masarykova Univerzita, 625 00, Brno*

**mkomarkova94@gmail.com*

Díky časté antibiotické rezistenci představují infekce způsobené patogenními kmeny *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* významnou hrozbu pro lidské zdraví. Proto je potřebné hledat alternativu antibiotické léčby, kterou může být fágová terapie, tedy aplikace bakteriálních virů, tzv. fágů, v léčbě bakteriálních infekcí. Pro její zavedení do praxe je nutné fágy zpracovat do lékové formy s ohledem na proteinový charakter fágových částic tak, aby byla zachována stabilita jejich antibakteriálního efektu. Toto je předmětem naší studie.

Pomocí plakové metody jsme stanovili stabilitu počtu infekčních částic u stafylokokového fága rodu *Kayvirus* a pseudomonádového fága rodu *Pbunavirus*. Fágy s titrem 10^9 PFU/mL byly skladovány po dobu 13 týdnů ve formě purifikátů ve fyziologickém roztoku s dvanácti farmaceutickými konzervanty, které se uplatňují u řady lékových forem. Konzervant byl uznán jako vhodný pro fágové preparáty, pokud titer fága neklesl pod 10^7 PFU/mL a nebyly zjištěny další inkompatibility (např. vznik sraženiny). Dále byla stanovena stabilita koktejlu dvou výše zmíněných fágů, který byl jako purifikát v SM pufru s titrem 10^8 PFU/mL zpracován do lyofilizovaných maltodextrinových tablet a skladován po dobu šesti měsíců při teplotách 4 a 25 °C.

S oběma testovanými fágy byly kompatibilní zástupci solí organických kyselin, fenolů, alkoholů a parabenů. Zpracování fágů do lyofilizovaných tablet dle optimalizovaného postupu vedlo ke zvýšení stability fága rodu *Kayvirus* ve 25 °C po dobu tří měsíců. Tato tuhá léková forma má navíc řadu výhod jako je jednodušší aplikace, dávkování i skladování. Variabilní stabilita fágů z odlišných rodů pozorovaná v této studii poukazuje na nutnost optimalizace finálního produktu s ohledem na konkrétního terapeutického fága. Prezentované výsledky lze aplikovat v rámci budoucích studií zaměřených na přípravu farmaceutických produktů fágové terapie a jejich dlouhodobější skladování.

Aplikovaný výzkum fágů na Masarykově univerzitě je financován z projektů TAČR FW10010112, MZ ČR NU21J-05-00035 a LX22NPO5103.

Vhled do mechanismů rezistence k makrolidům u půdních aktinomycet a možností biodegradačních aktivit

Lucie Kotrbová^{1,2}, Roman Grabic³, Radka Kodešová⁴, Alica Chroňáková^{1*}

1 Laboratoř environmentální mikrobiologie, Ústav půdní biologie a biogeochemie, Biologické centrum AV ČR, Na Sádkách 702/7, 370 05 České Budějovice; alicach@upb.cas.cz

2 Katedra biologie ekosystémů, Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Branišovská 1645/31a, 370 05 České Budějovice; volna100@jcu.cz

3 Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zátíší 728/II, 38925 Vodňany; rgrabic@frov.jcu.cz

4 Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00, Praha – Suchbát; kodesova@af.czu.cz

Makrolidy (ML) patří mezi nejužívanější antimikrobiální látky v klinické i veterinární praxi. Jedná se o širokospektrá antibiotika, která inhibují proteosyntézu navázáním na 23S rRNA v 50S podjednotce ribozomu bakterií. Bakterie se chrání různým způsobem, například producent erythromycinu (ERY) *Saccharopolyspora erythromycina* si zajišťuje rezistenci tím, že metyluje 23S rRNA. Zodpovědný enzym, erythromycin resistance metyltransferáza, je kódována genem *ermE*. Tento mechanismus rezistence k makrolidům, ale i k linkosamidům a streptograminům typu B (MLSB) je zřejmě původní pro producenty příbuzných antibiotik (aktinomycety) i Gram-positivní koky, nicméně byl detekován i v Gram-negativních enterobakteriích. Další mechanismy, např. efluxní pumpy, fosforylace, glykosylace nebo acetylce antibiotika, byly nalezeny u dalších půdních aktinomycet. Cílové bakterie si navíc vyvinuly bodové mutace na 23S rRNA nebo na ribozomálních proteinech L4 a L22. Z pohledu kontinuální environmentální zátěže rezidui antibiotik a jejich případného odstranění z recipientních prostředí jsou velmi zajímavé mikrobiální degradační mechanismy. První erythromycin esterázy (*EreA*, *EreB*) štěpící makrolaktonový kruh byly popsány u fakultativních Gram-negativních patogenů. Geny se nacházejí na plasmidech, nebo jiných mobilních elementech. Nověji byly objeveny esterázy *EstX* jiného typu (α/β -hydrolázy) také u patogenů. *Ere* a *Est* enzymy se liší také substrátovou specifitou a preferují laktony s různým počtem uhlíků. Náš výzkum se zaměřuje na podobné enzymatické aktivity u půdních aktinomycet, které by mohly být využívány pro bioremediační technologie, pokud shledáme, že geny nemají vysokou sekvenční podobnost s těmi, které se objevují a cirkulují mezi patogeny. Pilotní výsledky naznačují, že půdní aktinomycety (rody *Streptomyces*, *Nocardia*, *Nocardopsis*) mají jasné *in vitro* aktivity a mohou se tedy významně podílet na odbourávání klaritromycinu a jiných ML v životním prostředí.



Využité CRISPR/Cas pri štúdiu antibiotickej rezistencie

Kristína Krúteková^{1, 2}, Monika Dolejská^{1, 2, 3, 4}

*1 Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, Fakulta veterinární hygieny a ekologie,
Veterinární univerzita Brno, Brno*

2 Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň

3 Středoevropský technologický institut, Veterinární univerzita Brno, Brno

*4 Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Ústav laboratorní medicíny, Fakultní
nemocnice Brno, Brno*

Plazmidy, ako mobilné genetické elementy, umožňujú horizontálny prenos génov pre antibiotickú rezistenciu nielen medzikmeňovo, ale aj medzi rôznymi bakteriálnymi druhmi. Tým rapídne prispievajú k šíreniu antibiotickej rezistencie. Jednou z perspektívnych ciest, ktoré sa používajú pri štúdiu procesov stojacich za šírením antibiotickej rezistencie je syntetická biológia. Umožňuje konštrukciu geneticky modifikovaných bakteriálnych kmeňov a plazmidov slúžiacich na štúdium dynamiky šírenia antibiotickej rezistencie. CRISPR/Cas systém, pôvodne súčasťou bakteriálneho imunitného systému, predstavuje prelom v cielenej úprave genómu. Prostredníctvom špecifického zacielenia rezistentných génov, integrovaných do plazmidov, umožňuje CRISPR/Cas nielen ich funkčnú analýzu, ale aj možnosť ich delécie. Pomocou CRISPR/Cas môžeme nielen mapovať a funkčne analyzovať gény rezistencie, ale aj efektívne eliminovať plazmidy z bakteriálnych buniek. To nám otvára nové možnosti pri štúdiu evolučných vzťahov medzi baktériami a plazmidmi, ale poskytne aj nové nástroje na lepšie pochopenie dynamiky šírenia plazmidov.

Modulace antibiotické rezistence deriváty chloramfenikolu u multirezistentních klinických izolátů

Anna Ludvíková¹, Artemis Tsirogianni², Constantinos Athanassopoulos², Petra Lipovová¹,
Jitka Viktorová¹

¹ *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav biochemie a mikrobiologie, Technická 3,
166 28 Prague 6, Czech Republic*

² *University of Patras, Department of Chemistry, 26504 Rio, Greece*

Rostoucí výskyt multirezistentních bakterií je stále častěji spojován s původci nozokomiálních infekcí. Tato skutečnost představuje významnou farmaceutickou i socio-ekonomickou zátěž zdravotnického systému. Pochopení mechanismů rezistence těchto patogenů je zásadní pro vývoj nových antimikrobiálních látek [1].

Chloramfenikol je širokospektré antibiotikum, které inhibuje proteosyntézu. Tato práce byla zaměřena na antimikrobiální aktivitu 59 derivátů chloramfenikolu. Antimikrobiální aktivita byla měřena mikrodiluční metodou dle ISO standardu 20776-1 u citlivých kmenů a multirezistentních klinických izolátů *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* a *Escherichia coli*. Dále byla měřena enzymová aktivita chloramfenikolacetyltransferázy (CAT) v přítomnosti těchto derivátů.

U osmi derivátů byla potvrzena antimikrobiální aktivita u klinických izolátů *S. aureus* s rezistencí k chloramfenikolu. U *E. faecium* a *E. coli* byla pozorována antimikrobiální aktivita pouze u izolátů citlivých k chloramfenikolu. Téměř čtvrtina všech derivátů měla až dvacetkrát nižší afinitu k CAT než samotný chloramfenikol, přičemž dva deriváty také snížily schopnost CAT acetylovat chloramfenikol a prokázaly tak adjuvantní aktivitu.

Některé z připravených derivátů chloramfenikolu se jeví jako nová potenciální antimikrobiální léčiva. Tři z těchto derivátů (49, 56 a 53) působí antimikrobiálně i na kmeny rezistentní k chloramfenikolu, neinteragují s efluxními pumpami a zároveň nejsou substráty CAT.

Tato práce byla podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (projekt Talking microbes - understanding microbial interactions within One Health framework, CZ.02.01.01/00/22_008/0004597).

[1] Santajit, S.; Indrawattana, N., *Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. BioMed Research International* **2016**, 2016 (1), str. 2475067, DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>.

Identifikace *E. coli* rezistentních k beta-laktamovým antibiotikům izolovaných z telat chovaných v České republice

Martina Masaříková, Aneta Papoušková, Dušan Haas, Alois Čížek

*Ústav infekčních chorob a mikrobiologie, Fakulta veterinárního lékařství,
Veterinární univerzita Brno*

Antimikrobiální rezistence je jedním z nejzávažnějších jevů, které negativně ovlivňují zdraví lidí a zvířat. Náš ústav se dlouhodobě zaměřuje na studium rezistence u mikroorganismů, které se podílejí na etiologii infekcí zvířat. V roce 2019 jsme odebrali vzorky rektálních výtěrů telat ($n=266$) z 24 českých chovů. Cílem bylo zjistit prevalenci rezistentních *E. coli* izolací na McConkey agaru suplementovaném cefotaximem, vyšetřit citlivost k 13 antibiotikům diskovou difúzní metodu a Double disc synergy testem identifikovat typ produkované beta-laktamázy. Následně prokázat geny kódující tuto rezistenci metodou PCR u izolátů vykazujících fenotyp rezistence k výše uvedeným substancím.

Získaný soubor tvořilo 128 (48 %) *E. coli* rezistentních ke dvěma až 12 antibiotikům, 90 % z nich bylo multirezistentních (115/128). Všechny 128 izolátů bylo rezistentních k ampicilinu, 127 *E. coli* také k cefalotinu. Rezistence k ostatním testovaným látkám byla následující: tetracyklin (73 %), streptomycin (70 %), sulfonamidy (59 %), chloramfenikol (42 %), amoxicilin-klavulanát (38 %), cefoxitin (36 %), ceftazidim (30 %), sulfametoxazol-trimetoprim (30 %), kyselina nalidixová (19 %), ciprofloxacin (17 %), gentamicin (13 %). Většina *E. coli* produkovala širokospektré beta-laktamázy (117/128; 91 %), 36 % beta-laktamázy typu AmpC (46/128), 30 % izolátů (38/128) produkovalo oba typy beta-laktamáz. Metoda PCR ukázala, že 90 % získaných kmenů neslo geny kódující ESBL *bla*_{CTX-M} (116/128) a 48 % *E. coli* geny pro úzkospektrální beta-laktamázy *bla*_{TEM} (62/128). Z genů PMQR byl prokázán gen *qnrS* u 21 % *E. coli* (27/128). Dvacet šest izolátů neslo všechny tři geny dohromady (20 %), kombinaci genů *bla*_{CTX-M} a *bla*_{TEM} prokázalo 32 *E. coli* (25 %), geny *bla*_{TEM} a *qnrS* jeden izolát (1 %) a konečně pouze samotný gen *bla*_{TEM} byl identifikován u tří izolátů (2 %). Ze 128 získaných *E. coli*, 68 izolátů (jeden izolát reprezentoval jednoho jedince původem z 16 českých farem) bylo podrobeno celogenomovému sekvenování. Výsledky WGS prezentuje poster Papouškové a kolektivu.

Výskyt rezistentních kmenů *Pseudomonas aeruginosa* v nemocničních odpadních vodách

Petra Motřková, Nikola Roulová, Terezie Polívková, Iveta Brožková a Markéta Vydržalová

Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd, Studentská 573, 532 10 Pardubice

Odpadní voda představuje jednu z cest šíření rezistentních bakterií a genů antibiotické rezistence. Bakterie sdružené pod akronym ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Enterobacter* spp.) jsou spolu s bakterií *Escherichia coli* celosvětově hlavními původci vážných nozokomiálních nákaz zejména u kriticky nemocných a imunosuprimovaných pacientů. Největším rizikem, které je spojeno s rozšiřováním těchto bakterií z nemocničního prostředí, je přenos jejich genů antibiotické rezistence na další patogenní bakterie.

V rámci studie byly odebírány a zpracovávány vzorky odpadní vody ze 6 nemocničních zařízení v České republice. Jednotlivá zařízení se mezi sebou lišily kapacitou lůžek. V naší práci jsme se zaměřili na sledování výskytu podmíněně patogenní bakterie *Pseudomonas aeruginosa*.

Pro stanovení citlivosti na antimikrobiální látky diskovou difuzní metodou bylo vybráno 59 vyizolovaných kmenů. Rezistence byla zjištěna ke všem sedmi testovaným antibiotikům, v nejvyšší míře vůči ciprofloxacinu (30,5 %), gentamicinu (28,8 %) a meropenemu (27,2 %). 42,4 % testovaných kmenů bylo rezistentních nejméně k jednomu antibiotiku a 28,8 % kmenů bylo multirezistentních. Přítomnost rezistentních kmenů *Pseudomonas aeruginosa* byla zaznamenána ve všech vyšetřovaných vzorcích nemocničních odpadních vod, nicméně frekvence jejich výskytu se v jednotlivých vzorcích lišila. Přítomnost multirezistentních kmenů *Pseudomonas aeruginosa* byla zjištěna ve čtyřech vzorcích nemocničních odpadních vod.

Poděkování:

Tato práce byla podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR jako účelová podpora specifického univerzitního výzkumu [číslo grantu SGS_2023_005 a SGS_2024_002].

Dynamické zmeny plazmidómu a rezistómu v gastrointestinálnom trakte kurčiat

Markéta Ryšavá^{1,2}, Jana Palkovičová^{2,3}, Darina Čejková⁴, Derya Aytan-Aktug⁵, Saria Otani⁵,
Monika Dolejská^{1,2,3,6}

¹*Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, Fakulta veterinární hygieny a ekologie,
Veterinární univerzita Brno, Brno, ČR,*

²*Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, ČR, ³Středoevropský
technologický institut, Veterinární univerzita Brno, ČR,*

⁴*Ústav biomedicínského inženýrství, Vysoké učení technické v Brně, ČR,*

⁵*Research group for Genomic Epidemiology, Technical University of Denmark, Kgs. Lyngby,
Dánsko,*

⁶*Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Ústav laboratorní medicíny,
Fakultní nemocnice Brno, ČR*

Intenzívna produkcia hydínového mäsa v posledných rokoch viedla k nadužívaniu antibiotík, čím sa mení kurací mikrobióm a zvyšuje sa množstvo patogénov a génov pre antibiotickú rezistenciu (ARG). Kurací gastrointestinálny trakt (GIT) poskytuje vďaka nadužívaniu antibiotík ideálne prostredie pre horizontálny génový prenos mobilnými genetickými elementami (MGE), primárne plazmidmi. Tento projekt je zameraný na analýzu plazmidómu a jeho asociáciu s antibiotickou rezistenciou v kuracom GIT počas prvých 4 týždňov života jedincov z kuracej farmy v Českej republike.

Z troch hál kuracej farmy bolo v 4 časových bodoch odobraných 12 vzoriek trusu. V dvoch halách boli kurčatá zdravé, ale v tretej hale bola mortalita vysoká, a preto boli kurčatá liečené enrofloxacinom a metronidazolom. Bola izolovaná celková plazmidová DNA malých aj veľkých plazmidov a odstránili sa environmentálne kontaminanty, bakteriálna DNA a amplifikovali sa cirkulárne plazmidy. Pripravené DNA knižnice boli sekvenované na platforme P2Solo. Abundancia ARG a MGE bola porovnaná pomocou RPKM (*reads per kilobase million*) hodnôt. Následne boli dáta poskladané a kompletne cirkulárne plazmidy boli asociované s ARG.

Plazmidóm analyzovaných vzoriek pozostával z rôznych MGE a obsahoval široké spektrum ARG. V obsahu a množstve ARG boli pozorované zmeny v čase a rozdiely boli detegované aj medzi rôznymi halami. Relatívna abundancia ARG k fluorochinolónom a nitroimidazolom sa menila nezávisle od liečby. Najvyššia abundancia ARG nebola v GIT liečených kurčiat, ale v jednej z neliečených hál. V hale bol pozorovaný výrazný nárast v abundancii génu *qnr* pre rezistenciu k flurochinolónom. Assembly ukázalo, že je gén asociovaný s malým kolicinovým plazmidom, ktorý je podobný k už popísanému plazmidu zo *Salmonella enterica*. Väčšina poskladaných plazmidov bola lineárna, pravdepodobne fragmentovaná vo viacerých kontigoch, najväčší plazmidový kontig mal pritom 96 kb.

Náš projekt demonštroval, že kuracie farmy môžu byť rezervoárom ARG, ktoré sa môžu šíriť prostredníctvom plazmidov. Metagenomický prístup k analýze plazmidómu poukázal na dynamiku plazmidov v kuracom GIT.

Komparativní genomická analýza izolátů *Escherichia coli* produkujících ESBL/AmpC betalaktamázy z telat na českých mléčných farmách

Aneta Papoušková^{*1}, Martina Masaříková¹, Darina Čejková³, Jarmila Laušová², Dušan Haas¹, Alois Čížek¹

¹Ústav infekčních chorob a mikrobiologie, VETUNI Brno

²CEITEC, VETUNI Brno

³Ústav biomedicínského inženýrství, VUT Brno

Cílem naší studie bylo zhodnocení prevalence sekvenčních typů (ST), sérotypů, fylogenetických skupin, replikonů, virulenčních a rezistenčních genů mezi kmeny *E. coli* produkujícími ESBL/AmpC-betalaktamázy asymptomaticky kolonizujícími telata mléčného skotu na českých farmách. Za tímto účelem bylo 68 izolátů *E. coli* rezistentních k cefotaximu z 16 různých farem společně s 15 izoláty ze 3 ošetřovatelů podrobena celogenomové analýze platformou Illumina HiSeq. Izoláty z telat byly většinou multirezistentní a nesly geny *bla*_{CTX-M-14} (44,1 %), *bla*_{CTX-M-1} (33,8 %), *bla*_{CTX-M-8} (4,4 %) a *bla*_{CTX-M-15} (16,2%) a rozličné replikony včetně IncF, IncI1, IncB/O/K/Z a IncY. Patřily převážně k fylogenetické skupině A (51,5 %), následované skupinami B1 (23,5 %), C (7,4 %), D (13,2 %), G (2,9 %) a E (1,5 %). Nebyly zaznamenány geny pro AmpC-betalaktamázy ani fylogenetická skupina B2. Byl však zachycen izolát nesoucí gen *mcr-1* pravděpodobně asociovaný s plazmidem IncI2. Dominujícím sekvenčním typem byl ST10 (26,5 %), v rámci něhož tvořil výrazný klastér klon ST10-O101:H9, izolovaný z telat napříč farmami původu a ze 2 ošetřovatelů. I další 2 klony detekované u ošetřovatelů (ST34-O68:H30, ST1202-O7:H7) byly sdíleny s telaty. Několik dalších izolátů představovalo potenciální zoonotické patogeny, ať už ExPEC (ST117, ST88, ST69) nebo STEC/aEPEC (shigatoxigenní/atypické enteropatogenní); především 3 izoláty ST21-O26:H11 (*stx1/2* + lokus LEE), 5 izolátů ST29-O70:H11 (LEE) a 1 izolát ST657 (*stx1* + *stx2*). Zatímco na některých farmách výrazně dominoval pouze jediný ESBL-produkující klon, jiné klonální line byly široce rozšířeny napříč farmami (zmíněné ST10, ST34); tyto genotypy představují vysoce úspěšné kolonizátory zvířat i lidí. Kolonizace lidí v úzkém a pravidelném kontaktu se zvířaty je proto vysoce pravděpodobná a hospodářská zvířata mohou být významným rezervoárem mobilních genetických elementů nesoucích geny pro ESBL-betalaktamázy a jiné rezistenční geny pro lidskou populaci.

Potenciální markery rezistence k metronidazolu a molekulární charakterizace jednobuněčného parazita *Giardia intestinalis*.

(Potential markers of metronidazole resistance in the single-celled parasite *Giardia intestinalis* from tertiary care hospital outpatients in the Czech Republic.)

A. Perglerová¹, I. Zicklerová², V. Korenková¹, E. Nohýnková¹, F. Stejskal^{1,3,4}, P. Tůmová¹

¹Ústav imunologie a mikrobiologie, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Studničkova 7, Praha 2

²Oddělení klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Bulovka, Budínova 2, Praha 8

³Klinika infekčních nemocí, 2. LF UK a Fakultní nemocnice Bulovka, Budínova 2, Praha 8

⁴Infekční oddělení Krajské nemocnice Liberec, Husova 10, Liberec

Metronidazol (MTZ) působí na spektrum anaerobních patogenů od bakterií až po eukaryotické parazity, včetně prvoka *Giardia intestinalis*. Navzdory dlouholetému a rozšířenému používání MTZ, mechanismus selhání léčby giardiózy a rezistence k MTZ není zcela znám. V období 2020-2023 bylo sledováno 75 případů giardiózy, z nichž u 28 % případů došlo k selhání léčby (G-TF). Studovaná kohorta pacientů z Fakultní nemocnice Bulovka zahrnovala navrátilivší se cestovatele, tak i pacienty s obtížemi při léčbě. Většina případů ve studované kohortě byla importována (65/75; 86,7 %). U *Giardia intestinalis* je rozeznáváno osm genetických skupin (A-H) nazývaných asambláže. Genotypizace ukázala, že dominantní genetickou skupinou byla asambláž B (57/75; 87,7 %) nad A (8/75; 12,3 %). G-TF byla převážně spojena s asambláží B, přičemž 80 % případů patřilo k sub-asambláži BIII. Všechny případy G-TF byly importované, z toho téměř 60 % pocházelo od cestovatelů vracejících se z Indie. Tyto výsledky zdůrazňují význam asambláže B v rezistenci k MTZ a naznačují zvýšené riziko nákazy MTZ-rezistentními kmeny giardií na Indickém subkontinentu.

K ověření hypotézy, že rezistence je geneticky podmíněná/spojená s přenosným genotypem, byly zkoumány genetické polymorfismy sdílené ve vzorcích *Giardia* G-TF u vybraných genů zapojených do metabolismu a detoxikace MTZ (*NR1*, *NR2*, *prx1*, *hmp*). Dysfunkční nitroreduktázy byly navrženy jako potenciální přispěvatelé k rezistenci vůči MTZ, resp. citlivosti vůči MTZ u giardií, případně jako markery rezistence. Analýza odhalila specifické aminokyselinové záměny v nitroreduktázách u izolátů pacientů s G-TF, které mohou ovlivňovat strukturu a funkci proteinu. Dále byl testován vliv počtu kopií genu v rezistenci k léčivům v důsledku genových duplikací nebo delecí genu pro flavohemoprotein (*hmp*). Výsledky digitální PCR ukázaly rozdíly v počtu kopií genu *hmp* mezi sub-asamblážemi BIII a BIV, také byl zjištěn rozdíl v počtu kopií *hmp* s ohledem na selhání léčby giardiózy.

Selekce lytických bakteriofágů specifických k patogenním ptačím kmenům *Escherichia coli*

Karel PETRZIK, Michal KREJČÍ, Petr STOLÁŘ

*Biologické centrum AV ČR, České Budějovice, EMEDIS s.r.o., Červený Kostelec, PTÁČY s.r.o.,
Valašská Bystřice*

Viry jsou nejstarším a nejpočetnějším biologickým objektem na Zemi, který se stal neoddělitelnou součástí všech vyšších forem života – bakterií, hub, rostlin, živočichů i člověka. S většinou svých hostitelů žijí viry v rovnováze a jen zřídka jim způsobují nějakou újmu. V mikrosvětě můžeme jejich přirozenou funkci interpretovat jako agens udržující biologickou rovnováhu.

Avian-pathogenic *Escherichia coli* (APEC) je nejběžnější akutní i oportunní bakterióza u drůbeže s vysokou mortalitou (až 20 %), způsobující řadu onemocnění, které snižují dosaženou hmotnost, zvyšují konfiskaci na jatkách a snižují snůšku (až o 20 %). Zdrojem této infekce jsou násadová vejce (a jejich matky), v chovech pak kontaminace prostředí, vody nebo okolní akutně nemocná zvířata. Navíc, APEC představují i zoonotické riziko pro člověka. Standardně se přítomnost APEC potlačuje vakcinací nebo preventivním podáním antibiotik, přibývají však bakteriální kmeny rezistentní k antibiotikům.

Hledali jsme proto biologickou alternativu ochrany výkrmové drůbeže místo preventivně podávaných antibiotik proti 43 českým kmenům APEC.

Našli jsme spot testováním na měkkém agaru přes 80 lytických bakteriofágů, mezi nimi širokospektré fágy lyzující 38, 37, nebo 35 z 43 kmenů *E. coli*, ale i vysoce specifické fágy lyzující jen 1, 2, nebo 3 kmeny. Těchto 80 bakteriofágů bylo možné seskupit do 16 skupin fágů s podobným spektrem hostitelů. Z nich byla vybrána kombinace 4 bakteriofágů tak, aby společně co nejúčinněji a nejrychleji lyzovaly libovolný český kmen APEC a současně nedovolily, aby vznikly bakterie rezistentní k použitým bakteriofágům. Tato směs fágů aplikovaná v pitné vodě **by mohla být** používána jako základní prostředek pro prevenci rozvoje kolibacilóz v chovech drůbeže.

Bakteriofágy použité pro optimální směs byly sekvenovány a jejich genom byl anotován.

Projekt BiomGuard - bezplatné sledování klonality gramnegativních bakterií v intenzivní péči a v zařízeních dlouhodobé péče

Vladislav Raclavský, Regina Bezděková Fillerová, Taťána Štosová, Milada Spáčilová

Ústav mikrobiologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

Institute of Applied Biotechnologies a.s., Olomouc

V roce 2022 jsme provedli jednoleté sledování klonality gramnegativních bakterií v intenzivní péči FN Olomouc, které ukázalo jednoznačnou souvislost mezi klonálním šířením a ESBL fenotypem u enterobakterií. U nejčastější *Klebsiella pneumoniae* se ESBL fenotyp vyskytoval u 58 % klonálních izolátů oproti 27 % u unikátních izolátů. Nejintenzivnější klonální šíření bylo na jednotce NIP/DIOP s dlouhodobě hospitalizovanými pacienty. U čtyř ESBL+ klonů šlo o dlouhodobé outbreaky nízké intenzity (8 až 12 měsíců), které nelze rozpoznat klasickými epidemiologickými metodami. Na základě našich dat vyslovujeme hypotézu, že stoupající prevalence multirezistentních izolátů má svá hlavní ohniska v zařízeních dlouhodobé péče. Popis a identifikace cest přenosu na základě systematického sledování klonality může být potřebným základem pro cílenější protiepidemická opatření založená na datech, která mohou redukovat problém rostoucí rezistence k antimikrobním látkám.

Díky finanční podpoře z OP TAK (EU), projekt BiomGuard, plánujeme skrininkové sledování klonality kultur gramnegativních tyčinek získaných v rámci rutinní diagnostiky od pacientů z intenzivní péče a od klientů zařízení dlouhodobé péče. Služba bude prováděna bezplatně na základě rámcové smlouvy, výsledky posouzení klonality budou poskytovány obratem. Významné klony budou rovněž podrobeny celogenomovému sekvenování pro verifikaci výsledků a poskytnuty odborné komunitě pro dlouhodobá epidemiologická sledování.

Využití služby je otevřeno zdravotnickým zařízením a zařízením dlouhodobé péče, která projeví zájem a mohou poskytnout živé kultury bakterií (materiál a transport jsou hrazeny projektem). Bližší informace na www.typingforlife.com.

Spolufinancováno EU, BiomGuard, CZ.01.01.01/01/22_002/0000715

Dynamika kolonizace mlád'at racků bělohavých rezistentními kmeny *Escherichia coli*

Michaela Růžičková^{1,2,3}, Kristína Nešporová¹, Jana Palkovičová^{1,3}, Šimon Krejčí²,
Ivan Literák^{1,2}, Monika Dolejská^{1,2,3,4}

¹*Středoevropský technologický institut, Veterinární univerzita Brno*

²*Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, Fakulta veterinární hygieny a ekologie,
Veterinární univerzita Brno*

³*Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň*

⁴*Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Ústav laboratorní medicíny,
Fakultní nemocnice Brno*

Geny antimikrobiální rezistence se mezi bakteriemi šíří zejména konjugací plazmidů. Na přenos rezistentních bakterií má vliv prostředí, lidé, ale také volně žijící zvířata, např. migrující ptáci, kteří jsou schopni je přenášet na velké vzdálenosti po celém světě. Studie zkoumá výskyt *Escherichia coli* rezistentní k cefalosporinům a šíření plazmidů nesoucích geny rezistence v experimentální studii racků bělohavých. Během experimentu bylo pět nelétavých mlád'at umístěno na 12 týdnů do voliéry a vzorkováno v pravidelném intervalu dvou týdnů. Byla provedena selektivní kultivace získaných kloakálních stěrů na půdě s cefotaximem, a vybrané rezistentní izoláty byly podrobeny celogenomovému sekvenování s cílem získat jejich genomická data. Data poukazují na změny v zastoupení jednotlivých kmenů včetně jejich přenosu mezi jednotlivými ptáky. V počátku experimentu byli čtyři raci kolonizováni sekvenčním typem *E. coli* ST11893 s genem *bla_{CMY-2}* kódujícím AmpC beta-laktamázu a neseným na F plazmidu. Jen jeden jedinec byl kolonizován ST11138, který nesl gen *bla_{CTX-M-1}* lokalizovaný na epidemickém IncI1/ST3 plazmidu kódujícím gen pro produkci kolicinu. V dalších odběrech izoláty s F plazmidem postupně vymizely a plazmid IncI1/ST3 se rozšířil i do jiných sekvenčních typů. Během posledních odběrů začala míra kolonizace racků rezistentními kmeny *E. coli* postupně klesat. Dle výsledků se rezistentní bakterie vyskytují ve střevě racků dostatečně dlouho na to, aby se mohly dále šířit do prostředí a být poté pozřeny dalšími jedinci. Mezi jedinci také dochází k výměně rezistentních kmenů, což může vést k dalšímu šíření plazmidů, které následně přispívají ke vzniku nových klinicky relevantních linií *E. coli*. Dynamika kolonizace hostitelů konkrétními bakteriálními kmeny by tedy měla být dále intenzivně studována.

Výskyt antimikrobiální rezistence ve vodním prostředí ČR

Mgr. Kateřina Sovová, Ph.D.¹, Mgr. Štěpánka Šabacká²,
RNDr. Hana Zvěřinová Mlejnková, Ph.D.²

¹Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v.v.i., pobočka Brno

²Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, v.v.i., Praha

Antimikrobiální rezistence (AMR) se stala světovou hrozbou, která výrazně ovlivňuje léčbu infekcí. Tato problematika nicméně není omezena pouze na oblast klinické medicíny, ale významnou úlohu v šíření AMR hraje vodní prostředí.

V rámci naší studie byla zjišťována citlivost kmenů *Escherichia coli* izolovaných z povrchových a odpadních vod na vybraná antibiotika (cefuroxim, cefotaxim, cefepim, gentamicin, sulphamethoxazol/trimethoprim, fosfomycin, nitrofurantoin a meropenem). V části vzorků analyzovaných v rámci screeningu *EIONET WG on AMR in surface waters* byly izoláty *E. coli* orientačně testovány i na produkci širokospektrých beta-laktamáz (ESBL). Ke stanovení citlivosti na antibiotika i stanovení ESBL byla použita kultivační disková difuzní metoda. Kmeny *E. coli* s prokázanou rezistencí byly pozorovány téměř ve 100 % testovaných vzorků. Nejvyšší podíly rezistentních kmenů *E. coli* byly zjištěny pro gentamicin, naopak nejméně často byla detekována rezistence k nitrofurantoinu a meropenemu. Prokázán byl také výskyt multirezistentních kmenů a kmenů s produkcí ESBL.

Výsledky našeho screeningu potvrzují, že výskyt AMR ve vodním prostředí není výjimečný a je nutno se této problematice podrobněji věnovat. Pravidelný screening vodního prostředí může přinést informace o trendech ve výskytu a šíření AMR, což je důležité zejména v souvislosti se snahami o snížení zdravotních hrozeb způsobených AMR.

Mikrobiologický screening- klíčový nástroj pro detekci karbapenem rezistentních kmenů gram negativních bakterií v nemocničním prostředí

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

*Klinická mikrobiologie a ATB centrum, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky,
Všeobecná fakultní nemocnice v Praze*

Úvod

Jedním z největších problémů péče o pacienty v nemocničním prostředí je zvyšující se gramnegativních tyčinek. Správně provedený mikrobiologický screening se tak stává velmi důležitým nástrojem k detekci multirezistentních kmenů. Každé nemocniční zařízení by mělo mít přesně vypracovaný algoritmus mikrobiologického screeningu.

Metody

Byla vypracována retrospektivní studie mikrobiologických validních vzorků pacientů VFN v letech 2022, 2023 a 2024 (leden až září). Byla spočítána data jak u českých obyvatel tak u cizinců.

Výsledky

Za rok 2022 bylo celkem detekováno 79 karbapenem rezistentních enterobakterií, z toho 14 % bylo zachyceno u cizinců a 86 % u českých obyvatel. Z 11 karbapenem rezistentních enterobakterií u cizinců produkovalo karbapenemázu 73 % enterobakterií. Ze 68 karbapenem rezistentních enterobakterií u českých obyvatel produkovalo karbapenemázu jen 28 % enterobakterií. V následujícím roce bylo v naší laboratoři zachyceno 125 karbapenem rezistentních enterobakterií, z nichž 8% bylo zachyceno u cizinců a 92 % u českých obyvatel. Z 24 karbapenem rezistentních enterobakterií u cizinců produkovalo karbapenemázu 62 % enterobakterií, Ze 101 karbapenem rezistentních enterobakterií u českých obyvatel produkovalo karbapenemázu jen 38 % enterobakterií. Za rok 2024 od ledna do září bylo zachyceno celkem 62 karbapenem rezistentních enterobakterií, z toho 15% bylo zachyceno u cizinců a 85 % u českých obyvatel. Z 9 karbapenem rezistentních enterobakterií u cizinců produkovalo karbapenemázu 89 % enterobakterií. Z 53 karbapenem rezistentních enterobakterií u českých obyvatel produkovalo karbapenemázu 70 % enterobakterií.

Závěr

Vzhledem k našim výsledkům byl poměr producentů karbapenemázy u obyvatel ČR nižší než u cizinců. V letech 2022 a 2023 se počet gramnegativních enterobakterií produkujících karbapenemázu zvýšil z 27 na 54. V roce 2024 od ledna do září se počet gramnegativních enterobakterií produkujících karbapenemázu snížil na 45. Mikrobiologický screening je jednoduchý, levný a nezbytný nástroj pro zachycení multirezistentních kmenů.



Zavedení metody pro identifikaci antibiotických adjuvans mezi sekundárními metabolity rostlin

Špaček Jan, Anna Ludvíková, Křížkovská Bára, Lipov Jan, Viktorová Jitka

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav biochemie a mikrobiologie, Technická 3, Praha 6, prokesoj@vscht.cz

Antibiotická rezistence je závažným problémem moderní medicíny. Konvenční antibiotika ztrácí na účinnosti a objev nových látek je v nedohlednu. Jedním z alternativních přístupů k řešení tohoto problému je kombinace antibiotika s antibiotickým adjuvans, látkou, která potlačuje bakteriální rezistenci, a zvyšuje tak účinnost antibiotika. V této práci jsme zavedli a ověřili metodu pro identifikaci zmíněných adjuvans. V rámci práce jsme se soustředili na sekundární metabolity rostlin, které jsou z hlediska adjuvantních účinků stále neprozkoumané. Metoda využívá knihovny geneticky modifikovaných (transformovaných) kmenů *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*, které disponují jediným, známým genem rezistence, což umožňuje jeho podrobné zkoumání. Metoda zavedená v této práci je založena na mikrodiluční metodě a umožňuje vysokokapacitní testování látek pro jejich adjuvantní účinky. Metodu se podařilo ověřit čtyřmi komparátory (publikovaná či klinicky využívaná adjuvans) a následně bylo testováno 66 sekundárních metabolitů rostlin jakožto potenciálních inhibitorů 24 mechanismů rezistence. Byly identifikovány inhibitory několika enzymů, které jsou zodpovědné za rezistenci k aminoglykosidovým, polymyxinovým, ale i dalším antibiotikům. Zavedená metoda může výrazně zjednodušit výzkum a vývoj nových antibiotických adjuvans.

Práce byla financována Národním institutem virologie a bakteriologie (Program EXCELES, Project ID No. LX22NPO5103) – Financováno Evropskou Unií - Next Generation EU.

Antibiotická rezistence a struktura populace izolátů *F. psychrophilum* v České republice

Věra Vaibarová^{1,2*}, Stanislava Králová³, Miroslava Palíková^{4,5}, Jana Schwarzerová^{6,7,8},
Julie Nejezchlebová⁶, Darina Čejková⁶, Alois Čížek¹

¹Ústav infekčních chorob a mikrobiologie, Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární univerzita Brno, ČR; ²Oddělení infekčních chorob a preventivní medicíny, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno, ČR; ³CEITEC VFU, Veterinární univerzita Brno, ČR;

⁴Ústav ekologie a chorob zoonoz, zvířat, ryb a včel, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, ČR

⁵Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita Brno, ČR

⁶Ústav biomedicínského inženýrství, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Vysoké učení technické v Brně, ČR

⁷Ústav funkční a evoluční ekologie, Přírodovědecká fakulta, Vídeňská univerzita, Vídeň, Rakousko

⁸Ústav klinické a molekulární patologie a lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Ostrava, ČR

Flavobacterium psychrophilum patří mezi ekonomicky nejzávažnější patogeny ryb. Jeho kontrola se opírá zejména o antibiotickou terapii; to však nevyhnutelně vede k rozvoji rezistence.

Tato práce se proto zaměřila na testování účinnosti 8 antimikrobiálních látek běžně používaných v akvakulturách proti souboru 70 izolátů *F. psychrophilum* izolovaných v ČR mezi lety 2012-2019 za použití standardní mikrodiluční metody v bujónu. Dále byly izoláty typizovány metodou Multiplex PCR (mPCR) sérotypizace a Multi-Locus Sequence Typing (MLST).

Výsledky ukazují, že vysoké procento izolátů je rezistentní k enrofloxacinu (100.0 %), flumechinu (90.0 %), oxytetracyklinu (88.6 %) a kyselině oxolinové (75.7 %). Všechny izoláty klasifikované jako citlivé k oxytetracyklinu vykazovaly minimální inhibiční koncentraci (MIC) na hranici citlivosti. Testování sulfametoxazol-trimetoprimu ukázalo rezistenci u 32.9 % izolátů, testování erytromycinu pouze u 4.3 %. Aktuálně celosvětově první volbou při terapii flavobakterií je florfenikol, k němuž bylo v této práci rezistentních 15.7 %. Nicméně 44.3 % izolátů vykazovalo MIC na hranici citlivosti, podobně jako tomu bylo u oxytetracyklinu. Tato data naznačují, že brzy lze očekávat rozvoj rezistence k těmto látkám. Výsledky mPCR odhalily dominanci typu 1 (61,4 %) a 2 (32,9 %), odpovídajících sérotypům Fd a Th. Podobná distribuce sérotypů je typická pro země severní Evropy. MLST analýza odhalila 12 sekvenčních typů (ST), z toho 7 nově popsanych. Jelikož tyto ST dosud nebyly popsány v jiných částech světa, jedná se pravděpodobně o endemické typy České republiky. Data z MLST i mPCR ukazují změny v zastoupení ST/sérotypů v průběhu času, v nichž největší roli pravděpodobně hraje introdukce z externích zdrojů. Touto cestou do chovů ČR pravděpodobně pronikl i kmen ST92 rezistentní ke kyselině oxolinové a oxytetracyklinu, který se v posledním desetiletí rozšiřuje ve Švédsku.

Naše zjištění zdůrazňují nutnost sledování klonů *F. psychrophilum* v rámci jednotlivých zemí i mezi nimi pomocí nástrojů, jako je MLST a sérotypizace.

Expozice rezistentních patogenů netermálnímu plazmatu zvyšuje účinnost antibiotik

Eva Vaňková^{1,2}, Anna Machková¹, Vladimír Scholtz¹

¹Ústav fyziky a měřicí techniky, Vysoká škola chemicko-technologická Praha, Technická 5,
166 28 Praha 6

²Ústav biotechnologie, Vysoká škola chemicko-technologická Praha, Technická 5,
166 28 Praha 6

Riziko úplného selhání antibiotické léčby nebezpečných patogenů, predikované Světovou zdravotnickou organizací (WHO) do roku 2050, představuje jednu ze zásadních obav nejen pro celé zdravotnictví, ale také pro širokou odbornou veřejnost. Netermální plazma (NTP) je významný a dobře prostudovaný antimikrobiální agens fyzikálního původu s širokospektrální účinností. Vzniká ionizací okolního plynu (nejčastěji He, Ar nebo vzduch), nejčastěji pomocí elektrického výboje. Jedná se o soubor nabitých a neutrálních částic, s velmi bohatou chemií, způsobenou vysoce energetickými elektrony. Vzhledem k velice nízké hmotnosti elektronů, zůstává makroskopická teplota plynu nízká, blíží se okolnímu prostředí. Hlavním mechanismem antimikrobiálního účinku NTP je generování vysokého množství reaktivních kyslíkových a dusíkových částic (RONS). O tomto účinku NTP existuje celá řada vědeckých publikací, které jednoznačně potvrzují, že NTP je schopno inhibovat bakteriální i další patogeny, včetně eliminace tvorby biofilmu. Antimikrobiální účinnost však závisí na použitém zařízení generujícím NTP, pracovním plynu či expozičních časech. Publikace zabývající se předběžným ošetřením patogenů NTP a následnou aplikací antibiotik vznikají převážně až v posledních letech a prozatím jich je jen velmi málo. Z výsledků naší pracovní skupiny i dalších kolegů z oboru však vyplývá, že NTP pretreatment patogenů, jako je methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa*, významně potlačuje antibiotickou rezistenci při následné léčbě. Tento způsob využití NTP v medicíně se tedy zdá být velmi slibný a zaslouží si zvýšenou pozornost a další experimentální studie, aby bylo možno ho efektivně aplikovat v praxi.

Možnosti detekce a odstranění genů antibiotické rezistence v čistírnách odpadních vod

Lucie Řepečká^{a,b}, Jan Bednárek^a, Tereza Stachurová^c, Anna Gavlová^a, Kateřina Smutná^a, Jana Vaštyl^a, Ivan Koutník^a, Martina Vráblová^{a,*}

^a VSB-Technical University Ostrava, CEET, Institute of Environmental Technology,
17. listopadu 15, Ostrava 70800, Czech Republic

^b VSB-Technical University Ostrava, Faculty of Materials Science & Technology,
17. listopadu 15, Ostrava 70800, Czech Republic

^c University of Ostrava, Faculty of Science, Department of Biology and Ecology,
Chittussiho 10, Ostrava 710 00, Czech Republic

Produkce odpadních vod se v průběhu času celosvětově zvyšuje s rostoucí populací, zlepšováním zásobování vodou, vyšší životní úrovní a ekonomickým růstem. Odpadní voda je zdrojem znečištění, které je potřeba efektivně odstraňovat, aby vyčištěná voda mohla dále plnit funkci v krajině a současně nebyla rizikem pro ekosystémy. Čistírny odpadních vod (ČOV) odstraňují z odpadních vod kontaminující látky a suspendované částice. V moderní době se však setkáváme s novými typy mikropolutantů, kterými mohou být například léčiva (včetně antibiotik) a jejich metabolity, pesticidy či mikroplasty, které mohou čistírnami odpadních vod procházet dále do recipientů a šířit se tak v životním prostředí. Relativně málo prozkoumaným polutantem s vysokou hrozbou pro životní prostředí a lidskou populaci se staly geny antibiotické rezistence (ARG), které byly v odpadní vodě z ČOV detekovány. Jsou proto hledány způsoby, jak bakterie nesoucí ARG ve vodě inhibovat či je úplně eliminovat. K tomuto účelu by mohly být využity některé iontové kapaliny (organické soli s nízkou teplotou tání) mající antimikrobiální účinky. Pro prvotní testy byl povrch granulovaného aktivního uhlí, které se používá pro adsorpci polutantů z vod, impregnován iontovými kapalinami TEGO® 662C (Evonik Industries, Německo) a TEDA (vlastní syntéza). U obou vzorků byla studována schopnost inhibovat bakterie (modelový *Bacillus subtilis* a z ČOV izolované kmeny *Aeromonas* sp. obsahující geny antibiotické rezistence), a současně odstraňovat organické kontaminanty z vod. Impregnované uhlí vykazovalo pozitivní účinek na inhibici růstu bakterií ve vodě a mohlo by proto být využíváno k dočištění odpadní vody opouštějící ČOV.

Tato práce vznikla za podpory projektu REFRESH – Research Excellence for REgion Sustianability and High-tech Industries, reg.č. CZ.10.03.01/00/22_003/0000048 je spolufinancován Evropskou unií z operačního programu Spravedlivá transformace. Experimentální výsledky byly získány s využitím velké výzkumné infrastruktury ENREGAT, podporované MŠMT, č. projektu LM 2023056.

Nanomateriály na bázi oxidu titaničitého: Inovativní přístup v boji proti bakteriální rezistenci

Nora Witkovská¹, Daniel Kuropata¹, Kristýna Šmerková¹

¹Ústav chemie a biochemie, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00, Brno

Antibiotická rezistence představuje celosvětový problém, který komplikuje léčbu přetrvávajících bakteriálních infekcí u lidí i zvířat a zároveň ztěžuje odstraňování patogenních mikroorganismů z různých zdrojů, jako jsou potraviny a voda. S nástupem éry nanotechnologií se nanomateriály ukázaly jako efektivní řešení pro výzvy v medicíně, technologiích i globálních problémech, včetně boje proti antibiotické rezistenci.

Nanočástice na bázi oxidu titaničitého vynikají díky svým výjimečným vlastnostem, jako je nízká toxicita, dobrá chemická stabilita a silné fotokatalytické vlastnosti, které vyvolávají oxidativní stres. Oxid titaničitý se vyskytuje ve třech odlišných krystalických formách: brookit, anatas a rutil. Každá z těchto forem má odlišné fyzikálně-chemické vlastnosti, které přispívají k jeho antimikrobiální aktivitě a činí jej slibnou alternativou ke konvenčním antimikrobiotikům.

Cílem této studie bylo prozkoumat vztah mezi antimikrobiální aktivitou a různými strukturami nanočástic titanu a rozdílech v účinnosti při různých koncentracích. Prostřednictvím charakterizace nanočástic pomocí rastrovací elektronové mikroskopie a následnými analýzami jak na planktonních buňkách gramnegativních a grampozitivních bakterií, tak i na biofilmu, byla stanovena antibakteriální aktivita jednotlivých struktur při různých koncentracích. Významná antimikrobiální aktivita napříč všemi koncentracemi byla pozorována po aplikaci nanočástic na bázi oxidu titaničitého zejména proti grampozitivním planktonním buňkám *Staphylococcus aureus* kde inhibice dosahovala 90 %, a také jeho meticilín-rezistentnímu kmenu (MRSA) kde inhibice dosahovala až 94 %. Naopak v případě gramnegativní bakterie *Escherichia coli* nebo biofilmu, který byl produkován kulturou MRSA, nebyla potvrzena stejná úroveň účinnosti. Další ověření pomocí fluorescenční mikroskopie potvrdilo, že tyto nanočástice mají velký potenciál jako antimikrobiální činidlo v průmyslu a zdravotnictví, zvláště pro eradikaci grampozitivních bakterií. Navíc je lze kombinovat s jinými antibakteriálními látkami, což může vést k efektivnějšímu boji proti bakteriální rezistenci.

Baktérie odolné voči antibiotikám u voľne žijúcich vtákov naprieč Palearktídou

Lucia ZELINOVÁ^{1,2}, Hassan TARABAI^{3,4}, Lenka DAVIDOVÁ GERŽOVÁ³, Iva SUKKAR³,
Michaela RŮŽICKOVÁ^{1,3}, Tomáš NOHEJL^{1,3}, Rainer RAAB⁵, Marek DOSTÁL¹,
Hynek MATUŠÍK⁶, Igor KARYAKIN⁷, Mykola SKYRPAN⁸, Ivan LITERÁK^{1,3},
Monika DOLEJSKÁ^{1,2,3,9}

¹ Ústav biologie a chorob voľne žijúcich zvierat, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, VETUNI Brno, ČR; ² Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, ČR; ³ Středoevropský technologický institut, VETUNI Brno, ČR; ⁴ Středoevropský technologický institut, Masarykova Univerzita, ČR; ⁵ Technická kancelář pro biologii Mag. Dr. Rainer Raab, Deutsch-Wagram, Rakousko; ⁶ Březolupy, ČR; ⁷ Sibecocenter, LLC; Novosibirsk, Rusko; ⁸ Ukrajinské centrum výzkumu dravců a Západoukrajinská ornitologická společnost, Lvo; Ukrajina; ⁹ Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Ústav laboratorní medicíny, Fakultní nemocnice Brno, ČR

Voľne žijúce vtáky sú známe tým, že slúžia ako prenášače aj rezervoáre baktérií rezistentných voči antibiotikám (ARB). Cieľom tejto štúdie bolo zhodnotiť prevalenciu a genetickú výbavu enterobaktérií, ktoré sú odolné voči klinicky významným antibiotikám, u divokých dravcov.

V rokoch 2018 až 2022 sme odobrali 863 vzoriek kloakálnych výterov od dravcov, predovšetkým od haje červenej (*Milvus milvus*) a haje tmavej (*Milvus migrans*) (n=756), v rôznych krajinách Palearktu: Česko (n=470), Nemecko (n=116), ázijská časť Ruska (n=133), Rakúsko (n=52), Španielsko (n=51), Slovensko (n=17), Ukrajina (n=13) a Maďarsko (n=11). Rezistentné kmene Enterobacterales sme izolovali selektívnou kultiváciou na médiách obsahujúcich cefotaxim (CEF), ciprofloxacín (CIP), kolistín (COL) alebo meropenem (MER). Následne sme tieto izoláty podrobili PCR skríningu na prítomnosť génov antibiotickej rezistencie a celogenómovému sekvenovaniu pomocou technológie Illumina.

Získali sme celkovo 185 izolátov, ktoré niesli relevantné gény rezistencie na antibiotiká. Medzi nimi bolo 135 izolátov *Escherichia coli* a 50 izolátov iných druhov Enterobacterales (hlavne *Klebsiella spp.* a *Proteus spp.*). Konkrétne, 107 izolátov kultivovaných na CEF obsahovalo gény pre širokospektrálne beta-laktamázy (69 izolátov), a to najmä *bla*_{CTX-M-14/15}, AmpC enzým (29 izolátov), prevažne *bla*_{CMY-2}, a jeden izolát nesúci karbapenemázový gén *bla*_{OXA-244}. Okrem toho, izoláty získané na CIP (n=93) vykazovali plazmidom sprostredkovanú rezistenciu voči chinolónom, kde dominovali gény *qnrS1*, *qnrB* a *qnrD*, spolu s génom *oqxAB*. V troch izolátoch kultivovaných na médiu s COL bol detegovaný gén *mcr-1*. Naša kolekcia izolátov *Escherichia coli* vykazovala vysokú fylogenetickú diverzitu, reprezentovanú 79 rôznymi sekvenčnými typmi (ST), pričom najčastejší bol ST10 (9 %).

Relatívne častý výskyt ARB u hají si vysvetľujeme ich potravnou stratégiou. Jedná sa o dravce, ktoré sú oportunisticky nekrofágne a často sa priživujú aj na skládkach komunálnych odpadov, kde sa môžu stretnúť s odpadovými produktmi živočíšneho, ako aj humánneho pôvodu, ktoré sú rizikové z hľadiska prítomnosti ARB a predstavujú zdroj transferu nebezpečných baktérií do

prostředí, včetně odlehčených přírodních oblastí.
