



SBORNÍK ABSTRAKTŮ

Konference 19. a 20. listopadu 2025

Hotel Continetal, Brno

Antibiotická rezistence v ČR: jak společně zastavit nezastavitelné



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 ministra zemědělství - Antibiotická rezistence v ČR: Jak společně zastavit nezastavitelné?

Vážení čtenáři, vážené kolegyně a kolegové,

je mi ctí, že mohu prostřednictvím tohoto úvodního slova a své záštity podpořit důležitou konferenci o antibiotické rezistenci, která se stala významnou platformou pro sdílení poznatků a zkušeností v oblasti jednoho z největších zdravotnických, ale i společenských problémů současnosti.

Antibiotická rezistence je fenomén, který ohrožuje nejen zdraví lidí, ale i zvířat a životního prostředí. Její dopady přesahují hranice jednotlivých oborů i států. Právě proto je nezbytné, abychom k tomuto tématu přistupovali komplexně a s vědomím, že zdraví lidí, zvířat a ekosystémů je vzájemně propojeno.

Ministerstvo zemědělství si plně uvědomuje svou odpovědnost v této oblasti. V posledních letech jsme ve spolupráci s odborníky, Státní veterinární správou a dalšími partnery dosáhli významných úspěchů – například v podobě výrazného snížení spotřeby antimikrobik v chovech hospodářských zvířat. Přesto však zůstává mnoho výzev, které vyžadují naši pozornost, inovace a mezioborovou spolupráci.

V současnosti připravujeme novou Strategii Národního antibiotického programu do roku 2031, která staví na principech odpovědného používání antimikrobik, prevence šíření rezistence a podpory výzkumu i vzdělávání. Jsem přesvědčen, že právě propojení odborníků z různých oblastí, sdílení dat a zkušeností a otevřený dialog jsou klíčem k úspěchu v boji proti antibiotické rezistenci. Děkuji všem, kteří se na přípravě této konference podílejí, i všem účastníkům za jejich práci, nasazení a ochotu hledat společná řešení. Věřím, že akce bude cenným zdrojem inspirace a podnětů pro další odbornou i praktickou činnost.

Přeji vám všem mnoho úspěchů a sil do další práce.

S úctou

Marek Výborný
ministr zemědělství

Antibiotická rezistence v ČR: jak společně zastavit nezastavitelné



Partneři konference:



CHEMAGAZÍN



right solutions.
right partner.



Dr.Max⁺

ABSTRAKTY PŘEDNÁŠEK

(řazeno dle programu a sekce)

Společenské a systémové aspekty antibiotické rezistence

Za hranice biomedicíny: Sociální rozměry užívání a preskripce antibiotik

doc. PhDr. Mgr. Jaroslava Hasmanová Marhánková, Ph.D.

Univerzita Karlova

Cílem přednášky je ukázat, jak mohou sociální vědy obohatit pohled na antibiotickou rezistenci a přispět k hledání řešení, která přesahují hranice biomedicíny. Představíme také možnosti interdisciplinární spolupráce mezi sociologií a medicínskými obory, jež otevírají prostor pro hlubší porozumění dynamice užívání antibiotik.

Co může pro snižování ATB rezistence udělat praktický lékař?

MUDr. Ludmila Bezdíčková

Praktická lékařka, Katedra všeobecného praktického lékařství IPVZ

Antibiotická rezistence je vážnou hrozbou moderní společnosti a vyžaduje koordinovaný přístup napříč obory. Praktický lékař k jejímu snižování přispívá cílenou antibiotickou terapií, přesnou diagnostikou, racionální preskripcí, edukací pacientů a podporou prevence. Klíčové jsou jednotné doporučené postupy a jejich dodržování.

Surveillance AMR v nemocnicích, podklady pro boj s AMR

MUDr. Jan Kubele^{1,2}

¹*Nemocnice Na Homolce, Praha*

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

Antimikrobiální rezistence (AMR) představuje jednu z největších hrozeb pro moderní medicínu a účinná surveillance je klíčovým nástrojem jejího zvládnutí. Nejde přitom pouze o sledování multirezistentních mikroorganismů, ale i o systematické monitorování klíčových fenoménů

rezistence, zejména tam, kde jsou dostupné zdroje omezené. Cílená surveillance umožňuje rychlou detekci změn v epidemiologii patogenů a slouží jako nástroj „early warning“ systému, který podporuje zavádění preventivních opatření – od standardních po specifická izolační opatření.

Praktické zkušenosti z Nemocnice Na Homolce ukazují, že i v podmínkách omezených kapacit lze díky analýze laboratorních a klinických dat efektivně reagovat na vznik nových hrozeb. Příkladem je fenomén šíření *Candida auris*, který se nově objevil také v České republice a vyžaduje vysokou míru pozornosti a koordinovanou reakci.

Za minimální standard kontinuální surveillance v nemocnicích lze považovat sledování infekcí krevního řečiště (BSI), které představují nejzávažnější stavy s vysokou morbiditou i mortalitou a mohou být následkem komunitních i nozokomiálních infekcí, včetně HAI. V tomto kontextu je zásadní evropský projekt Electronic Health Record (EHR)-based Bloodstream Infections (BSI), jehož cílem je harmonizovaná surveillance krevních infekcí napříč státy EU. V příspěvku budou prezentována první data z pilotní nemocnice v ČR, která ilustrují možnosti využití tohoto systému v praxi.

Dne 6. 11. proběhne setkání se zástupci ECDC a konsorcia projektu, v příspěvku budou představeny aktuální výstupy a další směřování. Do projektu je v současnosti aktivně zapojeno 19 států EU a dalších 7 má status pozorovatelů. Tyto aktivity představují významný krok k posílení koordinace surveillance AMR a k posílení připravenosti evropských zdravotnických systémů čelit rostoucí hrozbě rezistence.

Legislativní praxe v oblasti nakládání s čistírenskými kalý - opomíjené riziko pro veřejné zdraví

Ing. Ladislava Matějů

Státní zdravotní ústav

Příspěvek poukazuje na vědomý nesoulad mezi platnými právními předpisy a vědeckými poznatky o rizicích spojených využíváním čistírenských kalů. Změny limitních hodnot mikrobiologických ukazatelů ve vyhlášce upravující aplikaci kalů na zemědělskou půdu, vedly k oslabení ochrany veřejného zdraví a životního prostředí a ČR se zařadila mezi státy s nejliberálnějšími limity v EU.

Antibiotická rezistence v ČR: jak společně zastavit nezastavitelné



Zdroje, osud a výskyt ATB ve vodách: ČR v porovnání se světem

doc. Mgr. Roman Grabic, Ph.D.

Jihočeská univerzita

Pro antibiotika bylo popsáno několik cest, kterými se dostávají do životního prostředí a potažmo do povrchových vod, kde mohou ovlivňovat mikrobiom. Situace v ČR, kde je použití ATB silně regulováno, v kombinaci s převážně centralizovaným čištěním odpadních vod, je odlišná od zemí třetího světa. V přednášce bude ukázán osud a rizikovost výskytu ATB v recipientech znečištění na několika reálných příkladech.

Přístupy a strategie v boji proti AMR

Organická syntéza přírodních látek jako nástroj proti antibiotické rezistenci

Mgr. Ondřej Kováč, Ph.D

Univerzita Palackého v Olomouci

Organická syntéza přírodních látek nabízí klíč k novým antibiotikům a jejich analogům. Přednáška ukáže, proč jsou přírodní produkty zásadní inspirací pro vývoj léčiv, jak totální syntéza umožňuje přístup k unikátním molekulám a jak tyto strategie mohou podpořit hledání účinných řešení antibiotické rezistence.

Steroidní hormony – nové terapeutické strategie při bakteriálních infekcích

Brdová Daniela¹, Křížkovská Bára¹, Špaček Jan¹, Jablonská Eva¹, Kudová Eva²,
Viktorová Jitka^{1*}

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

²*Ústav organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky, Praha*

Globální nárůst rezistence vůči antibiotikům vyžaduje nové terapeutické strategie pro léčbu infekčních onemocnění. Inhibice bakteriálních efluxních pump, které přispívají k rezistenci vůči více antimikrobiálním látkám, je slibným přístupem k obnovení nebo dokonce zvýšení účinnosti stávajících antibiotik. Pomocí kombinace měření akumulace ethidium bromidu, mikrodiluční metody a šachovnicových testů jsme testovali 26 endogenních steroidních hormonů a neurosteroidů spolu s 30 syntetickými deriváty na jejich schopnost zvýšit citlivost na antibiotika u multirezistentního kmene *S. aureus*. Strukturálně-aktivitní vztah (SAR) odhalil sloučeniny 13 a 16 jako vedoucí struktury se silnou inhibiční aktivitou efluxních pump a významným snížením MIC pro ciprofloxacin a erythromycin. Obě sloučeniny vykazovaly aditivní účinky v šachovnicových testech. Modifikace na C-3 a C-17 byly identifikovány jako nezbytné pro silnou inhibici efluxní pumpy a senzibilizaci na ciprofloxacin a erythromycin.

Analýza transkriptomu odhalila, že sloučenina 16 významně snižovala expresi genů podílejících se na virulenci *S. aureus*, když byla podávána samostatně nebo jako adjuvans v kombinaci s antibiotickou terapií. Test cytotoxicity v lidských PBMC a testy transaktivace hormonální aktivity zprostředkované receptory potvrdily, že nejaktivnější deriváty byly netoxické a neměly měřitelnou endokrinní aktivitu, což naznačuje příznivý farmakologický bezpečnostní profil. Tyto výsledky podporují hypotézu, že racionálně navržené steroidní kostry, zejména deriváty na bázi

pregnanolonu, mohou působit jako kompetitivní inhibitory bakteriálních efluxních pump. Takové sloučeniny mohou sloužit jako účinná antibiotická adjuvans, která nabízí schůdnou strategii ke zmírnění rezistence zprostředkované efluxem a ke zvýšení terapeutické užitečnosti stávajících antibiotik.

Tato práce byla podpořena Technologickou agenturou České republiky, Národním centrem kompetence – Personalizovaná medicína: Od translačního výzkumu k biomedicínským aplikacím (TN02000109) a projektem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky pro projekt Talking Microbes – porozumění mikrobiálním interakcím v rámci rámce One Health (CZ.02.01.01/00/22_008/0004597).

Léčba rezistentních infekcí bakteriofágy v České republice – první zkušenosti a budoucnost

Milan Buňata¹, Jan Kýr¹, Martin Benešík¹ Michal Holub², Ondřej Beran²

¹FAGOFARMA s.r.o., Praha

²Ústřední vojenská nemocnice Praha

Infekce způsobené multirezistentními bakteriemi představují zásadní klinickou výzvu, zejména u pacientů s opakovanými chirurgickými výkony a rozsáhlými alergiemi na antibiotika. V roce 2024 byla v rámci spolupráce Ústřední vojenské nemocnice Praha, společnosti FAGOFARMA a Ministerstva zdravotnictví ČR poprvé v České republice realizována systémová aplikace bakteriofágů. U pacientky s dlouhodobě recidivující MRSA spondylodiscitidou s vyčerpanými možnostmi antibiotické terapie, byl na základě in-vitro testů vybrán specifický bakteriofágový kmen a FAGOFARMA připravila léčivou látku. Po schválení individuální žádosti MZ ČR byla zahájena intravenózní fágová terapie, která probíhala v kombinaci s linezolidem. Léčba byla dobře snášena a bez nežádoucích účinků. Kontrolní vyšetření potvrdila úplnou regresi zánětlivého procesu a pacientka zůstává v dobrém klinickém stavu bez nutnosti další antibiotické léčby.

Tento případ ukazuje potenciál fágové terapie jako doplňku či alternativy u vysoce rezistentních infekcí. Současně byly v ČR zahájeny první systematické kroky k jejímu širšímu využití – vznikla pracovní skupina při MZ ČR, která připravuje legislativní a metodické rámce. Diskutuje se vytvoření národního centra pro fágovou terapii, které by umožnilo koordinované zavádění léčby na vybraných klinických pracovištích. Prezentace shrne dosavadní zkušenosti, proces výroby a schvalování i perspektivy dalšího rozvoje této inovativní metody.

Pokročilé materiály v medicíně: přístup k řešení antimikrobiální rezistence

Daniela Plachá^{1,2}, Jakub Zágora^{3,4}, Barbora Hermanová^{3,4}, Kateřina Škrlová³

¹*Výzkumné energetické centrum, CEET, VŠB-Technická univerzita Ostrava, Ostrava- Poruba*

²*Katedra chemické biologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci,*

³*Centrum nanotechnologií, CEET, VŠB-Technická univerzita Ostrava, Ostrava- Poruba*

⁴*Fakulta materiálově-technologická VŠB-Technická univerzita Ostrava, Ostrava- Poruba*

Antimikrobiální rezistence (AMR) představuje jednu z vážných výzev současné medicíny, která ohrožuje účinnost antibiotické léčby a bezpečnost pacientů. V době, kdy se možnosti farmakologické intervence zužují, nabývají na významu alternativní přístupy, mezi nimiž hrají klíčovou roli pokročilé materiály s antimikrobiálními účinky. Problematika AMR však přesahuje hranice medicíny. Tyto materiály tak nacházejí uplatnění i v oblasti životního prostředí, například při prevenci biofoulingu ve vodních systémech, v dezinfekčních prostředcích a ochranných površích a povlacích v potravinářství či při čištění odpadních vod. Antimikrobiální a antifoulingové vlastnosti materiálů tak představují univerzální nástroj v boji proti mikrobiálnímu šíření napříč obory.

Tato přednáška nabídne přehled inovativních materiálových řešení — od nanomateriálů s cílenou antimikrobiální aktivitou po bioaktivní polymery a povrchové úpravy nejen zdravotnických pomůcek, ale i povrchů používaných v různých aplikacích. Bude zaměřena na principy účinku těchto materiálů, jejich schopnost inhibovat růst mikroorganismů, narušovat biofilmy a snižovat riziko nozokomiálních infekcí. Budou představeny možné konkrétní aplikace v medicínském, environmentálním či potravinářském prostředí, jako jsou antimikrobiální katétry, stenty, obvazy, implantáty, sorbenty či dezinfekční povrchy. Diskutovány budou také výzvy spojené s implementací těchto technologií — od biokompatibility a regulací po ekonomické aspekty.

V přednášce budou prezentovány vybrané výsledky vlastního výzkumu, které byly zaměřeny na přípravu nanomateriálů, polymerních kompozitů a nanokompozitů, či polymerních materiálů s antimikrobiálními účinky napodobující přírodní peptidy s antimikrobiálními účinky a které ilustrují možnosti využití pokročilých materiálů v praxi.

Studie byla podpořena projektem OP ST MŽP REFRESH - Research Excellence For REgion Sustainability and High-tech Industries, CZ.10.03.01/00/22_003/0000048 a projektem OP JAK „Pokročilé materiály pro energetické a environmentální aplikace“, CZ.02.01.01/00/23_021/0008592.



Má smysl bojovat s antibiotickou rezistencí?

prof. Ing. Jaroslav Hrabák, Ph.D.

Biomedicínské centrum Lékařské fakulty v Plzni Univerzity Karlovy

Antibiotika a mikrobi spolu pravděpodobně koexistují desítky milionů let, možná i déle. Nástup rezistence v souvislosti s jejich masivním používáním v klinické praxi není proto překvapivý. V přednášce budou zmíněny přístupy k potlačení antibiotické rezistence, ale i způsoby alternativního boje s infekcemi, např. antivirulenční strategie.

Antimikrobiální rezistence ve veterinární praxi, potravinách a potravinových doplňcích

Rezidua pod kontrolou: jaké jsou trendy, výsledky a zkušenosti z veterinárního dozoru

MVDr. Veronika Vlasáková

Ústřední veterinární správa Státní veterinární správy, oddělení bezpečnosti potravin

Přednáška představí vývoj a současnou podobu kontroly reziduí veterinárních léčiv v potravinách živočišného původu, jak ji provádí Státní veterinární správa. Účastníci se seznámí s aktuálními trendy v kontrolní činnosti, typy vzorků, cílovými látkami a metodami výběru. Zvláštní pozornost bude věnována výsledkům kontrol a zkušenostem z terénu při šetření nevyhovujících nálezů.

Spotřeby antimikrobik u hlavních potravin produkujících druhů zvířat

Mgr. Lucie Pokludová, Dr.

Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv

Napadlo vás někdy nad propečeným vepřovým, drůbežím či hovězím masem, zda zvířata, ze kterých ta pěkná porce pochází, byla nemocná? A léčí se také antibiotiky? Ano, i zvíře, když je nemocné, musíme léčit. Z nemocného zvířete nikdo porci na talíř nechce. A léčíme moc, či málo? Napoví data o používání antimikrobik: v České republice je již čtvrtstoletí sbíráme a vyhodnocujeme. Pozitivní zprávou je, že u zvířat spotřeby antimikrobik dlouhodobě klesají.

Bakteriální infekce sladkovodních ryb, zhodnocení stavu antimikrobiální rezistence v ČR

prof. MVDr. Alois Čížek, CSc.

Veterinární univerzita Brno

Akvakultura celosvětově přispívá k vzestupu AR používáním antimikrobiálních látek k léčbě ryb. V podmínkách ČR původci bakteriálních infekcí tržních ryb nepředstavují pro člověka zoonotické riziko, takže stav jejich antibiotické rezistence má dopad především na ekonomiku produkce. Závažnější je situace u akvariálních ryb, které jsou dováženy často ze zemí s nekontrolovaným použitím antimikrobik.

Střevní mikroflóra a cílená selekce nových probiotických kultur jako alternativa k podávání antibiotik

prof. RNDr. Ivan Rychlík Ph.D.

Oddělení mikrobiologie a antimikrobiální rezistence, Výzkumný ústav veterinárního lékařství

Střevní mikroflóra teplokrevných živočichů včetně člověka je tvořena přibližně tisícovkou různých bakteriálních druhů. Po pochopení funkcí jednotlivých druhů lze skoro o každém z nich uvažovat jako o potenciální probiotické kultuře, která se v mnoha případech, nikoli však vždy, dá použít jako alternativa k antibiotikům.

Role prostředí v evoluci a šíření AMR

Rezidua a rezistence vůči antibiotikům v půdě: pilotní studie po podání kriticky významných antibiotik zvířatům

Mgr. Šárka Poláková, Ph.D.

Vedoucí Oddělení půdy a lesnictví, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

Na základě jednoho z úkolů AP NAP „Antimikrobiální rezistence v půdě“ je řešena problematika výskytu genů rezistentních k antibiotikům a reziduí těchto antibiotik podávaných v chovech hospodářských zvířat, a to v řetězci farma – (zraní mrvy) – půda. V rámci úkolu byla pozornost zaměřena na chov prasat (kolistin), chov brojlerů (enrofloxacin), chov skotu (tulathromycin) a chov krůt (enrofloxacin, kolistin).

Interakce půdního a fekálního mikrobiomu skotu na rezistom pastevní půdy

RNDr. Dana Elhottová, Ph.D.

Ústav půdní biologie a biogeochemie Biologického centra AV ČR, v. v. i.

Příspěvek mapuje potenciální rizika spojená s šířením genů zodpovědných za rezistenci k antibiotikům (ARG) a jejich bakteriálních přenašečů prostřednictvím exkrementů skotu pod antibiotickou profylaxí do zemědělské půdy a otvírá diskuzi nejen o rizicích, ale i o udržení zdraví a úrodnosti zemědělských půd.

Možnosti horizontálního přenosu genů antibiotické rezistence v pěstování plodin - One Health EJP FED-AMR

Marta Kořínková¹, Zdislava Drahošová¹, Ladislava Matějů¹, Martina Štěpánková¹,
Magdaléna Zimová¹

¹*Státní zdravotní ústav, Praha*

Antimikrobiální rezistence je komplexní problematika. Mezinárodní projekt OHEJP FED-AMR: The role of free extracellular DNA in dissemination of antimicrobial resistance over ecosystem boundaries along the food/feed chain, který byl součástí výzkumných aktivit v rámci One Health EJP, mapoval možnosti horizontálního přenosu genů antibiotické rezistence napříč ekosystémy

v potravním řetězci, zejména s pěstováním plodin. Projektu se účastnily evropské státy - Rakousko, Estonsko, Velká Británie, Irsko, Norsko, Portugalsko a ČR.

Každý ze států sledoval osudy možných vstupů kontaminantů do zemědělské půdy při pěstování plodin. V ČR byly sledovanými plodinami brukev řepka olejka hnojená kejdou, pšenice hnojená kejdou a pšenice hnojená anorganickým hnojivem. Přehled vstupů souvisejících s vnosem a přenosem ARG byl sledován v 11 kompartmentech (matrice půda, voda, plodiny, hnojiva, kejda, krmivo a exkrementy). Vzorkování probíhalo během 4 ročních období, která jsou typická pro ČR v závislosti na vegetačním období.

Projekt skončil v roce 2022, výstupní data jsou však nadále vyhodnocována. Z výstupů vyplývá, že žádný z datových souborů samostatně nemá vypovídací hodnotu. Klasické kultivační techniky pro selekci rezistentních mikroorganismů omezují úhel pohledu na kultivovatelné mikroby, nabízejí však rychlý a ekonomicky dostupný přehled. Metagenomická surová data jsou získána relativně rychle, zásadní problém představuje následná analýza dat, která vyžaduje značnou míru zkušeností a kvalifikované pracovníky. Analýza reziduí antibiotik ve vzorcích zemin je závislá na povaze vzorků. Výstupem projektu bylo zpracování metodiky analýzy UHPLC-MS/MS pro 5 tříd antimikrobiálních látek (makrolidy, florochinolony, tetracykliny, sulfonamidy, diaminopyrimidiny). Dopad aplikace anorganických hnojiv a kejdy na zastoupení kovů v půdě a plodinách byl publikován v roce 2025. Ze 17 sledovaných kovů se jeví jako nejvhodnější indikátory vlivu hnojení polí kejdou Cu, Zn a Mn. Aby však mohl být posouzen dlouhodobý dopad hnojení na selekci a přenos ARG mezi půdními organismy, je potřeba integrovat datasety pro kovy, organické polutanty (rezidua antibiotik a pesticidů) s genomickými záchyty ARG.

Realizace projektu FED-AMR, č. JRP15-AMR2.1-FED-AMR, probíhala v letech 2020 až 2022 za finanční podpory One Health European Joint Programme - One Health EJP - Horizon 2020 Grant č. 773830.

Geny antibiotické rezistence v odpadních vodách a jejich šíření do recipientů

Sabina Purkrťová¹, Jana Bartáčková², Jan Bartáček²

¹Ústav biochemie a mikrobiologie, FPBT, VŠCHT Praha,

²Ústav technologie vody a prostředí, FTOP, VŠCHT Praha

Bakterie rezistentní k antibiotikům (ARB) a geny antibiotické rezistence (ARG) se standardně vyskytují v odpadních vodách a následně jsou z čistíren odpadních vod (ČOV) uvolňovány do recipientů (vodní toky, půda, skládky) a tím do životního prostředí. Podle nové EU legislativy Urban Waste Water Treatment Directive (UWWTD 2024/3019) je třeba monitorovat a odstraňovat ARG a ARB v odpadní vodě a tím snížit příspěvek ČOV k jejich šíření v prostředí a expozici lidské populace. Důležité je též používání jednotných metodik detekce a kvantifikace ARB a ARG pro získání výsledků navzájem srovnatelných mezi jednotlivými státy. Vzhledem ke komplexnosti problému včetně technologických a ekonomických limitů je zásadním faktorem pro zavedení co

nejvíce účinných kritérií správná analýza rizika výskytu ARB a ARG v systémech ČOV. Konvenční technologie obecně umí snižovat množství ARB, ale nejsou dostatečně účinné při odstraňování ARG. Naopak nové technologie, účinné pro odstraňování ARG, pak mohou být nákladné. V rámci dlouhodobého výzkumu byly monitorovány čistírenské kaly na 12 ČOV a byla stanovena účinnost různých postupů ošetření čistírenského kalu pro odstranění 10 ARG. Nejvyšší účinnost odstranění byla zjištěna při úpravě sušením a termickou hydrolyzou, kdy bylo dosaženo redukce genů rezistence o 0,5–4,4 log. V další části práce bylo provedeno monitorování ARG v různých částech vodních toků. Bylo zjištěno, že k nárůstu ARG ve vodním toku dochází po odtocích z ČOV, kdy s rostoucím průtokem ve vodním toku dochází pouze k ředění ARG, nikoliv odstranění. Odpadní voda z nemocnice i sídel, přestože je řádně vyčištěna, stále obsahuje ARG, které se dále usazují a kumulují v sedimentech podél toku. Kaly z ČOV, pokud se hojně využívají jako hnojiva, způsobují další šíření ARG i mimo prostředí vodního toku. Znalost ekologie ARB a ARG a jejich dopadu na lidské zdraví a zdraví zvířat je tak zásadní pro správnou analýzu rizik výskytu ARB a ARG v ČOV.

Financování a podpora projektu:

Tato práce byla podpořena z projektů ARGTech - TAČR SS01020112 (2020-2023) a EU4 Health project-EU-WISH (Wastewater Integrated Surveillance for Public Health) (2023-2026).

Antimikrobiální rezistence ve vodním prostředí: aktuální stav a role čistíren odpadních vod při jejím šíření

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) představuje závažnou hrozbu pro veřejné zdraví. Z hlediska jejího výskytu a šíření představuje vodní prostředí důležitý rezervoár rezistentních bakterií (ARB) i genů rezistence (ARG). Čistírny odpadních vod (ČOV), které významně snižují mikrobiální zátěž, však mohou působit jako hotspots selekce a následného šíření AMR do recipientů.

V rámci našeho pilotního výzkumu byly analyzovány vzorky ze tří různě vodních nad a pod ČOV a ze dvou ČOV s kapacitou nad 100 000 EO (přítok a odtok). AMR byla sledována jak s využitím kultivačních technik, tak i pomocí metody qPCR. U izolovaných kmenů *Escherichia coli* (*E. coli*) byla pomocí diskové difuzní metody stanovena citlivost na vybraná antibiotika (cefuroxim, cefotaxim, cefepim, gentamicin, sulfamethoxazol, chloramfenikol, tigecyklin, fosfomycin, nitrofurantoin, meropenem) a sledována produkce širokospektrých beta-laktamáz (ESBL). Přímo ze vzorků vod byla izolována DNA a následně detekovány vybrané ARG (*intI1*, *aadA1*, *ermB*, *tetW*, *sul1*, *blaCTX-M1*, *blaKPC*, *vanA*).

Antibiotická rezistence v ČR: jak společně zastavit nezastavitelné



Výsledky ukázaly, že rezistentní kmeny se vyskytovaly téměř ve všech vzorcích. Nejvyšší podíl rezistence byl zaznamenán vůči gentamicinu, zatímco nejnižší u nitrofurantoinu, meropenemu, tigecyklinu a chloramfenikolu, a to bez ohledu na typ vzorku. Současně byly identifikovány multirezistentní kmeny a producenti širokospektrých beta-laktamáz (ESBL); jejich podíl činil v průměru 1,2 % všech kmenů *E. coli*. V rámci ČOV došlo ke snížení počtu izolátů ESBL-produkujících *E. coli* až čtyřnásobně. Na základě prvotních výsledků se jeví, že u ČOV používající k dočištění UV záření může naopak docházet k mírnému zvýšení jejich abundance. U ARG dominovaly geny *intI1*, *ermB*, *tetW* a *sulI*, přičemž četnost jejich výskytu byla podobná ve všech typech vzorků. Během čištění odpadních vod docházelo k jejich odstraňování ve stejné míře.

Naše výsledky potvrzují významnost vodního prostředí jako rezervoáru AMR a zdůrazňují roli ČOV jako míst, odkud dochází k jejímu šíření do vodního prostředí. Získaná data podtrhují nezbytnost pravidelného monitoringu AMR ve vodním prostředí.

Příspěvek vznikl za podpory projektu SS02030027 Vodní systémy a vodní hospodářství v ČR v podmínkách změny klimatu, SS02030008 Centrum environmentálního výzkumu: Odpadové a oběhové hospodářství a environmentální bezpečnost (CEVOOH) a institucionálních prostředků MŽP na rozvoj výzkumné organizace VÚV TGM, v. v. i.

Epidemiologie a aspekty šíření antibiotické rezistence

**Současné trendy v epidemiologii antimikrobiální rezistence v ČR – humánní medicína
(CPO, ESBL, MRSA, VRE)**

Mgr. Kateřina Chudějová, Ph.D.

Lékařská fakulta v Plzni

Přednáška ukáže, jak v ČR narůstá antimikrobiální rezistence a proč představuje vážnou klinickou i ekonomickou hrozbu. Zaměří se na karbapenem-rezistentní enterobakterie a nefermentující tyčinky (NDM, OXA-48-like, KPC, VIM, IMP), ale také na ESBL, MRSA a VRE, které ohrožují nemocniční i komunitní prostředí.

**Aplikace metod celogenomového sekvenování v rámci monitoringu zoonotických a
komezoonotických bakterií izolovaných z hospodářských zvířat a potravin živočišného původu**

MVDr. Tomáš Černý

Státní veterinární ústav Praha

V České republice se již více než 15 let sledují zoonózy a antimikrobiální rezistence u zvířat i potravin. Přednáška představí, jak tato data pomáhají sledovat potravinový řetězec a naplňovat princip „One Health“ především díky celogenomovému sekvenování, které odhaluje konkrétní geny a mutace zodpovědné za rezistenci a umožňuje tak detailní epidemiologické analýzy.

Extraintestinálně patogenní *Escherichia coli* z infekcí močových cest a bakteriemií: dvouletá česká kohortní studie

Davidová-Geržová, L.^{1,2}, Illíková, V.^{1,3}, Ryšavá, M.^{1,3}, Sukkar, I.^{1,2}, Nešporová, K.⁴,
Dolejská, M.^{1,2,3,5,6*}

¹*Středoevropský technologický institut, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno,*

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

³*Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, Fakulta veterinární hygieny a ekologie,
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno,*

⁴*Department of Biology, KU Leuven, Leuven, Flanders, Belgium*

⁵*Ústav chemie a biochemie, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů,
Mendelova univerzita v Brně,*

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

Extraintestinální patogenní kmeny *Escherichia coli* (ExPEC) mohou způsobovat různá onemocnění, včetně infekcí močových cest (UTI), bakteriémie (BSI) a septikémie, a představují významnou celosvětovou zátěž pro zdravotní systémy. Tyto kmeny jsou často spojovány s geny rezistence a faktory virulence (VF), které jim umožňují kolonizovat různé orgány. Cílem této studie byla komplexní genomová analýza kmenů *E. coli*, které způsobují UTI, BSI nebo urosepsi u pacientů v České republice, se zaměřením na izoláty citlivé (CTX-S) a rezistentní (CTX-R) vůči cefotaximu.

V letech 2022 a 2023 bylo z 10 českých nemocnic sesbíráno celkem 720 izolátů spolu s klinickými daty. Izoláty pocházely od pacientů s UTI (n=346), BSI (n=280) a urosepsi (n=94). Izoláty z UTI a BSI byly zařazeny jako CTX-S (n=355) nebo CTX-R (n=271) a bylo provedeno komplexní genomické porovnání těchto dvou skupin. Všechny izoláty byly podrobeny testování citlivosti na antibiotika, celogenomovému sekvenování a následným bioinformatickým analýzám.

CTX-S izoláty vykazovaly vyšší diverzitu, přičemž převládaly sekvenční typy (ST) 73, ST95, ST141 a ST404, zatímco CTX-R izoláty byly zastoupeny především ST38 a ST131. CTX-S kmeny nesly méně genů rezistence k antibiotikům, ale více faktorů virulence než linie CTX-R. Izoláty z urosepsi se nelišily od izolátů z UTI a BSI a zahrnovaly zejména ST73, ST95 a ST131. Globální analýza odhalila ST404 jako významnou linii spojenou s přítomností mobilních genetických elementů, jako jsou plazmid virulence pUTI89-like (>60 % celosvětově), plazmidy skupiny IncX1, integrony a/nebo transpozony (Tn3, Tn7).

Naše studie zdůrazňuje významné rozdíly v genomových charakteristikách linií CTX-S a CTX-R. Častá přítomnost mobilních genetických elementů podtrhuje potenciální riziko horizontálního přenosu genů rezistence a virulence. Studie rovněž poukazuje na potřebu pokračujícího sledování jak kmenů citlivých, tak rezistentních vůči antibiotikům.

Tento projekt byl financován Agenturou pro zdravotnický výzkum České republiky (projekty NW24-09-00510 a NU22-09-00645).

Genomická epidemiologie aviární patogenní *Escherichia coli* u lidí a drůbeže v České republice

Veronika Illíková^{1,2}, Markéta Stejskalová², Anna Šrámková², Kateřina Chudějová²,
Lenka Davidová-Geržová^{1,3}, Tereza Vojtěchová⁴, Miroslava Šefčíková⁴, Jana Gottwaldová⁵,
Jana Petrželová⁵, Jan Bardoň^{6,7}, Ivana Chytilová⁸, Monika Dolejská^{1,2,3,4,9}

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

²*Oddělení mikrobiologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova,*

³*Středoevropský technologický institut, Veterinární univerzita Brno,*

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

⁵*Oddělení mikrobiologie, Fakultní nemocnice Olomouc,*

⁶*Oddělení mikrobiologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého Olomouc,*

⁷*Státní veterinární ústav Olomouc,*

⁸*Státní veterinární ústav Praha,*

⁹*Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně*

Aviární patogenní *E. coli* (APEC) jsou oportunní patogeny způsobující sekundární infekce u drůbeže. Zoonotické riziko izolátů APEC vychází ze skutečnosti, že lidské a ptačí kmeny mají podobné fylogenetické pozadí, sdílejí některé geny virulence a geny rezistence k antibiotikům. Cílem studie je prozkoumat molekulární epidemiologii kmenů APEC z lidí a drůbeže a určit, které specifické znaky mají společné.

Byl vytvořen soubor humánních izolátů z moči a stolice a veterinárních izolátů z drůbeže. Humánní izoláty byly shromážděny v klinických laboratořích jako citlivé a rezistentní k cefotaximu (2 mg/L). Veterinární izoláty byly selektovány na MacConkeyho agar bez antibiotik a souběžně s cefotaximem pro detekci rezistence k cefalosporinům. Izoláty byly identifikovány MALDI-TOF spektrometrií a selekce izolátů APEC byla provedena multiplexní PCR zaměřenou na pět genů spojených s tímto patotypem. S využitím metody sekvenování celého genomu bylo osekvenováno 130 humánních izolátů APEC, z kterých vychází naše částečná data. Konečným cílem je sekvenace dalších 159 humánních a 292 veterinárních izolátů.

Bylo shromážděno 1584 humánních izolátů *E. coli* a identifikováno 427 izolátů APEC (27 %). Většina pocházela z moči (64 %) a byla citlivá k cefotaximu (70 %). U rezistentních izolátů dominovaly geny rezistence k β -laktamům (89 %), sulfonamidům (44 %) a aminoglykosidům (43 %). U více než 50 % izolátů byly nalezeny ColV plazmidy mající klíčový význam v patogenitě a virulenci APEC.

Z veterinárního sektoru bylo nasbíráno 557 izolátů *E. coli* a identifikováno 292 izolátů APEC (52 %) z čerstvého kuřecího masa, slepého střeva a manžet brojlerů, trusu a stěrů z přepravek nosnic kura domácího. Většina těchto izolátů byla citlivá k cefotaximu (75 %). Disková difúzní metoda MastDiscs odhalila, že 57 % rezistentních izolátů produkuje širokospektré β -laktamázy a 36 % AmpC β -laktamázy.

Mezi izoláty *E. coli* z lidí a drůbeže byl detekován významný podíl kmenů APEC. Pro lepší pochopení molekulární epidemiologie a odhalení sdílených genetických markerů u izolátů z lidí a drůbeže je nezbytná analýza sekvencí celého genomu.

Poděkování patří Agentuře pro zdravotnický výzkum České Republiky (projekt NW24-09-00510 a NU22-09-00645)

Plazmidy: evolúcia antibiotickej rezistencie a šírenie v *One Health* koncepte

Jana Palkovičová^{1,2}, Monika Dolejská^{1,2,3,4,5}

¹*Středoevropský technologický institut, Veterinární univerzita Brno, Brno,*

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

³*Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Brno,*

⁴*Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Brno,*

⁵*Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Ústav laboratorní medicíny, Fakultní nemocnice Brno, Brno*

Plazmidy, ako extrachromozomálne, autonómne molekuly DNA, môžu niesť aj niekoľko génov pre antibiotickú rezistenciu, čím umožňujú prežitie bakteriálnych populácií pri liečbe antibiotikami a rýchlu adaptáciu na prostredie pod selekčným tlakom. V rámci *One Health* konceptu, ktorý sa zaoberá prepojením zdravia ľudí, zvierat a prostredia, sa plazmidy považujú za kľúčové vektory pre šírenie antibiotickej rezistencie medzi jednotlivé sektory. Cieľom tohto príspevku je, na základe našich štúdií, bližšie predstaviť štruktúru plazmidov, horizontálny génový prenos a adaptáciu bakteriálnych populácií nesúcich plazmidy na prežitie v prítomnosti antibiotík.

V našich predchádzajúcich štúdiách sme analyzovali plazmidy, ktoré nesú gény rezistencie voči niekoľkým skupinám antibiotík a prispievajú tak k šíreniu antibiotickej rezistencie. Aj napriek tomu, že plazmidy nesúce gény rezistencie pôsobia na bakteriálneho hostiteľa ako energetická záťaž, vďaka ko-evolúcii sa ich negatívny vplyv na hostiteľa znižuje. V jednej z našich štúdií sme demonštrovali, že plazmidy typu IncF u *Escherichia coli* sekvenčného typu (ST) 131 nespôsobujú detekovateľnú fitness záťaž, čo vedie k ich stabilizácii v populácii a prispieva k úspechu tohto pandemického multirezistentného klonu, zodpovedného najmä za infekcie močových ciest.

Podobné výsledky sme pozorovali u veľkých plazmidov typu IncHI2 kódujúce karbapenamázy. Tieto plazmidy sa vyznačujú vysokou genetickou plasticitou, pri prenose medzi hostiteľmi

Antibiotická rezistence v ČR: jak společně zastavit nezastavitelné



dochádza k zmene ich veľkosti a ko-integrácii s inými veľkými plazmidmi obsahujúcimi gény antibiotickej aj ne-antibiotickej rezistencie či virulénčné faktory. Napriek týmto zmenám zostáva záťaž na hostiteľa rovnaká, čo podporuje adaptáciu baktérií nesúce tieto plazmidy na selekčný tlak a zvyšuje ich schopnosť prežívania medzi bakteriálnymi populáciami.

Výskum bol podporený projektom 24-12527S Grantovej agentury České republiky.

FLASHTALKS

(řazeno abecedně podle jména autora)

Fágy jako léčivé látky pro individuální použití, aneb jak urychlit cestu z výroby k pacientovi

Martin Beneš^{2,3}, Dana Štveráková¹, Tereza Procházková¹, Jan Kýr², Milan Buňata¹, Marek Moša¹

¹MB PHARMA s.r.o., Praha; ²FAGOFARMA s.r.o., Praha; ³Masarykova Univerzita, Brno

Fágová terapie je jednou z možností odpovědi na antibiotickou rezistenci bakterií. Fágy lze použít jako klasický léčivý přípravek, ale je možnost je použít při individuální léčbě v rámci zvláštního léčebného programu. V takové situaci je nutné, aby byla vyrobena léčivá látka, s kterou pak může pracovat například nemocniční lékárna. Taková možnost použití fágů existuje i v některých zemích EU, kde to podporuje legislativa daného státu. V ČR proběhla cílená léčba pomocí fágové léčivé látky letos poprvé díky výjimce ministerstva zdravotnictví.

Individuální použití vyžaduje více kroků od žádosti o výjimku, přes testování citlivosti bakterie k fágům tzn rychlého výběru vhodného fága, výrobu léčivé látky, její kontrolu a přípravu v nemocniční lékárně. Pokud by se měl tento přístup stát rutinní praxí ve vybraných případech, je nutné celý proces co nejvíce urychlit nejen z legislativního hlediska. Existuje několik scénářů, od pozitivního, kdy máme fága ve sbírce jasně definovaného, již vyprodukovaného jako léčivou látku až po variantu, kdy izolovaná bakterie není citlivá k žádnému fágu z naší interní výzkumné sbírky. Na všechny tyto scénáře musí být schopna naše laboratoř i výroba rychle reagovat, a to včetně sekvenace, analýzy genomů a výroby čistého produktu. Proto se snažíme představit kritické body celého procesu a možnosti jejich řešení.

Momentálně jsme schopni fágovou léčivou látku připravit v horizontu dnů až týdnů. Snažíme se celý proces analyzovat, abychom mohli alespoň z hlediska testování a GMP produkce dosáhnout maximální rychlosti od diagnózy po podání fágů pacientovi.

Poděkování za finanční podporu patří projektu FX05030118_7893

Zinek jako skrytý hybatel horizontálního přenosu genů u *Enterococcus faecalis*

Denisa Fenclová¹, Kristýna Číhalová¹, Kristýna Hrazdilová¹, Luděk Žůrek¹

¹Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně

Zinek představuje v zemědělských ekosystémech dlouhodobý a obtížně odstranitelný stresor, který významně ovlivňuje evoluční dráhy bakterií. Vysoké dávky oxidu zinečnatého (ZnO), dříve běžně přidávané do krmiv selat jako prevence průjmů a růstový stimulátor, jsou sice v Evropské unii regulovány, avšak v řadě dalších zemí zůstává tato praxe rozšířená. Přetrvávající zátěž prostředí zinkem tak vytváří podmínky pro rychlejší šíření antimikrobiální rezistence mimo přímý tlak antibiotik.

Modelem naší studie je *Enterococcus faecalis*, který přenáší konjugativní plasmid pCF10. Zatímco za normálních okolností je jeho přenos řízen feromonovou signalizací recipientní buňky, zinkový stres přímo aktivuje celý soubor genů odpovědných za přenos tohoto plasmidu. Díky tomu se donorové buňky stávají citlivějšími na feromonové signály a výrazně efektivněji předávají plasmid recipientům. Tento efekt doprovází i zvýšená buněčná agregace a zesílení biofilmové matrice, což celkově zlepšuje podmínky pro horizontální přenos genů. Nejvýraznější efekt jsme pozorovali při ošetření recipientního kmene, kde došlo k řádovému zvýšení frekvence konjugace.

Výsledky ukazují, že zinek nepůsobí jen jako běžný stopový prvek či růstový stimulátor, ale může významně přetvářet regulační logiku bakteriálních společenství a podporovat horizontální přenos genů rezistence i virulence. V kontextu One Health je proto nezbytné vnímat zinek jako podceňovaného akcelérátora antimikrobiální rezistence a věnovat větší pozornost jeho environmentálnímu dopadu.

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

Identifikace nových mechanismů antibiotikové rezistence

Tamara Kněžová-Balgová, Petra Sudzinová a Libor Krásný

Mikrobiologický ústav AV ČR, Vídenská 1083, Praha

75 % klinicky užívaných antibiotik je přírodního původu nebo odvozeno. Bakterie se s producenty antibiotik setkávají v prostředí po miliony let a musely si vyvinout mechanismy detekce a obrany proti těmto látkám. Řada těchto mechanismů je známa, ale značné množství zůstává neidentifikováno. Detekce dosud nepoznaných mechanismů antibiotikové rezistence je cílem našeho projektu. V prezentaci představíme způsob identifikace proteinů, které bakterie produkuje jako odpověď na přítomnost antibiotika, a následnou analýzu mechanismů rezistence zprostředkovaných těmito proteiny a rovněž regulaci produkce těchto proteinů. Postup bude ilustrován na proteinu HelD, který zvyšuje odolnost bakterie proti rifampicinu, antibiotiku, které inhibuje RNA polymerázu, klíčový enzym transkripce a první krok genové exprese. Získané informace mapují schopnosti bakterií odolávat antibiotikům a mají okamžitou diagnostickou aplikovatelnost.

Tato práce je podpořena projektem Národní institut virologie a bakteriologie (Program EXCELES, č. projektu LX22NPO5103) – Financováno Evropskou unií - Next Generation EU.

Repurposing sulfonamidů jako antifungálních léčiv aneb Starého psa novým kouskům naučíš

Martin Krátký

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Narůstající rezistence mikroorganismů představuje závažnou hrozbu pro veřejné zdraví, což vytváří urgentní potřebu nových léčiv. Systémové mykózy jsou však v porovnání s bakteriálními infekcemi stále přehlíženy, ačkoli jejich závažnost i incidence rostou. Podobně jako u bakterií se kromě náročného vývoje zcela nových molekul uplatňují i alternativní strategie, např. kombinační terapie a repurposing zavedených léčiv.¹

Sulfonamidy jsou nejstarší třídou antimikrobiálních látek, které působí dominantně interferencí s metabolismem folátu. Z klasických 4-aminobenzensulfonamidů považovaných za antibakteriální a antiprotozoální léčiva zůstalo v praxi už jen několik zástupců a v historii nebyly nikdy považovány za typická antimykotika. Používají se jen u specifických houbových infekcích, zejména *Pneumocystis jirovecii*, nicméně recentně se ukazuje, že mají potenciál i v léčbě dalších systémových mykóz, zatím převážně na základě preklinických dat. Výhodou je, že tato léčiva jsou schválená a jednalo by se jen o off-label indikaci.

Mnohé sulfonamidy vykazují přímou *in vitro* antifungální aktivitu, synergii s azoly i polyeny a také interferenci s houbovými biofilmy. Například sulfamethoxazol, složka kotrimoxazolu, má vlastní mírnou aktivitu vůči *Candida albicans* i vysoce chemorezistentní *Candida auris* a v kombinaci s triazolovými antimykotiky vykazuje synergický efekt a obnovu citlivosti u rezistentních kmenů.² Aktivita sulfonamidů a kotrimoxazolu byla popsána i proti aspergilům. Většina těchto výsledků však zatím pochází ze studií *in vitro*.

Na základě těchto slibných výsledků začaly být klasické sulfonamidy chemicky modifikovány za účelem zlepšení farmakologického profilu a studovány jsou i „neklasické“ sulfonamidy, které mohou přinést další zlepšení v terapii systémových rezistentních mykóz. Další výzkum by měl zahrnovat validované *in vivo* modely vč. PK/PD studií, aby bylo možné spolehlivě posoudit účinnost a bezpečnost v léčbě rezistentních houbových infekcí.

1. Niño-Vega, G.A.; et al. *J. Fungi* 2024, 10, 871.

2. Eldesouky, H.E.; et al. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2018, 52, 754.

Adaptivny potenciál a rezistencia *Escherichia coli* ST744

Kristína Nešporová^{1,2}, Bart Steemans¹, Jana Palkovičová^{2,4}, Kristína Krúteková^{3,4}, Alix Meunier¹,
Adam Valček², Sander K. Govers¹, Monika Dolejská^{2,3,4,5,6}

¹Ústav biológie, KU Leuven, Belgicko

²Středoevropský technologický institut, Veterinární univerzita Brno

³Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, Fakulta veterinární hygieny a ekologie,
Veterinární univerzita Brno

⁴Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň

⁵Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Brno

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

Escherichia coli sekvenčný typ (ST) 744 predstavuje globálne rozšírenú zoonotickú líniu, ktorá je spájaná s extraintestinálnymi infekciami a multirezistenciou. V tejto štúdii sme sa zamerali na genotypové a fenotypové charakteristiky, ktoré môžu prispievať k jej úspešnému šíreniu a preživanju v rôznorodých prostrediach.

Fylogeneticky sme analyzovali 913 kmeňov *E. coli* a preverili ich genómy na prítomnosť relevantných genetických markerov. Na komparatívnu genomiku s referenčným kmeňom MG1655 sme vybrali dva kmene ST744, ktoré boli sekvenované technológiou dlhých čítaní. Následne sme fenotypovo charakterizovali 32 kmeňov. Na základe porovnania fenotypových výsledkov s genomickými dátami sme u ďalej vybraných kmeňov hodnotili biologickú zdatnosť. Zamerali sme sa najmä na mechanizmy súvisiace s odolnosťou voči osmotickému stresu a rast v rôznych teplotných podmienkach.

Identifikovali sme dve hlavné skupiny ST744, spojené s dominantnými sérotypmi H9:O101 a H10:O101. Ďalšie analýzy ukázali, že až 96 % kmeňov nieslo gény rezistencie voči minimálne trom triedam antibiotík. Komparatívna genomika odhalila špecifickú variabilnú oblasť, ktorá chýba v genóme MG1655, s génom *betU*, ktorý je pravdepodobne zapojený do osmoprotektívnej funkcie. Okrem toho ST744 obsahovala gény pre *cold-shock* proteíny, ktoré znižujú riziko degradácie RNA pri nízkych teplotách. Fenotypovo sme zaznamenali najvyššiu mieru rezistencie voči tetracyklínom a fluorochinolónom. Rastové krivky ukázali, že prítomnosť *betU* nemá v našich podmienkach signifikantný vplyv na rast v prostredí s vyšším osmotickým stresom. Naopak, *cold-shock* proteíny pravdepodobne prispievajú k zvýšenej tolerancii ST744 voči nízkym teplotám.

Naše zistenia naznačujú, že *E. coli* ST744 disponuje genetickými znakmi, ktoré zvyšujú jej odolnosť voči environmentálnym stresom a podporujú jej prežitie v rôznych prostrediach. Projekt prináša nové poznatky o genetickej diverzite tejto línie, čím prispieva k hlbšiemu pochopeniu mechanizmov jej adaptácie a potenciálu šírenia.

Štúdia bola finančne podporená projektom IGA VETUNI 204/2025/FVHE a grantom Grantovej agentúry Českej republiky 24-12527S.

Charakterizace netyfoidních sérovarů rodu *Salmonella* izolovaných z migrujících luňáků hnědých (*Milvus migrans*)

Veronika Oravcová¹, David Kumprecht¹, Alejandro Onrubia², Rachid El Khamlichi³,
Alois Čížek^{4,5}, Ivan Literák^{1,5}

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

²Bird Migration International Centre, CIMA - Migres Foundation, Tarifa, Spain

³Moroccan Association for the Protection of Birds and Wildlife, Fnideq, Morocco

⁴Ústav infekčních chorob a mikrobiologie, Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární
univerzita Brno,

⁵CEITEC - Středoevropský technologický institut, Veterinární univerzita Brno, Brno

Některé netyfoidní sérovary rodu *Salmonella* (NTS) vykazují rezistenci vůči antibiotikům, těžkým kovům a biocidům, a představují tak hrozbu pro veřejné zdraví.

Tato studie charakterizovala kmeny NTS izolované z volně žijících luňáků hnědých migrujících mezi Evropou a Afrikou. Na podzim 2023 a na jaře 2024 bylo odebráno celkem 469 (Tarifa, Španělsko) a 15 (Jbel Moussa, Maroko) kloakálních vzorků. Po selektivní kultivaci a identifikaci (MALDI-TOF) byla stanovena citlivost vůči antibiotikům. Pomocí celogenomového sekvenování (WGS) byly určeny sérotypy, sekvenční typy, sekvenční typy core genomu (cgMLST) a přítomnost genů virulence a rezistence.

Ve Španělsku bylo získáno 17 izolátů (3,6 %, 17/469) a v Maroku jeden (6,7 %, 1/15). Identifikované sérovary zahrnovaly: *S. Enteritidis* (5), *S. Bredeney* (3), *S. Chester* (2), *S. Typhimurium* (2), *S. Hatfield* (1), *S. Infantis* (1), *S. Newport* (1), *S. Toulon* (1), *S. Poona* (1) a *S. Reading* (1). Všechny izoláty nesly vrozené geny rezistence vůči aminoglykosidům (*aac(6')-Iaa*), geny efluxní pumpy (*mdsA*, *mdsB*) a geny rezistence vůči zlatu/mědi (*golS*, *golT*). Čtyři izoláty navíc obsahovaly získané geny rezistence - tetracyklin – *tet(A)* (n = 3), aminoglykosidy – *aac(3)-IIa* (1), *ant(3')-Ia* (1), *aadA1* (1), *aadA2* (1), β-laktamy – *bla_{TEM-1A}* (1), *bla_{CTX-M55}* (1), fosfomycin – *fosA* (1), trimethoprim – *dfrA14* (1), sulfonamidy – *sulI* (1), chloramfenikol – *cmlA1* (1). U jednoho izolátu byla prokázána rezistence vůči chinolonům způsobená bodovými mutacemi v genu *gyrA*. Získaná rezistence vůči těžkým kovům a biocidům byla detekována u tří izolátů, a to prostřednictvím genů *sil* (měď/stříbro), *pco* (měď), *mer* (rtuť), *ars* (arsen) a *quac* (biocidy). V každém izolátu bylo detekováno 80 až 117 genů virulence.

Zjištěná přítomnost multirezistentních kmenů NTS u migrujících luňáků hnědých naznačuje, že tito dravci mohou přispívat k mezikontinentálnímu šíření antibioticky rezistentních salmonel. Pro lepší porozumění jejich dopadům na veřejné zdraví je nezbytné další sledování a výzkum.

Tento výzkum byl finančně podpořen projektem ITA VETUNI 2025ITA23.

Komparativní genomika izolátů *Escherichia coli* ST131 humánního, veterinárního a environmentálního původu pocházejících z České republiky

Michaela Růžičková^{1,2,3}, Ivana Karola¹, Tomáš Nohejl^{1,2}, Iva Sukkar¹, Jana Palkovičová^{1,3}, Ivo Papoušek², Max Cummins⁴, Steven Djordjevic⁴, Monika Dolejská^{1,2,3,5,6}

¹Středoevropský technologický institut, Veterinární univerzita Brno, Brno,

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

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

⁴Australian Institute for Microbiology and Infection, University of Technology Sydney, Sydney

⁵Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně,

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

Escherichia coli a její multirezistentní sekvenční typy (ST) patří mezi mimořádně úspěšné původce infekcí, které významně přispívají k morbiditě, mortalitě a šíření antibiotické rezistence. Jedním z nejrozšířenějších klonů s klinickým významem jsou pandemické extraintestinální kmeny ST131, které způsobují nozokomiální infekce u lidí, infekce u zvířat a jsou schopny se šířit napříč různými prostředími. Cílem studie bylo prozkoumat genetickou strukturu rozsáhlé sbírky ST131 z hlediska přítomnosti genů antibiotické rezistence, virulence a plazmidů. Byla provedena analýza příbuznosti izolátů z různých zdrojů, která zároveň umožnila jejich zařazení do fylogenetických skupin A, B, C0, C1 a C2.

V rámci studie bylo provedeno celogenomové sekvenování 898 izolátů ST131 získaných z lidí ($n = 713$), prostředí ($n = 139$), volně žijících zvířat ($n = 32$), hospodářských a domácích zvířat ($n = 14$), sesbíraných v České republice v letech 2009–2021. Bylo prokázáno, že 72,4 % izolátů neslo variantu genu *bla*_{CTX-M} kódujícího rezistenci k cefalosporinům bez ohledu na původ nebo fylogenetickou skupinu izolátu. Většina izolátů spadala do skupiny C (804/898), přičemž skupina C1 (262/898) byla asociována s genem *bla*_{CTX-M-27} a skupina C2 (528/898) s genem *bla*_{CTX-M-15}. V rámci fylogenetické skupiny C1 byla pozorována vysoká míra příbuznosti mezi izoláty humánního původu a těmi z divokého ptactva a odpadních vod. Stejný trend byl zaznamenán i u skupiny C2, a to mezi izoláty získanými z lidí a odpadních vod. Byla detekována také přítomnost rozličných epidemiologicky významných IncF plazmidů, a to bez ohledu na příslušnost k fylogenetické skupině.

Naše analýzy ukazují na vysokou fylogenetickou příbuznost mezi izoláty ST131 pocházejícími z různých zdrojů, a to zejména ve skupinách C1 a C2, a zdůrazňují tak nutnost provádění komplexních výzkumů v rámci konceptu Jednoho zdraví. Zjištění také vyzdvihují důležitost studií zaměřených na dosud málo prozkoumané oblasti a potvrzují globální význam těchto bakterií v kontextu hrozby antibiotické rezistence.

Projekt byl podpořen grantem Grantové agentury České republiky (24-12527S).

Postery

(řazeno abecedně dle autora)

Bakteriální fosfotransferázový systém (PTS) jako předchůdce multidoménového enzymu rifampicin fosfotransferázy

Šárka Bobková¹, Michaela Plechatá², Petra Sudzinová¹, Tamara Knežová Balgová¹,
Zdeněk Kameník², Libor Krásný¹, Jana Wiedermannová¹

¹Laboratoř mikrobiální genomiky a genové exprese, Mikrobiologický ústav AVČR, Praha

²Laboratoř antibiotické rezistence a mikrobiální metaboliky, Mikrobiologický ústav AVČR,
Praha

Jedním ze způsobů obrany bakterií proti antibiotikům je chemická modifikace antibiotika, která zabráni jeho vazbě do cílového místa. Bakterie takto reagují na přítomnost antibakteriální látky pomocí modifikujících proteinů. Ty se většinou v průběhu evoluce vyvinuly z enzymů základního metabolismu, s původně odlišnou buněčnou funkcí. Pochopení této evoluce a vzniku modifikujících enzymů může pomoci předpovědět nové mechanismy obrany bakterií proti antibiotikům a předcházet jim. Předchůdci modifikujících enzymů pak mohou sloužit jako případné druhé cílové místo nových léčiv, obdobně jako je tomu u β -laktamových antibiotik podávaných společně s inhibitory β -laktamázy.

Jedním z příkladů možné evoluce modifikujících enzymů je enzym rifampicin fosfotransferáza (RPH), který je schopný účinně fosforylovat antibiotikum rifampicin a tím znemožnit jeho vazbu na cílové místo – RNA polymerázu. RPH je multidoménový enzym. Jeho domény jsou strukturně podobné jednotlivým enzymům bakteriálního fosfotransferázového systému (PTS), který je primárně zodpovědný za transport cukrů. Na základě této strukturní podobnosti lze předpokládat, že RPH se mohl vyvinout z jednotlivých proteinů fosfotransferázového systému, které sloužily jako základ pro jeden specializovaný multidoménový enzym. Na posteru budou prezentovány naše výsledky podporující evoluční hypotézu a bude dále diskutována možnost, že PTS byl předchůdcem RPH.

Tato práce byla podpořena z grantu GAČR č. 24-10700S.

Zvyšující se záchyt vankomycin rezistentních enterokoků z klinického materiálu

Tereza Cigánková¹, Eva Krejčí^{1,2}, Linda Stryjová¹, Pavlína Štefančíková¹, Petra Kuchejdová^{1,2}

¹Antibiotické středisko, Centrum klinických laboratoří, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

²Lékařská fakulta Ostravské univerzity

Podávání antibiotik významně zvyšuje riziko výskytu multirezistentních kmenů v klinickém materiálu i riziko vzplanutí infekce, která bude kvůli předchozí antibiotické léčbě způsobena multirezistentními bakteriemi. Jedněmi ze sledovaných jsou i enterokoky rezistentní k vankomycinu (VRE). Rezistence k vankomycinu se téměř výhradně týká druhu *Enterococcus faecium*, kde lékem první volby pro infekce způsobené *E. faecium* bývá právě vankomycin.

Ze sledování výskytu *E. faecium* VRE v klinickém materiálu za posledních 5 let je zřejmé, že nejen významně narostl počet VRE kmenů, ale rozšířilo se i spektrum klinického materiálu, odkud je VRE zachycen. Dříve se jednalo především o záchyty v souvislost s katetrizací močových cest, postupně se však objevují i izoláty související se zavedenou drenáží po břišních operacích nebo záchyty z hemokultur. Selektce enterokoků jako původců infekce, které jako takové nemívají nejvyšší patogenní potenciál, může souviset i s nadužíváním a prodlužováním terapie karbapenemy, které nejsou vždy vhodnými léky pro léčbu enterokokových infekcí obecně.

Vliv modrého světla na antimikrobiální účinky vybraných rostlinných extraktů

Lucie Černá (1), Marta Limido (2), Petra Lovecká (1), Fabrizio Bolognese (2), Viviana Teresa Orlandi (2)

1. Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha, CZ
2. Department of Biotechnologies and Life Sciences, University of Insubria, Varese, IT

Stále rostoucí rezistence patogenních bakterií vůči tradičním antibiotikům vyžaduje hledání alternativních terapeutických přístupů. Mezi potenciálně vhodnou patří foto-antimikrobiální metody, zejména antimikrobiální fotodynamická terapie (aPDT) a antimikrobiální působení modrého světla (aBL).

V této studii jsme zkoumali nový foto-antimikrobiální přístup, který kombinuje působení modrého světla (380–430 nm, 0,537 mW/cm²) s 20 rostlinnými extrakty získanými z šesti druhů rostlin: *Rosmarinus*, *Cupressus*, *Viola*, *Betula*, *Platanus* a *Ficus*.

Antibakteriální aktivita extraktů (250 µg/mL) byla hodnocena proti modelovým grampozitivním (*Bacillus subtilis*) a gramnegativním (*Escherichia coli*) mikroorganismům. Životaschopnost bakterií byla stanovena počítáním kolonií (CFU/mL) pomocí drop testu a spread testu. Účinnost byla porovnávána mezi vzorky udržovanými ve tmě a těmi, které byly po dobu 3 hodin vystaveny modrému světlu.

Výsledky potvrdily selektivní účinnost některých extraktů proti grampozitivním bakteriím. Některé extrakty vykazovaly vlastní antimikrobiální aktivitu, která byla dále zesílena po ozáření modrým světlem.

Tato zjištění jsou základem pro vývoj nových foto-antimikrobiálních terapií proti infekčním onemocněním.

Poděkování: Finanční podpora projektu č. TN02000044.

Antimikrobiální aktivita biosyntetizovaných nanočástic vůči ESKAPE patogenům

Dangová Bao Ngoc, Michailidu Jana

Ústav biotechnologie, Vysoká škola chemicko-technologická Praha

Využití nanočástic kovů k inhibici mikrobiálního růstu je na vzestupu. Stříbrné nanočástice mají antimikrobiální účinky, které z nich činí užitečné nástroje v boji proti patogenním mikroorganismům. Kvůli finančním i ekologickým dopadům tradičních chemických a fyzikálních metod syntéz nabývají na významu procesy, které využívají biologické činitele. Tyto metody využívají rostlinné materiály nebo extrakty, bakterie, houby a řasy. Tato diplomová práce se zaměřuje na zkoumání účinnosti stříbrných nanočástic syntetizovaných pomocí ethanolového extraktu z homogenizovaných částí technického konopí (lat. *Cannabis sativa*). Antimikrobiální aktivita nanočástic je testována vůči vybraným patogenům ze skupiny ESKAPE: gramnegativní bakterie *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* a grampozitivní *Enterococcus faecium*. Zkoumán je inhibiční účinek nanočástic stříbra stanovením minimální inhibiční koncentrace, dále je sledován jejich baktericidní účinek a vliv na metabolickou aktivitu buněk biofilmu.

Jak selenoestery navrací citlivost k aminoglykosidům u rezistentních kmenů *S. aureus*

Michal Dvořák¹, Jan Špaček¹, Guglielmo Tedeschi², Enrique Domínguez Álvarez², Jan Lipov¹,
Jitka Viktorová¹, Petra Lipovová¹

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

²Instituto de Química Orgánica General (IQOG-CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Boj proti bakteriálním infekcím, jako jsou infekce MRSA, je jednou z hlavních priorit Světové zdravotnické organizace (WHO). Současná léčba, která využívá antibiotika jako β -laktamy, vankomycin či aminoglykosidy, ale čelí rostoucí míře selhávání kvůli rychlému šíření antibiotické rezistence. Staronový přístup s názvem adjuvantní terapie si klade za cíl tento problém řešit. Spočívá totiž v kombinaci antibiotika s látkou zvanou adjuvans, která sama o sobě není toxická, ale blokuje specifický mechanismus rezistence, čímž navrací rezistentnímu kmeni citlivost k antibiotiku. Dosud se adjuvantní terapie zaměřovala především na inhibici β -laktamas. Náš výzkum se ale soustředí na nalezení nových adjuvans pro aminoglykosidová antibiotika. Testování ukázalo, že selenoesterové sloučeniny mají aditivní účinek s tobramycinem proti kmenům MRSA. Analýza geneticky upravených kmenů *E. coli* kódujících jednotlivé aminoglykosid-modifikující enzymy ze *S. aureus* potvrdila, že selenoestery skutečně obnovují citlivost k tobramycinu cílením na tyto faktory rezistence. Na izolovaných enzymech modifikujících aminoglykosidy AAC(6')/APH(2'') a ANT(4') byl poté popsán mechanismus inhibice a stanoveny inhibiční konstanty selenoesterů. Následné testování rovněž odhalilo, že tyto látky působí aditivně s aminoglykosidy také vůči dalším bakteriálním kmenům, jako například *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* či *Acinetobacter baumannii*. Schopnost inhibovat rezistenci k aminoglykosidům spolu s dobrou prostupností buněčnými membránami dělá ze selenoesterů slibné kandidáty pro budoucí adjuvantní terapii.

Tato práce byla podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky projektem Talking Microbes – porozumění mikrobiálním interakcím v konceptu One Health (CZ.02.01.01/00/22_008/0004597).

Multirezistentní *Pseudomonas aeruginosa*: zkoumání adjuvantních strategií k překonání antibiotické rezistence

Anna Fiedler¹, Michal Dvořák¹, Jan Špaček¹, Petra Lipovová¹, Jan Lipov¹, Jitka Viktorová¹

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

Antibiotická rezistence je jednou z největších výzev současné medicíny. Jedním z mechanismů antibiotické rezistence je produkce destruktas – enzymů, které modifikují nebo degradují antibiotika, čímž snižují jejich účinnost. Důsledkem je rychlé šíření multirezistentních bakterií (MDR), proti nimž jsou běžně dostupná antibiotika často neúčinná. Tato skutečnost výrazně omezuje terapeutické možnosti a současně zdůrazňuje nutnost vývoje nových strategií, přestože samotný vývoj antibiotik zůstává mimořádně časově i ekonomicky náročný^{1,2}. Jednou ze slibných alternativ je kombinace antibiotika s adjuvans, které inhibuje specifický mechanismus rezistence a tím zvyšuje účinnost léčby. Tento přístup však zatím nachází omezené uplatnění, protože většina inhibitorů rezistence se nachází pouze v preklinické fázi výzkumu³.

Cílem této studie bylo připravit knihovnu kmenů *Escherichia coli* DH5α nesoucích jednotlivé geny rezistence k aminoglykosidovým a β-laktamovým antibiotikům pocházející z MDR kmenů *Pseudomonas aeruginosa*. Každý transformant nese pouze jeden známý gen rezistence, což umožňuje detailní zkoumání jeho účinku. U připravených kmenů byla zvýšená fenotypová rezistence ověřena stanovením minimální inhibiční koncentrace (MIC) pomocí standardizované mikrodiluční metody dle normy ISO 20776-1. Získané hodnoty MIC byly porovnány s výsledky u netransformovaného kmene *E. coli* DH5α. Výsledná knihovna představuje dobře definovaný modelový systém. Takto vytvořené kmeny mohou sloužit k vysokokapacitnímu screeningu potenciálních adjuvans antibiotické terapie infekcí vyvolaných MDR kmeny *Pseudomonas aeruginosa*.

¹Santajit, S.; Indrawattana, N. BioMed Res. Int. 2016, 2016, 1, 2475067.

²Uddin, T. M.; Chakraborty, A. J.; Khusro, A.; Zidan, B. R. M.; Mitra, S.; Emran, T. B.; Dhama, K.; Ripon, M. K. H.; Gajdács, M.; Sahibzada, M. U. K. J. Infect. Public Health. 2021, 14, 12, 1750.

³Dhanda, G.; Acharya, Y.; Haldar, J. ACS Omega 2023, 8, 12, 10757.

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).

Bacillus subtilis vs D-cykloserin

Veronika Kočárková, Lenka Dejmalová, Hana Šanderová, Marek Schwarz, Tamara Knežová
Balgová a Libor Krásný

Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha

Počet infekcí způsobených rezistentními kmeny bakterií v posledních desetiletích významně narůstá, zatímco možnosti účinné terapie zůstávají omezené. Širokospektrální antibiotikum D-cykloserin (DCS) je klasifikováno jako lék druhé volby při léčbě multirezistentní tuberkulózy. Jedná se o strukturní analog D-alaninu přirozeně produkováný bakteriemi *Streptomyces garyphalus* a *Streptomyces lavendulae*. Mechanismus účinku DCS spočívá v inhibici dvou esenciálních enzymů zapojených do biosyntézy peptidoglykanu. Přestože je klinicky využíván více než 60 let, molekulární mechanismy rezistence vůči DCS nejsou dosud plně objasněny. Ve většině případů je rezistence vůči DCS podmíněna mutacemi v genech kódujících cílové enzymy tohoto antibiotika. Zvýšenou odolnost buňkám poskytuje také mutace v genu *cycA*, který kóduje transportér DCS. Identifikace a pochopení mechanismů antibiotické rezistence jsou však klíčové pro úspěšnou léčbu i pro vývoj nových terapeutických strategií. Experimenty provedené v naší laboratoři poukazují na nový mechanismus rezistence vůči DCS u modelové bakterie *Bacillus subtilis*. Bude prezentován a diskutován současný stav projektu, včetně mechanismu regulace této rezistence.

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

Druhová příslušnost a prostředí formují rezistenční profil streptomycet

Lucie Kotrbová^{1,2}, Alica Chroňáková², Kateřina Petříčková³

¹Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta, České Budějovice

²Biologické Centrum AV ČR, Ústav půdní biologie a biogeochemie, České Budějovice

³Univerzita Karlova, Ústav lékařské mikrobiologie I. LF UK a VFN, Praha

Čistírny odpadních vod (ČOV) jsou obecně vnímány jako zachytné rezervoáry nutrientů. Ve skutečnosti však představují velmi heterogenní prostředí, které obsahuje mimo jiné i široké spektrum polutantů v různých koncentracích a stádiích degradace. Mezi těmito látkami se vyskytují i rezidua antibiotik, jejichž přítomnost vede nejen k selekci rezistentních bakteriálních populací, ale také k horizontálnímu přenosu genů rezistence. Koncentrace těchto látek se výrazně liší v závislosti na fázi čištění, přičemž bylo prokázáno, že i subinhibiční koncentrace antibiotik mohou podporovat selekci rezistentních mikroorganismů. Čistírny odpadních vod se tak stávají tzv. „hot spoty“ nejen pro mikrobiální degradaci nutrientů, ale také pro akumulaci a šíření genové rozmanitosti spojené s rezistencí vůči antibiotikům.

Streptomycety jsou převážně půdní bakterie s všestranným metabolismem. Ačkoliv tento rod zahrnuje více než 700 druhů, jako lidský patogen byl dosud označen pouze jediný (*Streptomyces somaliensis*). Schopnost kolonizovat člověka však prokázaly mnohé další druhy, a otevírají tak otázku jejich role v soužití s člověkem – zda jde o fakultativní patogeny, nebo spíše o neškodné mikroorganismy, jež jsou součástí běžné mikrobioty člověka. Díky bohatému sekundárnímu metabolismu, jež zahrnuje i produkci velkého spektra antibiotik disponují také sofistikovanými mechanismy vlastní obrany (např. inaktivace oleandomycinu). Genetické determinanty těchto rezistencí se však mohou značně lišit od rezistomu běžných patogenů.

V naší studii charakterizujeme míru rezistence k antibiotikům pomocí difuzní diskové metody u streptomycet pocházejících z různých prostředí (půda člověkem neovlivněná, rhizosféra a endosféra rostlin obohacených produkty ČOV a klinické izoláty). Pilotní výsledky ukazují majoritní vliv druhového zařazení streptomycet, ale také vyšší toleranci streptomycet získaných z prostředí obohacených produkty ČOV. Ačkoliv se rozdíly mezi prostředími pohybují v malém rozmezí, mohou poukazovat na přítomnost odlišných mechanismů rezistence. Genetické pozadí těchto změn bude dále studováno se zaměřením na inaktivační mechanismy.

Studie vznikla za podpory projektů Ministerstva zemědělství NAZV (QK21020080) a GAJU (063/2023/P).

Odstraňování antibiotické rezistence při úpravě vody: redukce potenciálu pro horizontální transfer genů, důležitost extracelulární DNA, revize role GAU

Vojtěch Kouba¹, Stanislav Gajdoš¹, Abhijeet Udnoor¹, Marco Antonio Lopez Marin¹, James Manu¹, Kateřina Hlaváčková¹, Lucie Baumruková¹, Robert Kvaček^{1,2}, Zuzana Sýkorová², Václav Janda¹, Pavla Šmejkalová¹, Jana Říhová Ambrožová¹

¹Vysoká škola chemicko-technologická, Ústav technologie vody a prostředí, Praha;

²Pražské vodovody a kanalizace, a.s., Ke Kablu 971, 102 00 Praha 10

*autor pro korespondenci, email: vojtech.kouba@vscht.cz

Kontaminace vodních zdrojů bakteriemi rezistentními vůči antibiotikům (ARB) a geny antibiotické rezistence (ARG) ukazuje další důležitou roli úpraven pitné vody (ÚV), jako zásadní bariéry bránící kolonizaci lidského mikrobiomu patogeny rezistentními vůči antibiotikům. Pro provozovatele vodovodů bude proto v budoucnu důležité posoudit účinnost konvenčních i pokročilých technologických procesů ÚV v reálném provozu, a to včetně širokého spektra intra- a extracelulárních ARG. Tato práce posuzovala osud ARG a ARB v procesech provozu ÚV upravující povrchovou vodu čiřením, pískovou filtrací, sorpcí na granulované aktivní uhlí (GAU) a hygienickým zabezpečením pomocí UV záření a plynného chloru. ARG byly detekovány pomocí (HT-)qPCR, k bližšímu sledování byly vybrány geny *sull* (sulfonamidy) a *intl1* (horizontální přenos ARG). Bakterie rezistentní na tetracyklin byly stanoveny kultivačně. V surové povrchové vodě bylo HT-qPCR detekováno 17 ARG, včetně 10^{10} CN/l intra- a 10^8 CN/l extracelulárního *sull*. Zatímco odstraňování genu *sull* bylo pouze mírné, gen *intl1* byl snížen o 3 log z intracelulární a zcela eliminován z extracelulární DNA. ÚV také zcela eliminovala tetracyklin-rezistentní ARB kultivované při 37 °C a zredukovala tetracyklin-rezistentní ARB kultivované při 22 °C o 3 log, což dále ukazuje, že konvenční procesy ÚV podstatně snížily rizika spojená s ARG a ARB. Tyto výsledky jsou v rozporu s literaturou, která označuje GAU za potenciální hotspot antimikrobiální rezistence (AMR). V příspěvku dále ukazujeme potenciál vodárenských procesů a distribučních sítí v boji proti AMR.

Tento příspěvek byl financován z projektu SS07020223 „Metody nové generace pro vysoce citlivou a rychlou detekci fekálního znečištění a antibiotické rezistence pro podporu oběhového vodního hospodářství“, který je spolufinancován se státní podporou Technologické agentury ČR a Ministerstva životního prostředí Programu Prostředí pro život. Tento projekt byl financován v rámci Národního plánu obnovy z evropského Nástroje pro oživení a odolnost.

Deriváty chalkonu jako potenciální adjuvans ciprofloxacinu proti multirezistentnímu *Staphylococcus aureus*

Bára Křížkovská¹, Jan Lipov¹, Michael S. Christodoulou², Raphaëlle Youf³, Martijn Riool³,
Jitka Viktorová¹

¹Ústav biochemie a mikrobiologie, Fakulta potravinářské a biochemické technologie (VŠCHT, Praha)

²Katedra potravinářských, environmentálních a nutričních věd (DeFENS) (Univerzita v Miláně, Miláno, Itálie)

³Laboratoř experimentální traumatologické chirurgie, Oddělení traumatologické chirurgie, (Univerzitní nemocnice Regensburg, Regensburg, Německo)

Multirezistentní kmeny *Staphylococcus aureus* zásadně omezují možnosti antibiotické terapie a jejich rychlý nárůst je dnes jedním z klíčových problémů klinické praxe. Jedním ze slibných přístupů je využití adjuvantních molekul, které mohou obnovit či zvýšit účinnost stávající terapie. V této práci byly testovány deriváty chalkonu, což jsou jednoduché aromatické ketony vykazující široké spektrum biologických aktivit.

Vybrané chalkonové deriváty byly hodnoceny samostatně i v kombinaci s antibiotikem ciprofloxacinem proti klinicky izolovaným multirezistentním kmenům *S. aureus*. Antimikrobiální aktivita byla stanovena pomocí MIC testů a šachovnicového testu, přičemž byla vypočtena hodnota FICI pro posouzení výsledného efektu. U vzorků byla dále pozorována schopnost inhibice bakteriálních efluxních pump pomocí metody akumulace ethidium bromidu.

Výsledky ukázaly, že zatímco samotné deriváty chalkonu projevily pouze mírnou inhibiční aktivitu, v kombinaci s ciprofloxacinem došlo ke snížení hodnot MIC antibiotika. U vybraných derivátů byl navíc pozorován pozitivní účinek i proti bakteriálnímu biofilmu, což naznačuje jejich schopnost zasahovat do mechanismů spojených s perzistencí a chronickými infekcemi. Dále bylo prokázáno, že některé chalkony vykazují příznivý účinek i na *in vivo* modelu *Galleria mellonella* při infekci *S. aureus*. Aplikací samostatných derivátů, bez kombinace s antibiotikem, došlo ke zvýšení přežití larev, což naznačuje snížení bakteriální virulence.

Naše výsledky podporují hypotézu, že chalkonové deriváty mohou působit nejen jako účinná adjuvans antibiotik proti planktonním buňkám či biofilmům multirezistentního *S. aureus*, ale také že samy o sobě představují slibné kandidáty pro budoucí vývoj inovativních strategií v boji proti multirezistentním bakteriím.

Práce byla financována Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky INTER-COST LUC24099 (COST Action CA21145 EURESTOP).

Metagenomová analýza nemocničních, odpadních a povrchových vod ČR

Jarmila Laušová^{1,2,3}, Iva Sukkar^{2,3}, Lenka Davidová Geržová^{2,3}, Monika Dolejská^{1,2,3,4,5}

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

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

³Středoevropský technologický institut, Veterinární univerzita Brno,

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

⁵Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně

Antibiotická rezistence představuje závažnou hrozbu pro lidské zdraví, přičemž významným rezervoárem genů antibiotické rezistence (ARG) jsou komunální i nemocniční odpadní vody. V našem výzkumu jsme se zaměřili na charakterizaci bakteriálních společenstev a ARG v odpadních a povrchových vodách města Brna.

V letech 2020 a 2021 byly odebrány vzorky z nemocniční odpadní vody (SH), přítoku (SI) a odtoku (SO) z městské čistírny odpadních vod (ČOV) a z řeky nad (RU) a pod (RD) výpustí ČOV. Filtrací vody bylo získáno bakteriální společenstvo pro izolaci celometagenomové DNA, která byla podrobena metagenomovému sekvenování na platformě Illumina. K taxonomickému přiřazení a identifikaci ARG byly využity nástroje ARGprofiler a KMA ve spojení s databází PanRes. Statistické zpracování a vizualizace dat proběhly v prostředí R.

Analýza mikrobiálního složení ukázala výrazné rozdíly mezi různými typy vod. Zatímco říční vzorky vykazovaly stabilní mikrobiální profil, nemocniční a městské odpadní vody vykazovaly vysokou bakteriální diverzitu a obsahovaly oportunně patogenní skupiny mikrobů. Nejvariabilnější byla voda SI, zatímco SO vykazovala nižší podíl fekálních bakterií, zatímco diverzita zůstala zachována. SH měla unikátní profil s vyšším zastoupením tříd Clostridia a Gammaproteobacteria, spojených s potenciálními patogeny.

V nemocničních odpadních vodách byl sledován nejvyšší poměr ARG k širokému spektru antibiotických tříd, zejména makrolidům, aminoglykosidům, beta-laktamům a chinolonům. Vysoký podíl ARG byl rovněž v SI, v SO bylo zastoupení ARG nižší, avšak stále významné, což poukazuje na nedostatečnou účinnost procesů ČOV při eliminaci bakterií a ARG. V říční vodě byly ARG přítomny jen minimálně, přičemž RD vzorky vykazovaly vyšší hodnoty než RU, což odráží vliv vypouštěných vod z ČOV.

Naše výsledky jednoznačně ukazují na nemocniční odpadní vody jako významný zdroj ARG a nedostatečnost současných technologií čištění odpadních vod v jejich úplném odstranění. Tyto poznatky zdůrazňují potřebu cíleného monitoringu a inovace čistících technologií ke snížení šíření patogenů a ARG do povrchových recipientních vod.

Stabilita a antimikrobiální účinky hybridních lignin-stříbro nanočástic

Ing. Bernadeta Maříková, Prof. Ing. Jan Masák CSc.

Ústav Biotechnologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha

Jednou z moderních a stále se rozvíjejících možností boje a antibiotickou rezistencí je využití kombinovaných terapií, například s využitím hybridních nanočástic (stříbro-lignin nanočástic) nebo samotné kovvyžití antimikrobiálního působení využití antimikrobiální aktivity ligninu. Výsledky stability nanočástic posouzené stanovením uvolňování stříbra pomocí indukčně vázané plazmové hmotnostní spektrometrie, indexu polydisperzity a průměrné hydrodynamické velikosti pomocí dynamického rozptylu světla, měření povrchového náboje a pozorování morfologie pomocí transmisní elektronové mikroskopie ukazují, že nanočástice byly náchylnější k agregaci v médiích LB a TSB, zatímco v DMEM + 10 % FBS zůstávají ve formě stabilní disperze. Antimikrobiální aktivita byla testována proti vybraným kmenům *Staphylococcus aureus*. Hybridní nanočástice inhibovaly suspenzní růst bakterií účinněji než samotné ligninové nanočástice, úplné inhibice růstu bakterií bylo dosaženo pouze u *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 při ošetření hybridními stříbro-lignin nanočásticemi. Mechanismus jejich antimikrobiálního účinku proti *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa* byl zkoumán pomocí testů antioxidační aktivity, skenovací elektronové mikroskopie a měření tvorby intracelulárních reaktivních forem kyslíku. Ošetření nanočásticemi vedlo ke snížení fluorescenčního signálu, což naznačuje, že u žádného z bakteriálních druhů nedošlo oproti kontrole ke zvýšení produkce intracelulárních reaktivních forem kyslíku.

Antimikrobiální rezistence u *E. coli* izolovaných z trusu ježků umístěných v záchranné stanici

Martina Masaříková¹, Aneta Papoušková¹, Darina Čejková², Dušan Haas¹

¹Ústav infekčních chorob a mikrobiologie, Veterinární univerzita Brno, Brno, Česká republika

²Ústav biomedicínského inženýrství, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií,
Vysoké učení technické v Brně, Brno, Česká republika

V roce 2020 byly odebrány vzorky trusu 23 ježků (*Erinaceus europaeus* a *Erinaceus roumanicus*) umístěných v záchranné stanici pro divoká zvířata na brněnsku. Jednalo se buď o zvířata zraněná, nebo mláďata s nízkou tělesnou hmotností, která by jim neumožnila přežít zimní období. Ježci byli vyšetřeni ve veterinárním zařízení, kde byl na základě jejich stavu stanoven léčebný protokol zahrnující konzervativní nebo chirurgický zákrok obvykle doprovázený systémovou antimikrobiální terapií. Cílem naší studie bylo izolovat *E. coli* z trusu ježků (tři izoláty *E. coli* na jedince), kteří byli léčeni antibiotiky a identifikovat jejich fenotyp a genotyp rezistence. Kultivací na McConkey agaru jsme izolovali celkem 69 *E. coli*, kultivací na McConkey agaru suplementovaném dvěma gramy cefotaximu jsme nezískali žádný izolát *E. coli*. Většina izolátů byla rezistentní na ampicilin (50/69; 72 %) a kyselinu nalidixovou (37/69; 54 %). Multirezistence byla prokázána pomocí diskového difúzního testu u alespoň jednoho kmene původem ze 14 ježků (14/23; 61 %), konkrétně u 37 z 69 izolátů (54 %). Genomická analýza pomocí WGS potvrdila přítomnost genů kódujících rezistenci k beta-laktamovým antibiotikům (*bla*_{TEM-1B}, *bla*_{TEM-1D}), aminoglykosidům [*aac*(3)-IIa, *aadA1*, *aadA2*, *aadA5*, *aph*(3')-Ia, *aph*(3')-Ic, *strA*, *strB*], amfenikolům (*cmlA1*, *catA2*, *floR*), sulfonamidům (*sul1*, *sul2*, *sul3*), trimetoprimu (*dfrA1*, *dfrA12*, *dfrA14*, *dfrA17*, *dfrA25*), tetracyklinům [*tet*(A), *tet*(B)] a chinolonům (*qnrB2*). Žádný z izolátů nenesl geny pro produkci širokospektrých beta-laktamáz ani karbapenemáz. Naše výsledky naznačují, že by ježci po reintrodukcii do přírody mohli figurovat jako zdroj multirezistentních *E. coli*.

Financování a podpora projektu: 2023ITA12.

Antibiotická rezistence nezákysových bakterií mléčného kvašení izolovaných ze sýrů vyrobených z různých druhů mléka

Eva Musilová¹, Blanka Vrchotová¹, Hana Sýkorová², Sabina Purkrťová², Šárka Horáčková¹

¹Ústav mléka, tuků a kosmetiky, VŠCHT Praha

²Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha

Antibiotická rezistence mikroorganismů představuje v současnosti celosvětový problém, a to nejen ve zdravotnictví. Klíčovým faktorem v jejím šíření je existence horizontálního transferu genů, v kterém mohou hrát roli i přirození komenzálové, jako jsou například bakterie mléčného kvašení. V práci byl proveden mikrobiologický rozbor pěti sýrů typu Gouda vyrobených z bio kravského ($n = 2$), bezlaktóзовého kravského ($n = 1$), ovčího ($n = 1$) a kozího mléka ($n = 1$) od různých českých výrobců, se zaměřením na sledování počtů bakterií mléčného kvašení na půdách M17, Rogosa agaru a MRS agaru s přidavkem antibiotik. Z těchto půd bylo získáno 107 izolátů presumptivních nezákysových bakterií mléčného kvašení, u kterých byla dále provedena charakterizace pomocí repetitivní PCR a testů citlivosti k antibiotikům diskovou difúzní metodou. Na základě této charakterizace bylo vybráno 22 izolátů, které byly identifikovány metodou MALDI-TOF MS jako *Lactiplantibacillus plantarum* ($n = 12$), *Lacticaseibacillus paracasei* ($n = 8$) a *Loigolactobacillus coryniformis* ($n = 2$). Pro tyto kmeny byla stanovena minimální inhibiční koncentrace antibiotik (vankomycin, ampicilin, gentamicin, streptomycin, kanamycin, erythromycin, klindamycin, tetracyclin, chloramfenikol) pomocí diluční metody v mikrotitračních destičkách podle ČSN ISO 10932. Kromě rezistence k vankomycinu, která je u heterofermentativních laktobacilů přirozená, byla u některých izolátů zaznamenána i rezistence k aminoglykosidům, tetracyklinu a chloramfenikolu.

Tato práce byla podpořena grantem Národní agentury pro zemědělský výzkum Ministerstva zemědělství ČR, grant č. QL24010251.

Ježci v záchranné stanici sdílejí multirezistentní kmeny *E. coli* z fyloskupiny B1 a F

Aneta Papoušková¹, Martina Masaříková¹, Darina Čejková², Dušan Haas¹

¹Ústav infekčních chorob a mikrobiologie, Veterinární univerzita Brno

²Ústav biomedicínského inženýrství, Vysoké učení technické Brno

V roce 2020 byly odebrány vzorky trusu ježků (*Erinaceus europaeus*, *E. roumanicus*) hospitalizovaných v letech 2018-2019 v malé záchranné stanici za účelem sledování výskytu rezistentních fekálních bakterií, zejména *Escherichia coli*. Dvacet šest izolátů *E. coli* od 21 zvířat bylo podrobeno celogenomovému sekvenování. Zvířata podstupovala většinou dlouhodobou intenzivní antimikrobiální terapii z různých důvodů (hnisavé infekce ran, metritida, respirační infekce, zubní infekce).

Navzdory intenzivní antimikrobiální léčbě nebyl detekován žádný kmen produkující ESBL/AmpC betalaktamázy, ačkoli většina (17/26) izolátů vykazovala multirezistenci a všechny kromě 2 nesly gen *bla*_{TEM-1}. Izoláty s nejširšími profily rezistence nesly replikony IncF, IncI1, IncX1 a/nebo IncX4, které se mohly podílet na šíření AMR mezi kmeny kolonizujícími různá zvířata na stanici. Většina zvířat nesla kmeny z fylogenetické skupiny B1 i F, reprezentované několika sekvenčními typy: ST457, ST624, ST224, ST212, ST162 a ST58. Fylogenetická analýza prokázala sdílení blízké příbuzných kmenů ST457, ST624, ST224 a ST212 mezi zvířaty. Kromě toho byly v různých ST detekovány stejné replikony.

Studie ukázala, že mezi ježky, hospitalizovanými ve společných prostorách, dochází ke sdílení příbuzných klonů *E. coli*, z nichž některé z nich patří mezi emergentní rizikové kmeny. Intenzivní antimikrobiální terapie udržuje vysoký selekční tlak, což usnadňuje vznik a přenos multirezistentních kmenů. Bylo by proto třeba vytvořit aktualizované a standardizované návody biologické bezpečnosti pro záchranné stanice a podobná zařízení, která mohou být dalším zdrojem antimikrobiální rezistence jak pro lidi, tak pro volně žijící zvířata.

Práce byla podpořena projektem 2023ITA12

Přírodní biofilmy jako rezervoár klinicky významných bakterií s potenciálem rezistence k antimikrobiálním látkám

Sylva Lévyová*, Vladislav Raclavský**, Martin Rulík***

**Katedra experimentální biologie PřF UP v Olomouci, Šlechtitelů 27, Olomouc*

***Ústav mikrobiologie LF UP v Olomouci, Teoretické ústavy, Hněvotínská 3, Olomouc*

****Katedra ekologie a životního prostředí PřF UP v Olomouci, Šlechtitelů 27, Olomouc*

Antibiotická rezistence představuje závažný globální problém. Mechanismy jejího šíření v přírodním prostředí jsou však dosud málo prozkoumané. Tato práce přináší pohled na složení bakteriální populace a vývoj antibiotické rezistence ve vzorcích vody a biofilmů ve vodních prostředích s různou mírou antropogenního vlivu. Celkem bylo z 50 vzorků biofilmu a 7 vzorků vody z přítékající odpadní i odtékající vyčištěné vody z ČOV Olomouc identifikováno 580 bakteriálních izolátů, patřících 154 druhům bakterií, patřících do 62 rodů. U vybraných izolátů rodu *Aeromonas* a *E. coli* byl stanoven profil fenotypové rezistence na antibiotické látky běžně využívané v klinické praxi. Průměrné hodnoty minimálních inhibičních koncentrací (MIC) testovaných antibiotik byly nejvyšší u bakteriálních izolátů z přírodního koupaliště Poděbrady, zvýšená rezistence byla pozorována rovněž u izolátů z biofilmů odebraných ve vodním toku v místě zaústění odtoku z čistírny odpadních vod. Výrazně zvýšené MIC byly zejména vůči piperacilinu a cefalosporinům 2. (cefuroxim, cefoxitim), 3. (cefotaxim, ceftazidim) a 4. (cefepim) generace.

Podpořeno projektem BiomGuard, CZ.01.01.01/01/22_002/0000715.

Dynamické změny v plazmidomu a rezistomu v gastrointestinálním traktu kuřat

Markéta Ryšavá^{1,2,3}, Jana Palkovičová^{2,3}, Jana Schwarzerová^{4,5,6}, Darina Čeková⁴,
Katarína Stred'anská^{1,2}, Markéta Jakubíčková⁴, Derya Aytan-Aktug⁷, Saria Otani⁷,
Monika Dolejská^{1,2,3,8,9*}

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

²Ústav mikrobiologie, Lékařská fakulta v Plzni, Karlova univerzita,

³Středoevropský technologický institut, Veterinární univerzita,

⁴Ústav biomedicínského inženýrství, Vysoké učení technické v Brně,

⁵Molecular Systems Biology (MOSYS), Department of Functional and Evolutionary Ecology, Faculty of Life Sciences, University of Vienna, Vienna, Austria

⁶Katedra molekulární a klinické patologie a lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Ostrava,

⁷Research group for Genomic Epidemiology, National Food Institute, Technical University of Denmark, Kgs. Lyngby, Denmark

⁸Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně,

⁹Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Ústav laboratorní medicíny, Fakultní nemocnice Brno

Intenzivní chov drůbeže vede k vyššímu používání antibiotik, což přispívá k akumulaci genů rezistence na antibiotika (ARG) ve střevním mikrobiomu kuřat. Toto prostředí podporuje přenos ARG prostřednictvím mobilních genetických elementů, což může vést k šíření rezistence na další bakterie, včetně patogenů. Cílem této studie bylo analyzovat složení a dynamiku plazmidů a ARG.

Bylo odebráno 12 vzorků ze tří komerčních kuřecích chovů, a to v týdenních intervalech během prvního měsíce po vylíhnutí. Všechna kuřata byla v rané fázi života léčena enrofloxacinem, přičemž jeden z chovů byl navíc léčen sulfametoxazolem/trimetoprimem. Plazmidová DNA (pDNA) byla extrahována pomocí dvou izolačních kitů, které umožnily zachytit jak malé, tak velké plazmidy. Pro odstranění lineárních fragmentů byla pDNA ošetřena DNázou, a poté amplifikována pomocí enzymu phi29. Na analýzu pDNA byla použita metoda dlouhého sekvenování pomocí platformy P2Solo. Pro srovnání byla provedena metagenomová analýza celkové DNA pomocí krátkého sekvenování.

Bylo identifikováno celkem 26 tříd ARG. Geny rezistence na fluorochinolony byly přítomny ve všech chovech, zatímco geny rezistence na diaminopyrimidiny byly zvýšené v chovu ošetřovaném kombinací sulfametoxazolu/trimetoprimu. Analýza plazmidomu umožnila identifikovat 133 unikátních typů plazmidů, zatímco metagenomické sekvenování zachytilo pouze 59 typů. Byly sestaveny kompletní sekvence plazmidů nesoucí ARG o velikosti od 2,6 do 47,6 kb. Většina ARG byla nalezena na malých plazmidech, což může být důsledkem vyšší degradace velkých plazmidů během extrakce, vyššího počtu kopií malých plazmidů, zkreslení při amplifikaci phi29 nebo složením mikrobiomu.

Profil rezistence odrážel používané antibiotické léčby, což potvrzuje roli střevního mikrobiomu kuřat jako rezervoáru genů rezistence. Analýza plazmidomu umožnila identifikovat širokou škálu

Antibiotická rezistence v ČR: jak společně zastavit nezastavitelné



variabilních plazmidů a propojit je s ARG. Tato analýza také ukázala, že rezistence na fluorochinolony, které byly zvlášť relevantní kvůli léčbě enrofloxacinem, se šířily prostřednictvím plazmidů rodiny MOB_P, které metagenomická analýza sama o sobě nezachytila. Tyto výsledky zdůrazňují důležitost cíleného sekvenování plazmidů pro přesnější hodnocení horizontálního přenosu genů rezistence.

Studie byla finančně podpořena projektem IGA VETUNI 205/2025/FVHE a grantem Grantové agentury České republiky 22-16786S.

Dynamika šíření genů antibiotické rezistence v nitrifikačních a sedimentačních nádržích ČOV

Tereza Stachurová, Kateřina Malachová, Zuzana Rybková

Ostravská univerzita, Přírodovědecká fakulta, Katedra biologie a ekologie, Ostrava

Čistírny odpadních vod (ČOV) představují významné rezervoáry genů antibiotické rezistence (ARGs) a antibioticky rezistentních bakterií (ARB). Cílem této studie bylo porovnat výskyt ARB ve vzorcích odpadních vod z ČOV v Moravskoslezském kraji České republiky a zhodnotit vliv čistírenských technologických procesů na jejich eliminaci. Dalším cílem bylo posoudit relativní zastoupení vybraných genů rezistence (*bla*TEM, *bla*NDM-1, *bla*KPC, *bla*OXA48, *mecA*, *tetW*, *sul1*, *vanA*) v nitrifikačních a sedimentačních nádržích. Z odebraných vzorků byla izolována bakteriální DNA a abundance cílových ARGs byla stanovena metodou real-time PCR. Kultivovatelné rezistentní bakteriální kmeny byly charakterizovány stanovením titru (CFU/mL), minimální inhibiční koncentrace (MIC) a minimální baktericidní koncentrace (MBC). Analýza prokázala, že nejvyšší relativní zastoupení vykazovaly geny *bla*TEM, následované *tetW*, *bla*NDM-1, *vanA* a *sul1*. Z 264 izolovaných rezistentních kmenů z nitrifikační nádrže vykazovala většina vysokou úroveň rezistence k ampicilinu, přičemž 61,2 % izolátů mělo MIC > 32 mg/L a 78,8 % MBC > 64 mg/L. Získané výsledky poskytují důležité důkazy o vysoké prevalenci bakteriální rezistence vůči ampicilinu v odpadních vodách a současně ukazují na nárůst relativního zastoupení genů *bla*TEM, *tetW*, *bla*NDM-1, *vanA* a *sul1*. Tyto skutečnosti podtrhují rostoucí riziko šíření rezistence na další antibiotika a demonstrují zvyšující se variabilitu rezistence. Zvláštní pozornost je nezbytné věnovat genům rezistence k antibiotikům poslední volby, jako jsou *bla*NDM-1 a *vanA*, které mohou zásadně ohrozit účinnost léčby závažných infekcí a přispívat ke zvýšené morbiditě a mortalitě.

Studie byla podpořena projekty SGS OU (ID: SGS09/PřF/2019, SGS01/PřF/2020, SGS11/PřF/2021, SGS10/PřF/2022) a projektem CZ.02.1.01/0.0/0.0/17_049/0008441. Zvláštní poděkování patří našim studentkám magisterského studia, A. Šnobelové a M. Lihotzké, za jejich významnou pomoc při laboratorních pracích.

Komparativní genomika české a globální populace extraintestinální patogenní linie *Escherichia coli* ST69 kódující širokospektré beta-laktamázy

Iva Sukkar^{1,2}, Adam Valček¹, Kristína Nešporová¹, Monika Dolejská^{1,2,3,4,5}

¹*Středoevropský technologický institut, Veterinární univerzita Brno,*

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

³*Ústav biologie a chorob volně žijících zvířat, Fakulta veterinární hygieny a ekologie,
Veterinární univerzita Brno,*

⁴*Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně,*

⁵*Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Ústav laboratorní medicíny, Fakultní nemocnice
Brno*

Extraintestinální patogenní kmeny *Escherichia coli* (ExPEC) způsobují závažné infekce, a vzhledem k jejich časté produkci širokospektrých beta-laktamáz (ESBL) je léčba pacientů komplikovaná a nákladná. Mezi vysoce rizikové ExPEC patří linie ST69, jejíž genomické pozadí stojící za jejím pandemickým úspěchem nebylo doposud plně objasněno.

V rámci studie bylo analyzováno 6072 genomů *E. coli* ST69 pocházejících jak z České republiky (160), tak z veřejně dostupných databází (5912) zahrnující různé geografické oblasti a zdroje. U všech *E. coli* ST69 byl zkoumán výskyt genů antibiotické rezistence, virulentních faktorů, plazmidů a dalších genetických determinant. Ke komparativní, fylogenetické a asociační analýze byly využity bioinformatické nástroje BRIG, Prokka, Bakta, Roary, RAxML a Scoary.

Kmeny *E. coli* ST69 vykazovaly vysoký podíl multirezistence (65,7 %) a široké spektrum virulentních determinant. U izolátů původem z České republiky byly geny kódující produkci ESBL detekovány u 47 % (n=160), z nichž většina nesla gen *bla*_{CTX-M-15} (40/160). Globální sbírka *E. coli* ST69 vykazovala podobné trendy v antibiotické rezistenci, ačkoli 15,5 % izolátů neneslo žádné geny rezistence. Fylogenetická analýza odhalila skupiny příbuzných českých izolátů (≤100 SNP) různého původu, zejména z environmentálních a klinických zdrojů. Dále bylo identifikováno několik plazmidových linií skupiny IncF nesoucích geny kódující ESBL bez jasné asociace se specifickým zdrojem. U 8,2 % českých izolátů byl nalezen chromozomálně lokalizovaný operon pravděpodobně zapojený do metabolismu ribózy, který se v globální sbírce vyskytoval jen u 1,0 % izolátů. Přítomnost tohoto operonu byla v GenBank detekována pouze u tří dalších *E. coli* a u 70 izolátů *Klebsiella* spp..

Zjištění této studie podtrhují význam linie *E. coli* ST69 jako vysoce rizikového klonálního komplexu pro veřejné zdraví. Detekce shodných plazmidových linií nesoucích geny kódující ESBL napříč izoláty z různých zdrojů potvrzuje roli horizontálního přenosu v rámci konceptu One Health. Identifikace specifických genetických determinant dále ukazuje na adaptivní potenciál této linie, který přispívá k jejímu globálnímu úspěchu.

Financováno Grantovou agenturou České republiky (24-12527S).

Steroidy proti rezistenci: vliv derivátu VŠCHT-069 na efluxní systémy a transkriptom *Staphylococcus aureus*

Špaček Jan^a, Brdová Daniela^a, Křížkovská Bára^a, Lipov Jan^a, Kudová Eva^b, Viktorová Jitka^a

^aÚstav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,

^bÚstav organické chemie a biochemie Akademie věd, Flemingovo náměstí 2, Praha 6

Steroidní hormony a neurosteroidy řídí v lidském těle mnoho procesů včetně imunity a reakce na infekce. Jejich možný vliv na bakterie, zejména na efluxní pumpy zodpovědné za rezistenci, se stává stále častějším předmětem výzkumu. V této práci byly nejprve otestovány vybrané endogenní steroidní sloučeniny na jejich schopnost inhibovat efluxní pumpy bakterií, přičemž jako nejaktivnější byl identifikován pregnanolon. Na základě provedené SAR analýzy byl pregnanolon zvolen jako výchozí molekula pro chemické úpravy, které vedly k přípravě derivátu VŠCHT-069. Tento derivát, působící jako výrazný inhibitor efluxních pump, v kombinaci s erytromycinem a ciprofloxacinem vykázal aditivní účinek proti rezistentním kmenům *S. aureus*. Aktivita efluxních systémů byla hodnocena pomocí akumulace ethidium bromidu a výsledky potvrdily schopnost této látky inhibovat eflux. Transkriptomová data dále odhalila snížení exprese některých virulenčních a ribozomálních genů při kombinaci s erytromycinem, což dále umocňuje aditivní efekt.

Práce je financována OP JAK (Mluvíme s mikrobi – porozumění mikrobiálním interakcím v konceptu One Health, Inter-Micro, CZ.02.01.01/00/22_008/0004597) a Technologickou agenturou České republiky (Národní centrum kompetence, projekt TN02000109).

Monitoring rezistentních zoonotických bakterií u psů a koček a jejich majitelů

Aneta Papoušková¹, Věra Vaibarová¹, Alexandra Hajdony¹, Natálie Lubojacká¹, Alois Čížek¹

¹Ústav infekčních chorob a mikrobiologie, Fakulta veterinárního lékařství, Veterinární univerzita Brno

Zvířata, zejména ta zájmově chovaná, mohou představovat pro člověka významný zdroj multirezistentních bakterií. V této práci jsme se zaměřili na přenos multirezistentních stafylokoků a enterobakterií mezi psy a kočkami a jejich majiteli. Zvířatům byl odebrán rektální a perineální výtěr, popřípadě ještě ušní výtěr, nosní výtěr nebo výtěr z tlamy. Majitelům byly odebrány nosní a rektální výtěry. Izolace stafylokoků probíhala po neselektivním pomnožení (v BHI bujonu) na slaném manitolovém agaru s obsahem kolistinu a oxacilinu. Současně byly vzorky kultivovány na krevní agar s obsahem kolistinu. Enterobakterie byly po pomnožení v peptonové vodě kultivovány na MacConkey agar s obsahem cefotaximu. Dosud bylo vyšetřeno 764 vzorků od 109 psů, 64 koček a 141 majitelů z celkem 91 domácností. V tomto souboru bylo izolováno 41 izolátů *Escherichia coli* rezistentních k ampicilinu, 24 z nich vykazovalo profil ESBL nebo AmpC profil. Dále bylo izolováno 58 *Staphylococcus aureus*, z toho 8 suspektně MRSA, a 45 *Staphylococcus pseudintermedius*, z toho 8 suspektně MRSP. V souboru vzorkovaných jedinců bylo v 11 případech pozorováno pravděpodobné sdílení shodného kmene mezi zvířaty, ve 12 případech mezi zvířetem a majitelem a ve 4 případech mezi majiteli. V jedné domácnosti byl zachycen kmen MRSP rezistentní ke všem sledovaným antibiotikům. Jednalo se o ster z oka psa s probíhající kerakonjunktivitidou. Pro účely terapie byla otestováno celkem 21 antibiotik. Plná citlivost byla zjištěna pouze u chloramfenikolu, florfenikolu a rifaximinu. Další 2 antibiotika vykazovala sníženou citlivost, zbývajících 16 antibiotik bylo klasifikováno jako rezistentních. Šíření takových kmenů v populaci představuje extrémní riziko pro rozvoj terapeuticky těžko řešitelných infekcí. Izoláty jsou nyní postupně podrobovány celogenomovému sekvenování, kterým zjistíme přesnější data o fylogenezi a genech rezistence.

Tento projekt byl financován interní grantovou agenturou IGA 160/2025/FVL

Bakteriální diverzita a výskyt rezistentních a multirezistentních grampozitivních kmenů v chronických ranách

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

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

(2) Úrazová nemocnice v Brně,

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

Antibiotická rezistence představuje závažný celosvětový problém, který významně omezuje účinnost antibakteriální terapie. Poranění kůže a měkkých tkání jsou obzvláště náchylná k infekcím způsobeným rezistentními kmeny bakterií, což může vést k selhání léčby, rozvoji sepse a zvýšené mortalitě. Úspěšná terapie proto vyžaduje přesnou identifikaci původců infekce a stanovení jejich rezistenčních profilů. Ze vzorků chronických ran pacientů (91) bylo izolováno 219 bakteriálních kmenů, které byly identifikovány metodou MALDI-TOF MS a u vybraných izolátů byla identita potvrzena sekvenací genu 16S rRNA. Analýza antimikrobiální rezistence byla zaměřena na tři nejčastější grampozitivní patogeny. Rezistence byla hodnocena metodou minimální inhibiční koncentrace (MIC) a přítomnost vybraných genů byla stanovena pomocí PCR. Nejčastějšími izoláty byly stafylokoky, především *Staphylococcus aureus* (n = 65) a *Staphylococcus epidermidis* (n = 16), následované rody *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Proteus* a *Pseudomonas*. U stafylokoků byla prokázána vysoká rezistence k penicilinu (71,2 %), erytromycinu (33,3 %) a klindamycinu (24,1 %), přičemž multirezistence (MDR) byla zjištěna u 16 izolátů *S. aureus* a 10 izolátů *S. epidermidis*. Nejčastěji detekovaným genem byl *blaZ*. U streptokoků dominovaly *Streptococcus pyogenes* (n = 14) a *Streptococcus agalactiae* (n = 12), které vykazovaly vysokou rezistenci k ciprofloxacinu (71 %), přičemž multirezistence byla obzvláště častá u *S. agalactiae* (n = 8). Nejvíce zastoupeným genem byl *intTn*. Mezi enterokoky převažoval *Enterococcus faecalis* (n = 15), u něhož byla zjištěna vysoká rezistence k erytromycinu (94,1 %), a multirezistence byla přítomna u 14 izolátů. Nejčastěji byl identifikován gen *ermB*. Tyto výsledky potvrzují, že chronické rány představují rezervoár rozmanitých bakteriálních patogenů rezistentních vůči více třídám antibiotik, přičemž významný podíl tvoří multirezistentní kmeny. Získané poznatky zdůrazňují nutnost cílené diagnostiky a individualizované terapie, která je zásadní pro zlepšení léčebných výsledků u pacientů s chronickými ranami.

Tato studie byla finančně podpořena Interní grantovou agenturou Mendelovy univerzity v Brně (IGA24-AF-IP-008). Další podporu poskytla Grantová agentura Gregora Johanna Mendela (C-MNG-24-007).

Haja tmavá ako rezervoár a prenášač multirezistentnej *Escherichia coli*

Lucia ZELINOVÁ^{1,2}, Iva SUKKAR³, David KUMPRECHT¹, Veronica JAROCKI⁴, Steve DJORDJEVIC⁴, Alejandro ONRUBIA⁵, Rachid EL KHAMLI⁶, Ivan LITERÁK^{1,3}, Monika DOLEJSKÁ^{1,2,3,7,8}

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

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

³Středoevropský technologický institut, VETUNI Brno,

⁴Australian Institute for Microbiology & Infection, University of Technology Sydney, Ultimo, New South Wales, Australia

⁵CIMA, Migres Foundation, Tarifa, Španělsko

⁶Association Marocaine de Protection des Oiseaux et de la Vie Sauvage (AMPROVIS), F'nideq, Maroko

⁷Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně,

⁸Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Ústav laboratorní medicíny, Fakultní nemocnice Brno

Úloha migrujúcich vtákov v prenose rezistentných baktérií zostáva stále nedostatočne objasnená. Vtáky predstavujú významný rezervoár a potenciálny vektor týchto baktérií nielen medzi živočíšnymi druhmi, ale aj vo vzťahu k človeku. Cieľom tejto štúdie bolo zhodnotiť prevalenciu a genetický profil *Escherichia coli* u migrujúcej haji tmavej (*Milvus migrans*).

V roku 2023 bolo odobratých 469 kloakálnych výterov od haji tmavých na španielskej strane Gibraltárskeho prielivu, jednej z najvýznamnejších migračných trás pred zimným ťahom do Afriky. Vzorky boli selektívne izolované na médiách s cefotaxímom, kolistínom a meropenemom. Rezistentné izoláty boli následne podrobené PCR skríningu na prítomnosť génov antibiotickej rezistencie (ARG) a fenotypovým testom, vybrané kmene boli analyzované celogenómovým sekvenovaním (Illumina).

Jedincov nesúcich baktérie s ARG ku kriticky dôležitým antibiotikám predstavovalo 14 % z ovzorkovaných. Celkovo bolo získaných 90 rezistentných izolátov, z ktorých 82 % vykazovalo multirezistenciu. Medzi génmi kódujúcimi rezistenciu k širokospektrým beta-laktamázam dominoval *bla*_{CTX-M-15} (n=24). Detegované boli aj AmpC gény (n=4), dva izoláty niesli gény *bla*_{VIM} a *bla*_{NDM} pre karbapenemázy a jeden izolát gén mobilnej rezistencie ku kolistínu. Izoláty vykazovali vysokú fylogenetickú diverzitu a zahŕňali široké spektrum klinicky významných línií *E. coli*, ako ST131, ST410 či ST38. Okrem ARG niesli izoláty aj rozsiahlu virulenciu výbavu, vrátane génov yerseniabaktínového operonu. U 21 % izolátov boli identifikované ColV plazmidy a u 9 % pUTI89-like plazmidy, ktoré prispievajú k zvýšenej bakteriálnej virulencii a schopnosti kolonizácie hostiteľa.

Potravná stratégia haji tmavej, ktorá sa často živí aj na skládkach komunálneho odpadu, predstavuje riziko expozície baktériám pochádzajúcim zo živočíšnych aj humánnych zdrojov.

Antibiotická rezistencia v ČR: jak společně zastavit nezastavitelné



Zistená genetická výbava, prítomnosť vysoko rizikových klonov a mobilných genetických elementov podčiarkujú potenciál tohto druhu prenášať multirezistentné baktérie na veľké vzdialenosti a zdôrazňujú jeho význam v globálnej epidemiológii antibiotickej rezistencie.

Financování a podpora projektu: IGA 208/2025/FVHE a ITA VETUNI 2025ITA31
