

„Mikrobiológia okolo nás 2025“ - Konferencia Československej spoločnosti mikrobiologickej

Hotel Sorea Regia, Bratislava

26. – 28. november 2025

ZBORNÍK ABSTRAKTOV

Hlavný organizátor



V spolupráci s



SLOVAK UNIVERSITY OF
TECHNOLOGY IN BRATISLAVA
FACULTY OF CHEMICAL
AND FOOD TECHNOLOGY

Zborník abstraktov zostavili doc. Petra Olejníková, PhD., Ing. Tomáš Pagáč, PhD., RNDr. Lucia Černáková, PhD., prof. RNDr. Helena Bujdáková, PhD.; a recenzovali doc. RNDr. Miroslava Šupolíková PhD., Mgr. Jiří Holátko, PhD., doc. RNDr. Katarína Šoltys, PhD. Zborník abstraktov neprešiel jazykovou úpravou. Vydala Československá spoločnosť mikrobiologická, Praha - Bratislava 2025, ako zborník abstraktov z konferencie „Mikrobiológia okolo nás 2025“ – Konferencia Československej spoločnosti mikrobiologickej, ktorá sa konala v dňoch 26. – 28. novembra 2025 v Bratislave.

ISBN 978-80-973411-8-3



Organizačný výbor konferencie:

prof. RNDr. Helena Bujdáková CSc.

doc. Ing. Petra Olejníková, PhD.

Mgr. Kristína van der Ploeg

Ing. Tomáš Pagáč, PhD.

RNDr. Lucia Černáková, PhD.

RNDr. Jaroslava Dekkerová, PhD.

Mgr. Katarína Bilská, PhD.

Vedecký výbor konferencie:

prof. MUDr. Filip Růžička, PhD.

doc. Ing. Petra Olejníková, PhD.

prof. RNDr. Helena Bujdáková, PhD.

doc. RNDr. Jiří Gabriel, DrSc.

prof. RNDr. Hana Drahovská, PhD..

doc. MVDr. Renáta Karpíšková, PhD.

doc. MUDr. Adriána Liptáková, PhD., MPH, mim. prof.

doc. Ing. David Šilha, PhD.

RNDr. Hana Zvěřinová Mlejnková, PhD.

KONFERENCIU PODPORILI

Funded by EU Next Generation EU through the Recovery and Resilience Plan for Slovakia under project no. 09I01-03-V04-00022 „Component 9“ from the Government Office of the Slovak Republic.

PLÁN [OBNOVY]



**Financované
Európskou úniou**
NextGenerationEU



BIOTECHA

Slovakia

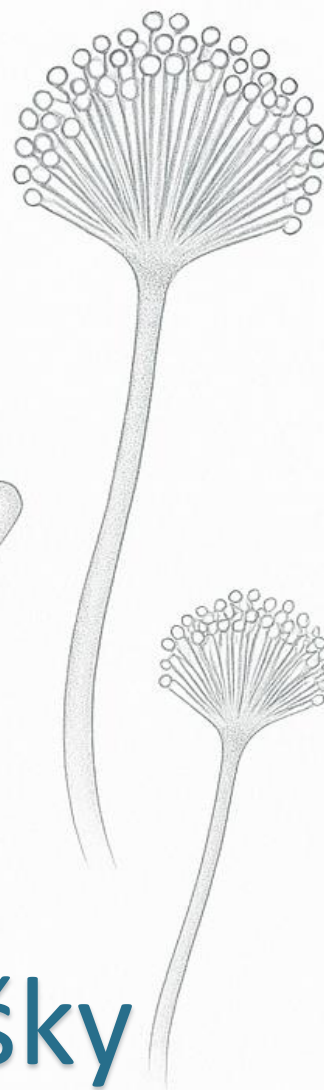
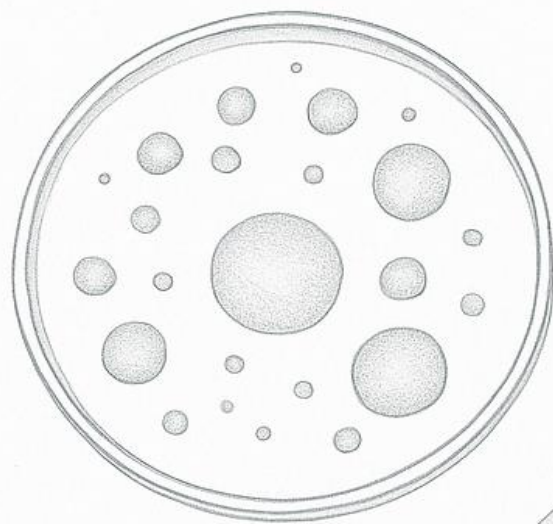




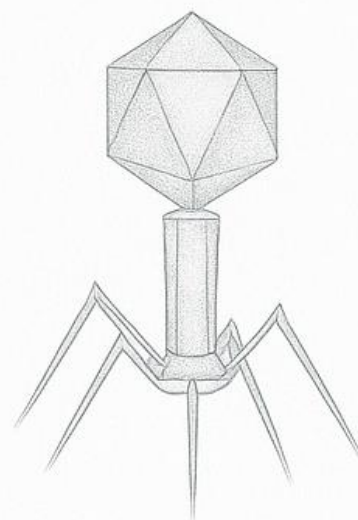
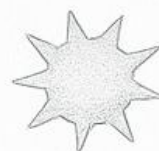
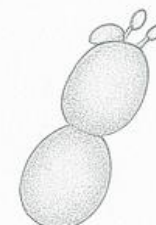
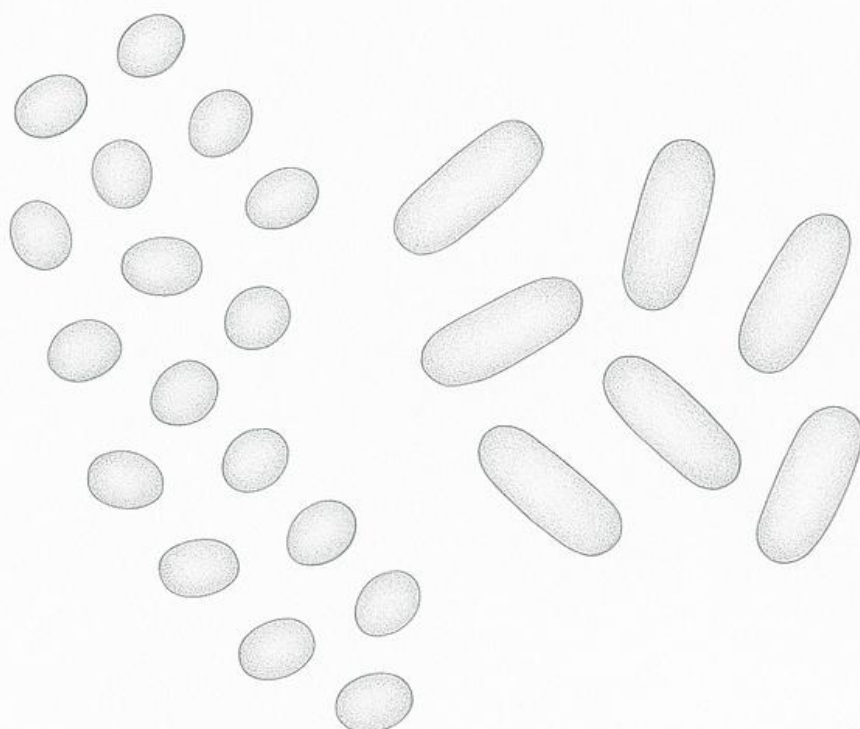
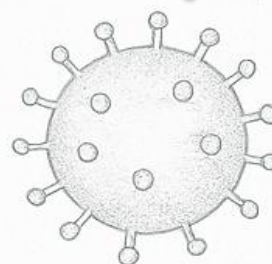


...riešenie pre Vaše laboratórium

 **avantor™**



Plenárne prednášky



Očkovanie proti COVID-19 mRNA vakcínami na Slovensku: od dlhodobej dynamiky neutralizačných protilátok po analýzu obsahu DNA vo vakcínach

Boris Klempa^{1,2}

¹Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, v. v. i., Virologický ústav, Dúbravská cesta 9,
84505 Bratislava

²Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie,
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava
boris.klempa@savba.sk

mRNA vakcíny proti COVID-19 významne prispeli k zníženiu úmrtnosti a ťažkých priebehov ochorenia. V dlhodobom sledovaní sme preukázali, že neutralizačné protilátky po očkovaní (Comirnaty) pretrvávajú minimálne dva roky, pričom hybridná imunita po prekonaní infekcie poskytuje silnejšiu a trvácnejšiu ochranu. Súbežne sme analyzovali 15 šarží vakcín Comirnaty a Spikevax s cieľom zhodnotiť obsah zvyškovej DNA. Pomocou štyroch nezávislých metód sme potvrdili, že jej množstvo je hlboko pod povolenými limitmi a ide len o malé fragmenty pôvodného DNA plazmidu. Naše výsledky spoločne zdôrazňujú význam posilňujúcich dávok mRNA vakcín pre dlhodobú imunitu a zároveň potvrdzujú ich vysoký kvalitatívny štandard a bezpečnosť z hľadiska zvyškovej DNA.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve PP-COVID-20-0017a Ministerstvom zdravotníctva SR.

Neinvazivní diagnostika invazivních bakteriálních a houbových infekcí

Havlíček Vladimír

Mikrobiologický ústav AVČR, Vídeňská 1083, 142 00 Praha 4

vlhavlic@biomed.cas.cz

Ukážu dva příklady analýzy infekčních onemocnění z moče pacientů. V první práci [1] jsme vyvinuli neinvazivní metodu odlišení bakteriální pyelonefritidy od cystitidy, kde byla využita kombinace nízkomolekulárních značek proliferujících enterobaktérií (metaloformy), proteinů akutní fáze zánětu (lipokalin 2, pentraxin 3, ceruloplasmin) a celkových hladin kovových iontů (měď, železo, zinek). V průkazu dominují bakteriální metalofory, tedy chelátory, kterými patogeny zachycují nutričně důležité kovové ionty anebo naopak, pomocí kterých bakterie toxické hladiny kovů redukují. Z bakteriálních metaloforů je imunokompetentní hostitel schopen téměř kvantitativně eliminovat pouze enterobaktin, a to prostřednictvím vazby na lipokalin 2. Hostitel se dále brání zvýšenou sekrecí měďnatých iontů, které jsou pro bakterie toxické. Rezistentní bakteriální kmeny na imunitní odpověď odpovídají vychytáváním měďnatých iontů metaloforem yersiniabaktinem anebo sekrecí metaloforů, které hostitel nedokáže eliminovat (aerobactin, yersiniabaktin). Na této biologii je postavený dvoustupňový test, který na kohortě 95 pacientů vykázal 78% citlivost a 65% specifitu pro odlišení pyelonefritidy od cystitidy. Druhá práce [2] bude konstatovat, že na houbové siderofory (metaloformy vázající železo) produkované rody *Aspergillus* a *Rhizopus* neznáme žádnou přirozenou imunitní odpověď. Na příkladu prospektivně sbíraného pacienta v neutropenii ukážeme na sérii 80ti testů, jak se lišily v průkazech standardní diagnostické metody (sérový galaktomannan a beta-D-glukan, hladiny neutrofilů a leukocytů, CT skenování, DNA analýza patogenů v indukovaném sputu) od experimentálních biomarkerů (sérový pentraxin 3, houbové siderofory triacetylfusarinin C a rhizoferrin). Ve shrnutí rozeberu výhody i úskalí použití včasných diagnostických značek infekcí a položím dvě otázky. Existuje korelace mezi směsnou patogenitou a mortalitou? A je korelace mezi virulencí a rezistencí?

Literatura:

1. Hrbáček, J.; Havlíček, V. a kol., Potential utility of combined urine lipocalin-2 and copper test in diagnosing acute pyelonephritis or cystitis. ACS Omega **2025**, 10 (38), 44291-44297.
2. Dobiáš, R.; Havlíček, V. a kol., Detection of siderophores as a superior noninvasive diagnostic tool in unraveling mixed fungal infections. ACS Omega **2025**, 10 (21), 21908-21914.

Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy (CZ.02.01.01/00/22_008/0004597, Mluvíme s mikroby), Agentura pro zdravotnický výzkum ČR (NU23-05-00095) a FTN v Praze (00064190).

Adaptívna odpoveď ako dynamický komponent na pozadí rezistencie vláknitých húb

Olejníková Petra, Taušová Michaela, Víglaš Ján, Segéňová Ivana, Pagáč Tomáš

Ústav Biochémie a Mikrobiológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Radlinského 9 81237 Bratislava

Rezistencia vláknitých húb voči antifungálnym látkam býva často interpretovaná ako dôsledok genetických zmien, ktoré vedú k zníženej väzbe liečiva na cieľový enzým alebo k zvýšenej expresii detoxikačných mechanizmov. Ide o tzv. GOF mutácie (z anglického *gain of function mutation*). Sú výsledkom vyselektovania určitej populácie buniek, ktorá získala výhodu ako výsledok adaptácie na selekčný tlak prostredia. Naše výsledky však ukazujú, že napriek prítomnosti fixovanej mutácie zostáva adaptívna odpoveď významným a dynamickým komponentom prežitia vláknitých húb. Tento jav sme sledovali na klinických izolátoch *Aspergillus fumigatus*, ktoré nesú mutáciu TR46/Y121F/T289A v géne *cyp51A*, ktorá podmieňuje rezistenciu voči azolom (vorikonazol), ako aj na modeli *Neurospora crassa* s hot-spot mutáciou v géne *FKS1*, výsledkom ktorej je zámena tyrozínu za fenyľalanín v pozícii 641, spojená s toleranciou/rezistenciou voči echinokandínom. Transkriptomická analýza v oboch prípadoch odhalila zmeny expresie génov zapojených do dráh syntézy ergosterolu, chitínu a glycerolu. Zvýšenie hladiny stresových metabolitov – najmä glycerolu a chitínu – potvrdzuje, že rezistentné aj tolerantné kmene využívajú flexibilné kompenzačné mechanizmy udržiavajúce zvýšenú integritu povrchových bunkových štruktúr (cytoplazmatická membrána, bunková stena). Získané poznatky poukazujú na to, že adaptácia nie je len prechodnou reakciou na selekčný tlak, ale predstavuje integrálnu súčasť mechanizmov rezistencie a zásadne prispieva k prežitiu a plasticite vláknitých húb v prítomnosti antifungálnych zlúčenín.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-24-0167, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0388/22.

Proč se černý kašel šíří v očkované populaci?

Peter Šebo

Mikrobiologický ústav AVČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 00 Praha, Česká republika
sebo@biomed.cas.cz

Přes velmi vysokou proočkovanost populací vyspělých zemí proti onemocnění černým kašlem (pertuse), se tohle potenciálně fatální onemocnění masivně vrátilo do evropských zemí. V roce 2024, kdy proběhly v mnoha zemích EU a světa historicky bezprecedentní epidemie pertuse, jaké nepamatujeme a více než 60 let od zavedení plošného očkování celobuněčnou pertusovou vakcínou. V přednášce proto nejdříve uvedu základní rysy biologie původce černého kašle, bakterie *Bordetella pertussis*, stručně popíši funkce jeho klíčových faktorů virulence a působení toxinů. Poté podrobně vysvětlím, proč selhávají moderní podjednotkové pertusové vakcíny v poskytnutí dlouhodobé ochrany před infekcí respirační sliznice patogenem *B. pertussis* a proč nebrání jeho masivnímu šíření v populaci. Vysvětlím imunitní mechanismus blokování slizniční ochrany po opakovaných posilovacích dávkách vakcíny. Na závěr pojednám o možnostech řešení současné epidemické situace černého kašle a nových typech očkovacích látek na jejichž vývoji pracujeme.

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

***Clostridioides difficile* – významný nozokomiálny patogén v Univerzitnej nemocnici L. Pasteura v Košiciach**

Čurová Katarína¹, Tomčo Ladislav^{2,3}, Kardos Nicolas¹, Slobodníková Radka¹

¹Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Ústav lekárskej a klinickej mikrobiológie, Trieda SNP 1, 040 11 Košice

²Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Ústav epidemiológie, Trieda SNP 1, 040 11 Košice

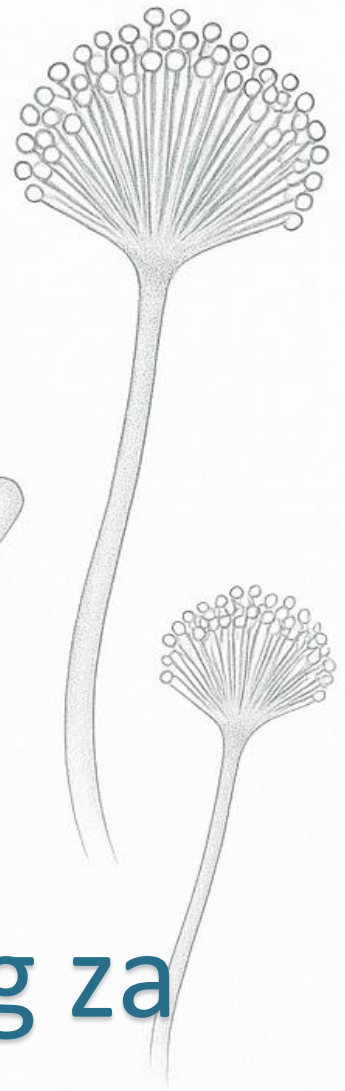
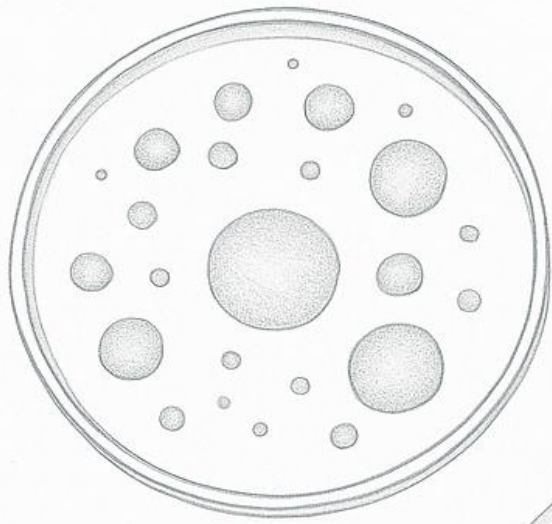
³Univerzitná nemocnica L. Pasteura v Košiciach, Odbor nemocničnej hygieny a epidemiológie, Rastislavova 43, 041 90 Košice
katarina.curova@upjs.sk

Clostridioides difficile je významným pôvodcom hnačiek spojených s užívaním antibiotík. Klostrídiová enterokolitída (CDI) predstavuje v závažný problém zdravotníctva v celosvetovom meradle, keďže patrí k najčastejším nozokomiálnym nákazám. Z výsledkov poslednej bodovej prevalenčnej štúdie nozokomiálnych nákaz realizovanej podľa protokolu ECDC vyplýva, že *C. difficile* je najčastejším pôvodcom nozokomiálnych nákaz na Slovensku.

Prezentované výsledky predstavujú vyhodnotenie výskytu CDI v Univerzitnej nemocnici L. Pasteura (UNLP) v Košiciach v období rokov 2019-2024 a výsledky mikrobiologickej diagnostiky *C. difficile* v období 2020-2022. CDI ako nozokomiálna nákaza bola potvrdená celkovo v 36,8 % prípadov. V priebehu sledovaného obdobia bol zaznamenaný výrazný nárast počtu testov vzoriek stolíc na potvrdenie CDI. Výsledky mikrobiologickej diagnostiky poukázali na vysoký výskyt virulentných kmeňov *C. difficile* (prítomnosť génov kódujúcich toxín A, toxín B a binárny toxín na úrovni 96,7 %, 96,9 % a 71,6 %), v rámci ktorých mali významné zastúpenie epidemické ribotypy 176 (65 %), 001 (17 %), 027 (2,9 %). Testovanie citlivosti na antimikrobiálne látky odhalilo vysokú mieru rezistencie proti rifampicínu (64,5 %) a vankomycínu (6,9 %).

Získané výsledky prispeli k hľadaniu a postupnej implementácii efektívnej prevencie, diagnostiky a liečby CDI. Vzhľadom k tomu, že vankomycín je stále liekom voľby pri CDI, mikrobiologická diagnostika a uchovávanie izolátov a stolíc sú dôležitým predpokladom ďalšieho výskumu zameraného na objasnenie molekulárnej podstaty šírenia rezistencie.

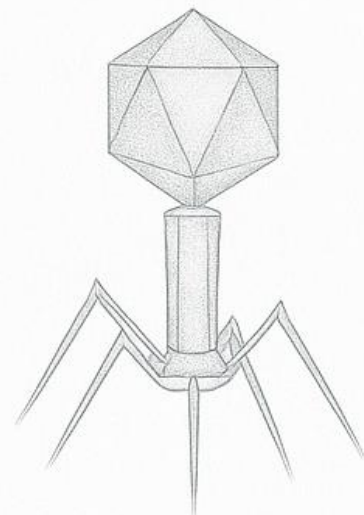
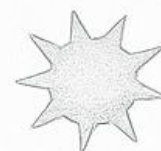
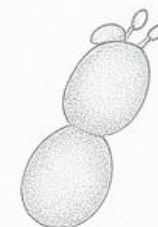
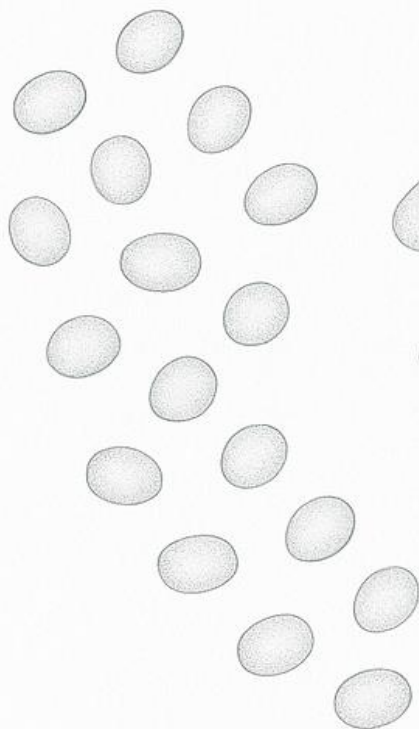
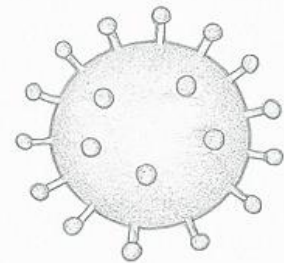
Tento výskum bol podporený Ministerstvom zdravotníctva v projekte TRANSFEC 2019/34-UPJŠ-6 a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu, vývoja a mládeže SR v projekte VEGA 1/0529/25.



Ocenenia

Mladý mikrobiológ za

rok 2024



Inovatívny animálny model indukcie akútnej ulceróznej kolitídy prostredníctvom FMT od pacienta s diagnostikovanou UC

Stanislav Lauko¹, Soňa Gancarčíková¹, Vanda Hajdučková¹, Martin Janičko², Gabriela Hrčková³, Emília Hijová⁴, Monika Kvaková⁴, Zuzana Guľašová⁴, Ladislav Strojný⁴, Ľuboš Ambroš⁵, Zdenka Hertelyová⁴, Dagmar Mudroňová¹, Vlasta Demečková⁶, Petra Adamková⁶, Zuzana Andrejčáková⁷, Mária Ryniková⁶, Anna Kamlárová⁴, Jana Štofilová⁴, Daniela Spišáková¹, Izabela Bertková⁴

¹Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, ²Il. Interná klinika, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Lekárska fakulta a Univerzitná nemocnica Louisa Pasteura v Košiciach, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, ³Parazitologický ústav, Slovenská akadémia vied, Hlinkova 3, 040 01 Košice, ⁴Centrum klinického a predklinického výskumu – MEDIPARK, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, ⁵Centrum interdisciplinárnych biovied, Technologický a inovačný park, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Jesenná 5, 040 01 Košice, ⁶Ústav biologických a ekologických vied, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Šrobárova 2, 041 54 Košice, ⁷Katedra biológie a fyziológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

stanislav.lauko@uvlf.sk

Cieľom našej štúdie bolo získať u pseudo germ-free myší (PGF) najoptimálnejší animálny model ulceróznej kolitídy (UC) cestou indukcie samotnou fekálnou mikrobiotou pacienta s UC (UC; n =15), chemickou cestou indukcie pomocou dextránsulfátu sodného (DSS, n =12) a ich kombináciou (DSS-UC, n =15). Indukovaná akútna UC bola hodnotená histologickým (HAI) a klinickým indexom aktivity (DAI) ochorenia, analýzou zloženia črevnej mikrobioty a metabolickým profilom obsahu céka. Transplantát fekálnej mikrobioty (FMT) od pacienta s UC vykazoval pokles a nárast taxonomických zástupcov črevnej mikrobioty asociovaných s UC. Zároveň sme potvrdili prítomnosť významne down-regulovaných metabolitov N-acetyl-L-prolínu, kyseliny glutárovej, dTDP-4-oxo-2-deoxy- α -D-pentoz-2-énu, ktoré narúšajú integritu črevnej bariéry. Pri skupine UC sme zaznamenali uplatnenie sa potencionálnych patogénov *Clostridioides difficile* a *Providencia* spp., a zároveň pokles významného producenta laktátu, *Bifidobacterium longum*. Skupina DSS-UC vykazovala výrazné zvýšenie *Dorea* spp., *Clostridium* spp. a *Lachnospiraceae bacterium*, zatiaľ čo sa zastúpenie významných producentov butyrátu *Bifidobacterium longum* a *Faecalibacterium prausnitzii* znížilo. V skupine myší DSS bola potvrdená vyššia abundancia *Lachnospiraceae* (p = 0,028), *Dorea* spp. (p = 0,001), *Clostridium* spp. (p = 0,001) a *Bacteroides caccae* (p = 0,002), v porovnaní s kontrolou PGF. Patológia *tunica mucosa* a *tela submucosa* kolonu u skupín DSS aj DSS-UC zodpovedala klinickému obrazu akútnej UC. Metabolické analýzy u skupiny UC odhalili v céku myší významnú down-reguláciu kľúčových metabolitov, vrátane 3-hexenálu, purínových a nukleotidových metabolitov, UDP-N-acetylmuramoyl-L-alanyl-L-glutamátu a chlorogenátu. Z pohľadu získania vhodného animálneho modelu pre ďalšie štúdium patogenézy UC a alternatívnych metód v terapii ulceróznej kolitídy sa preukázala ako najvhodnejšia kombinovaná indukcia akútnej UC.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-23-0031, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0389/25.

Beyond *A. fumigatus*: unraveling antifungal challenges in the *Aspergillus viridinutans* complex

Ján Víglaš, Timea Hrivnáková, Petra Olejníková

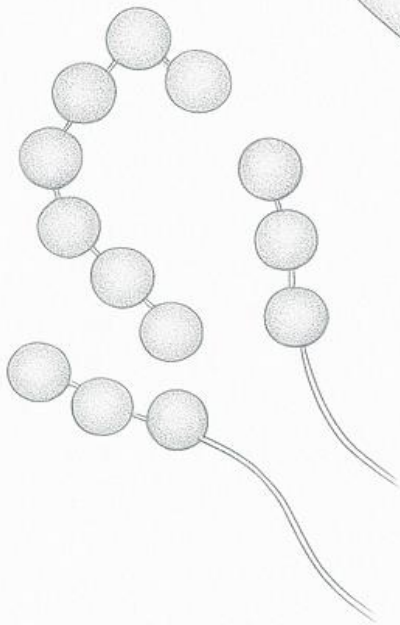
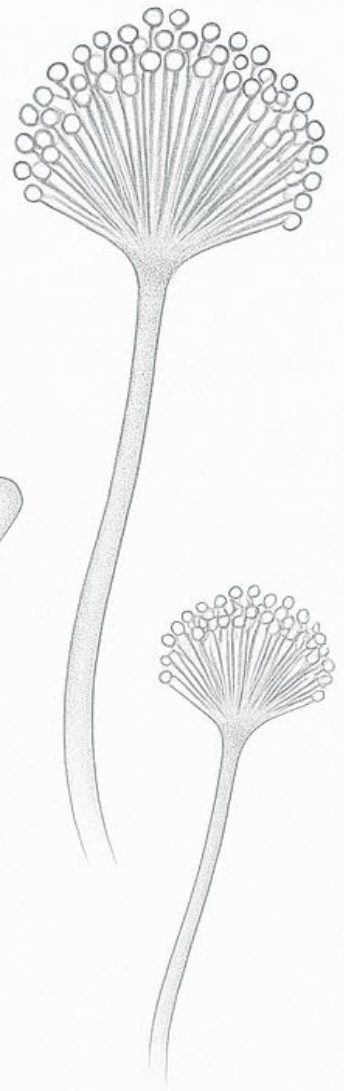
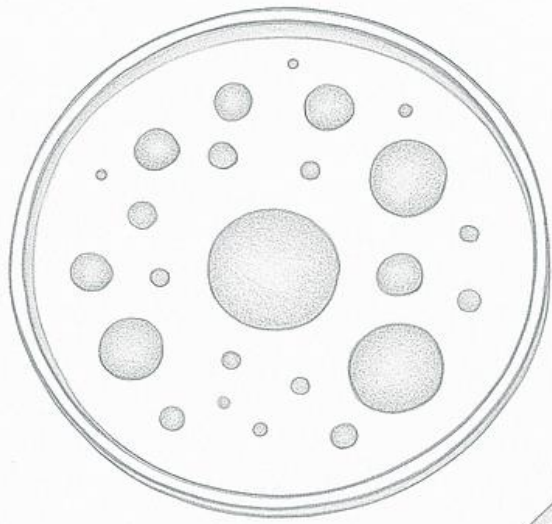
*Institute of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Food and Chemical Technology, Slovak
University of Technology in Bratislava
jan.viglas@stuba.sk*

Aspergilloses, a growing global health concern, prompted the WHO to classify *A. fumigatus* as a critical fungal pathogen in 2022. While *A. fumigatus* receives considerable research attention, other *Aspergillus* species, like those within the *A. viridinutans* complex, remain understudied despite their potential threat.

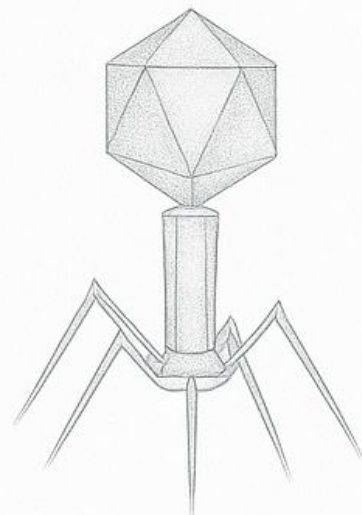
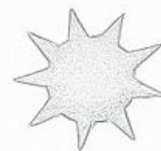
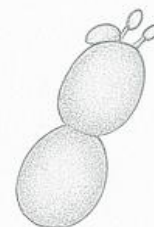
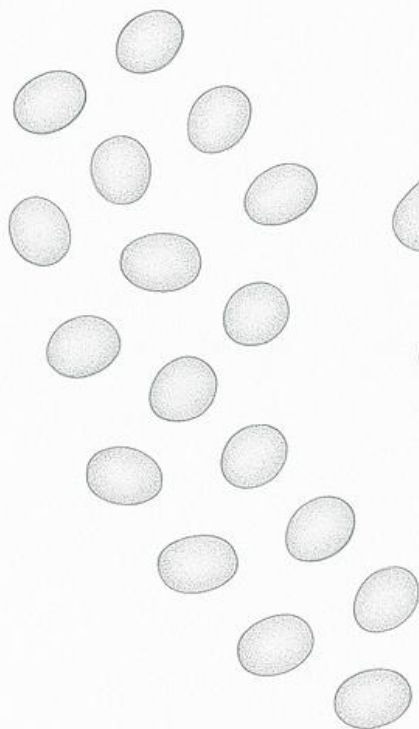
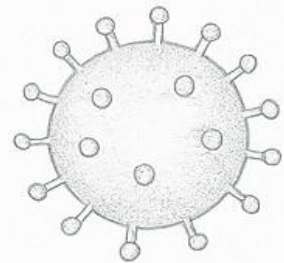
This study investigated the antifungal susceptibility of several *A. viridinutans* complex representatives (clinical, veterinary, and environmental isolates). Using EUCAST agar screening, diverse susceptibility profiles to azoles and echinocandins were observed. Interestingly, some strains were voriconazole-resistant but itraconazole-susceptible, and vice versa, as with veterinary isolate *A. felis* CCF5624. Although, it initially appeared susceptible to itraconazole, the prolonged cultivation revealed slight growth. Microscopic analysis confirmed the presence of tolerant hyphae extending into the itraconazole-containing medium. Tolerance, a stress-response mechanism, was further investigated using rapamycin, a TOR signaling pathway inhibitor. Rapamycin enhanced the inhibitory effects of azoles.

Moreover, the effect of tolerance (slow growth in at the high concentration of antifungal agent) was even detected in the case of echinocandins, which requires further analysis, yet provide relevance for future studies of filamentous fungi belonging to *A. viridinutans* complex.

This work was Funded by the EU NextGenerationEU through the Recovery and Resilience Plan for Slovakia under the project No. 09I03-03-V04-0065.



Prednášky



Identifikácia „tretieho“ signálu na povrchu imunitných buniek izolovaných z pľúc Balb/c myši infikovaných vírusom chrípky

Betáková Tatiana^{1,2}, Donátová Karin¹, Mladá Miriam², Jakubíková Jana³, Považanová Soňa¹,
Blaškovičová Jana¹

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie,
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava

²Biomedicínske Centrum SAV, Virologický ústav, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava

³Biomedicínske centrum SAV, Ústav experimentálnej onkológie, Dúbravská cesta 98, 845 05
Bratislava

tatiana.betakova@uniba.sk, tatiana.betakova@savba.sk

Vírusy chrípky A (IAV) sú vysoko nákazlivé respiračné vírusy a každoročne usmrťajú približne 650 000 ľudí na celom svete. Prehnaná reakcia vrodenej alebo adaptívnej imunitnej odpovede môže byť spojená s imunitnou patológiou vyvolanou hypercytokinémiou, ktorá je zodpovedná za úmrtnosť a morbiditu. NK-bunky sú hlavným podtypom vrodenej lymfoidných buniek, ktoré chránia hostiteľa eliminovaním patogénu. Primárny signál na NK-bunkách je sprostredkovaný vlastnými alebo vírusovými proteínmi. Sekundárny signál je sprostredkovaný cytokínmi, ktoré sú zodpovedné za metabolické prekódovanie, proliferáciu a reguláciu vrodenej a adaptívnej odpovede. Tretí signál môže aktivovať a modulovať efektorovú funkciu na NK-bunkách. Cieľom tejto štúdie bolo identifikovať subpopuláciu NK buniek, ktoré sú prítomné v pľúcach myši infikovaných rôznymi dávkami vírusov chrípky a zistiť možnú rolu proteínu NS1 na vývoj NK buniek. Pripravili sme vírus prispôbený myšiam so skráteným NS1 (NS80ad) proteínom a samice Balb/c boli infikované s neletálnou a letálnou dávkou neadaptovaného a adaptovaného vírusu. Pľúca boli odoberané na 3. deň po infekcii. Boli vykonané histologické analýzy, transkriptomové analýzy, RT-PCR a prietoková cytometria. Subpopulácia IL-23R⁺ NK buniek bola po infekcii IAV nezávisle od dávky vírusu signifikantne zvýšená. Infekcia letálnou dávkou IAV viedla k zníženiu množstva IL-12Rβ2⁺ NK a CCR3⁺ NK buniek. Infekcia letálnou dávkou IAV zvýšila množstvo IL-12Rβ2⁺ na NK1.1 T (NKT) bunkách. Adaptácia vírusov a proteín NS1 nemali vplyv na vývoj subpopulácie NK buniek. Naša štúdia ukazuje, že špecifické subpopulácie imunitných buniek zohrávajú kľúčovú úlohu počas infekcie vírusom chrípky.

Tento výskum bol podporený Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 2/0014/43.

Vplyv svetlom aktivovaného nanokompozitu s erytrozínom B na systém regulácie Agr Quorum Sensing u *Staphylococcus aureus*

Bugyna Larysa^{1,2}, Švantner Ľubomír¹, Bilská Katarína¹, Pribus Marek³, Bujdáková Helena¹

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava

²Ústav laboratórnej medicíny, Lekárska fakulta, Slovenská zdravotnícka univerzita, Limbová 14, 833 03 Bratislava

³Ústav anorganickej chémie SAV, Dúbravská cesta 9, 845 36 Bratislava
larysa.bugyna@uniba.sk

Agr (accessory gene regulator) Quorum sensing (QS) systém baktérie *Staphylococcus aureus* sa významne podieľa na jej virulencii a tvorbe biofilmu – a to buď jeho aktiváciou, alebo potlačením. Cieľom tejto štúdie bolo preskúmať vplyv fotoaktívnych nanomateriálov, ktoré boli funkcionalizované erytrozínom B (EryB), na moduláciu systému agr QS u troch kmeňov meticilín-rezistentného *S. aureus* (MRSA). Funkčnosť systému agr bola stanovená pomocou CAMP testu a kvantitatívnej PCR (qPCR) na analýzu expresie génu *hld*, ktorý sa nachádza v RNAIII a kóduje δ -hemolýzín. Biofilm bol hodnotený pomocou testu s kryštálovou violeťou a fluorescenčnej mikroskopie. Anti-biofilmová aktivita bola vyhodnotená pomocou kolónie tvoriacich jednotiek (CFU/ml). Pomocou CAMP testu sa zistilo, že kmene S66 a S68 sú agr-pozitívne, zatiaľ čo kmeň S73 je agr-negatívny. Relatívna expresia génu *hld*, stanovená pomocou qPCR, sa zvýšila iba u agr-pozitívnych kmeňov (600- až 1000-násobne). U týchto kmeňov bol biofilm menej kompaktný v porovnaní s hustým biofilmom vytvoreným agr-negatívnym kmeňom. Anti-biofilmová účinnosť nanokompozitu s EryB po ožiarení znížila rast buniek biofilmu 100- až 1000-násobne v porovnaní s biofilmom na kontrole. Výsledky qPCR ukázali významný pokles relatívnej expresie génu *hld* u agr-pozitívnych kmeňov po ožiarení v porovnaní s neožiarenými vzorkami. Tieto výsledky naznačujú, že fotoaktívne nanokompozity s EryB môžu významne znížiť tvorbu biofilmu kmeňmi MRSA, bez ohľadu na funkčnosť systému agr QS.

Táto práca bola podporená Slovenskou agentúrou pre výskum a vývoj na základe zmlúv č. APVV-21-0302, APVV-22-0150; Ministerstvom školstva, výskumu, rozvoja a mládeže Slovenskej republiky na základe zmluvy č. VEGA 1/0240/23, VEGA 1/0484/24. Financované z programu EÚ Next Generation EU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti pre Slovensko v rámci projektu č. 09I01-03-V04-00022 a Grantového programu Slovenskej akadémie vied pre postdoktorandov „PostdokGrant“, grant č. APD0134.

***Galleria mellonella* v mikrobiologickom výskume**

Bujdáková Helena¹, Walentín Tomáš¹, Bilská Katarína¹, Dekkerová Jaroslava¹,
Kendra Samuel¹, Bugyna Larysa^{1,2}, Bujdák Juraj^{3,4}

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie,
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava

²Slovenská zdravotnícka univerzita, Lekárska fakulta, Ústav laboratórnej medicíny, Limbova 14, 833
03 Bratislava

³Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra fyzikálnej a teoretickej chémie,
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava

⁴Ústav anorganickej chémie SAV, Dúbravská cesta 9, 845 36 Bratislava
helena.bujdakova@uniba.sk

Bežné *in vitro* testy používané v mikrobiologickom výskume poskytujú základnú informáciu, ale nedokážu imitovať podmienky testovania blízke *in vivo* podmienkam. Zatiaľ čo zvieracie *in vivo* modely sú finančne náročné a eticky sporné, larvy mole Vijačky voskovej *Galleria mellonella* predstavujú vhodný bezstavovcový model, ktorý poskytuje platformu na testovanie biokompatibility rôznych látok, sledovanie kinetiky prežitia po infekcii patogénnymi mikroorganizmami a následnej liečbe, ako aj na hodnotenie rôznych parametrov interakcie medzi hostiteľom a patogénom. Imunitná odpoveď *G. mellonella* zahŕňa bunkové aj humorálne zložky, ktoré majú štrukturálne a funkčné podobnosti s imunitnou odpoveďou vyšších stavovcov, vrátane človeka. Nevýhodou je absencia adaptívnej imunitnej odpovede. Okrem toho *G. mellonella* umožňuje získavať informácie o imunitnej odpovedi prostredníctvom sledovania produkcie antimikrobiálnych peptidov a analýzy hemolymfy, napríklad formou zastúpenia jednotlivých skupín hemocytov, ktoré sa menia počas životného cyklu tejto mole a v reakcii na infekciu patogénnymi mikroorganizmami.

Celkovo má model *G. mellonella* veľký potenciál pre rôzne experimentálne štúdie zamerané na mikrobiologický, medicínsky či farmaceutický výskum.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-21-0302, APVV-22-0150, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0240/23.

Antibakteriálna aktivita fotoaktívnych implantátov: od *in vitro* testovania k *in vivo* modelu

Bilská Katarína¹, Pribus Marek², Boháč Peter², Bujdák Juraj^{2,3}, Bujdáková Helena¹

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava

²Ústav anorganickej chémie SAV, Dúbravská cesta 9, 845 36 Bratislava

³Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra fyzikálnej a teoretickej chémie, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava
bilska6@uniba.sk

Baktérie *Staphylococcus aureus* sú schopné tvoriť biofilmy na povrchu medicínskych pomôcok, čím sa chránia pred vonkajšími vplyvmi a spôsobujú rôzne typy infekcií. Tvorba biofilmov výrazne sťažuje liečbu pacientov s infekciami spojenými so zavedením katétrov alebo iných implantátov. Úprava povrchov medicínskych pomôcok môže zabrániť vzniku biofilmov a tým prispieť k zníženiu počtu infekcií.

Cieľom štúdie bolo testovať antibakteriálne vlastnosti a *in vivo* účinnosť fotoaktívnych materiálov z polyméru kyseliny mliečnej (PLA), vytlačeného pomocou 3D-tlače, ktorého povrch bol modifikovaný saponitom, polydialyldimetylamóniovými kationmi a fotosenzitizérom floxínom B. Pripravené boli tri typy vzoriek s rozdielnym počtom vrstiev modifikácie (5, 10 a 20 vrstiev). Hlavná časť práce bola zameraná na testovanie biokompatibility a účinnosti týchto materiálov *in vivo* na modeli *Galleria mellonella*. Pri experimentoch bol použitý kmeň *S. aureus* EDCC 5055, ktorý bol predinkubovaný v PBS s pripravenými implantátmi (hrúbka 0,8 mm, dĺžka 6 mm) s cieľom dosiahnuť adhérenciu baktérií na ich povrchu. Časť vzoriek bola ožiarená 2 min zeleným laserom ($\lambda = 532$ nm, 100 mW) a následne implantovaná do lariev *G. mellonella*. Vybrané vzorky boli zároveň použité na antibakteriálne testovanie, ktoré bolo vyhodnocované pomocou CFU/implantát. Prežívanie lariev bolo sledované počas nasledujúcich 5 dní.

Všetky testované materiály preukázali biokompatibilitu v modeli *G. mellonella*. Implantáty zároveň vykazovali výraznú antibakteriálnu aktivitu *in vitro* proti planktonickým bunkám, pričom bola pozorovaná inhibícia rastu o viac ako 95%. V skupinách s implantátmi ožiarенými laserom bolo zaznamenané výrazne vyššie prežívanie lariev - o viac ako 40 % v porovnaní s kontrolou bez modifikácie. UV-VIS spektroskopia potvrdila uvoľňovanie floxínu B zo vzoriek počas 30 min inkubácie. Získané preliminárne výsledky poukazujú na potenciál fotoaktívnych povrchových úprav ako účinnej stratégie prevencie infekcií spojených s používaním medicínskych pomôcok.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-21-0302, APVV-22-0150, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0240/23 a VEGA 1/0484/24. Financované EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I01-03-V04-00022.

Zmeny génovej expresie astrocytov infikovaných SARS-CoV-2

Bhide Katarína ¹, Sláviková Monika ³, Maľarik Lea ¹, Kucková Katarína ¹, Klempa Boris ³, Bhide Mangesh ^{1,2}

¹Laboratórium biomedicínskej mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

²Neuroimunologický ústav SAV, v. v. i., Dúbravská cesta 9, 845 36 Bratislava

³Biomedicínske centrum SAV, v. v. i., Virologický ústav, Dúbravská cesta 9, 845 36 Bratislava
katarina.bhide@uvlf.sk

SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) je pôvodcom ochorenia COVID-19 (CoronaVirus Disease), ktoré sa prvýkrát objavilo v meste Wu-chan v Číne koncom roku 2019 ako respiračná infekcia. Ukázalo sa, že vírus má aj neuroinvázičný potenciál; dokáže prechádzať cez hematoencefalickú bariéru (HEB) a infikovať rôzne bunky centrálného nervového systému (CNS). Vhodným miestom pre replikáciu v CNS sú astrocyty, ktoré sú súčasťou HEB a zohrávajú úlohu pri správanom fungovaní neurónov. Replikácia vírusu ovplyvňuje génovú expresiu, čo vedie k narušeniu metabolizmu astrocytov. Pre štúdium zmeny génovej expresie sme infikovali primárne astrocyty s Slovakia/SK-BMC-BA42/2022-variant Omicron VOC BA.5.2 a Slovakia/SK-BMC-BA15/2021-variant Delta VOC B.1.617.2 s MOI 0,2 jednu hodinu pri 37°C a 5% CO₂. Po hodine bolo médium vymenené a inkubácia pokračovala ďalších 5 hodín. Po infekcii boli bunky lyzované, RNA bola izolovaná s RNeasy Mini Kit (Qiagen) podľa pokynov výrobcu. Koncentrácie RNA boli merané na nanodrop (Thermo Fisher) a integrita bola overená kapilárnou elektroforézou (Fragment analyzer, Advanced Analytical Technologies, Inc., USA). RNA sekvenovanie (QuantSeq 3' mRNA-Seq) prebehlo na Illumina NextSeq (single-end 75 bp, 13 millions reads/sample) a výsledky boli validované pomocou qRT-PCR. Za významnú zmenu v génovej expresii sme určili logFC +/-0,9. Omicron variant významne up-reguloval 197 génov (logFC > 0,9) a down-reguloval (logFC < -0,9) 149 génov, zatiaľ čo Delta významne up-reguloval (logFC > 0,9) 215 génov a down-reguloval (logFC < -0,9) 126 génov. Analýza Reactome odhalila zmeny expresie génov podieľajúcich sa napr. na glutamátovej a GABA signalizácii, produkcii gliotransmiterov, neurotrofínov, alebo metabolizme glukózy, glykogénu a laktátu.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-22-0084 a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA1/0381/23.

Kmeňovo-špecifické rozdiely v protizápalových vlastnostiach probiotík

Benetinová Veronika, Štofilová Jana, Bertková Izabela, Kamlárová Anna,
Kvaková Monika, Adamková Petra

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Centrum klinického a predklinického
výskumu MEDIPARK, Trieda SNP 1, 040 11 Košice
veronika.benetinova@upjs.sk

Zápal je kľúčová obranná reakcia, ktorej chronická aktivácia v dôsledku environmentálnych faktorov a črevnej dysbiózy prispieva k rozvoju zápalových črevných ochorení, metabolického syndrómu či kardiovaskulárnych patológií. Dysbióza, charakterizovaná nerovnováhou medzi prozápalovo a protizápalovo pôsobiacimi druhmi mikroorganizmov, vedie k narušeniu črevnej bariéry, oxidačnému stresu a nadprodukcii zápalových mediátorov. Napriek významnému pokroku stále absentujú terapeutické prístupy schopné súčasne obnoviť črevnú mikrobiálnu homeostázu, posilniť integritu črevnej bariéry a efektívne potlačiť zápal bez sprievodných nežiaducich účinkov. Probiotiká predstavujú sľubnú terapeutickú stratégiu, pričom kľúčovým determinantom ich účinnosti je kmeňová špecifita. Jednotlivé kmene toho istého druhu môžu disponovať rozdielnymi imunomodulačnými mechanizmami a variabilným protizápalovým potenciálom.

Cieľom práce bola charakterizácia imunomodulačných vlastností novoizolovaných kmeňov laktobacilov prostredníctvom *in vitro* modelov makrofágov a črevného epitelu, so zameraním na identifikáciu kmeňov s najvýraznejším protizápalovým účinkom a s perspektívou ich využitia v terapii črevných zápalových ochorení. Výsledky experimentov potvrdili kmeňovo špecifický účinok testovaných probiotík. Kmene LAB2, LAB7 a LAB12 druhu *L. fermentum* výrazne inhibovali produkciu chemokínov IL-8, MCP-1 stimulovaných prozápalovým cytotoxom na modeli črevnej bariéry. Zároveň tieto kmene signifikantne stimulovali aj imunoregulačný cytokín IL-10 na modeli prozápalových makrofágov M1, čo naznačuje ich možný potenciál využitia ako protizápalových terapeutických agensov. Pri porovnaní s klinicky relevantnými kmeňmi probiotík *L. rhamnosus* GG a *L. plantarum* 299v izolát LAB7 vykazoval výrazne lepšiu protizápalovú aktivitu týkajúcu sa stimulácie IL-10, a preto bol vybraný pre ďalšie ciele *in vivo* testovanie.

Selektívna voľba konkrétneho probiotického kmeňa alebo ich racionálne zvolenej kombinácie, ktorej účinnosť bola preukázaná v relevantných experimentálnych či klinických podmienkach, predstavuje zásadný determinant pre dosiahnutie požadovaných zdravotných efektov.

Tento výskum bol podporený grantami APVV-23-0354, APVV-23-0031, VEGA 1/0232/25, VEGA 1/0253/25 a v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SI Food 313011V336.

Analýza sekvencie celého genómu a subtraktívne skrínigové testovanie laktobacilov pri hľadaní nových probiotík na ochranu mliečnej žľazy

Bujňáková Dobroslava, Karahutová Lívia, Galambošiová Timea

Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Centrum Biovied SAV, v.v.i., Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice
dbujnak@saske.sk

Pri hľadaní nových probiotických prípravkov na ochranu mliečnej žľazy pred mastitídou bolo pomocou hmotnostnej spektrometrie s matricou podporovanou laserovou desorpciou a ionizáciou (MALDI-TOF MS) identifikovaných 103 izolátov získaných z mlieka zdravých dojnic. *Lactobacillus* sp. s hodnotiacim skóre vyšším ako 2.3 boli podrobené predbežnému subtraktívnemu skrínigovému *in vitro* analýz, ktorý zahŕňal posúdenie bezpečnosti kmeňov, ako sú citlivosť na antibiotiká a enzýmové aktivity. Po vylúčení kmeňov s nežiadúcimi vlastnosťami boli zvyšné kmene testované na antimikrobiálnu aktivitu voči izolátu *Staphylococcus aureus* z bovinnej mastitídy a referenčným kmeňom *Escherichia coli* C 1971, *Salmonella enteritidis* CCM 4420, *Bacillus cereus* CCM 869 s využitím mikrotitračnej platničky a na schopnosť tvoriť bakteriálny biofilm pomocou metódy farbenia kryštálovou violetou.

Vhodné izoláty (*Lactobacillus salivarius* 48; *Lactobacillus paracasei* 29 a *Lactobacillus fermentum* 106), spĺňajúce kritériá bezpečnosti a funkčnosti boli podrobené analýze sekvencie celého genómu. Gény rezistencie a virulencie neboli detekované pri analýze genómu. Izoláty obsahovali genetické informácie zodpovedné za produkciu viacerých bakteriocínov, vrátane salivaricínu. Naša štúdia preukazuje bezpečnosť týchto izolátov laktobacilov s potenciálom použitia ako probiotík, ktoré by mohli mať priaznivý vplyv na zdravie prostredníctvom produkcie antimikrobiálnych látok na inhibíciu baktérií spôsobujúcich mastitídu, ale aj iné infekcie.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-22-0457 a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 2/0040/25.

Fágová terapia ako alternatívna metóda liečby infekcií spôsobených multirezistentnými kmeňmi *K. pneumoniae*

Alexandra Burdová¹, Petra Jakubcová¹, Livia Slobodníková², Ján Koreň², Jozef Ficik³, Adriana
Liptáková², Hana Drahovská¹

¹Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

²Ústav mikrobiológie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

³Inštitút klinickej mikrobiológie, Ústredná vojenská nemocnica SNP, Ružomberok

Alexandra Burdová, burdova23@uniba.sk

Klebsiella pneumoniae je nepohyblivá gramnegatívna baktéria z čeľade *Enterobacteriaceae*. Ako jeden z hlavných zástupcov ESKAPE patogénov zohráva významnú úlohu pri rôznych infekciách, ako sú pneumónia, infekcie močových ciest a baktérie v krvi, najmä u imunitne oslabených a hospitalizovaných pacientov. Nedávny nárast multirezistentných kmeňov, spôsobený produkciou ESBL a karbapenemáz, výrazne obmedzil terapeutické možnosti, čo zdôrazňuje potrebu nových prístupov v boji proti tomuto patogénu. Cieľom našej práce bolo izolovať bakteriofágy infikujúce karbapeném-rezistentné kmene *K. pneumoniae*. V práci sme charakterizovali 100 kmeňov *K. pneumoniae* pochádzajúcich z Ústrednej vojenskej nemocnice v Ružomberku. Na základe wzi typizácie sme kmene zaradili do 9 skupín, z ktorých najčastejšie boli wzi 50 (n=43) a wzi 173 (n=45). Sedemdesiat kmeňov sme analyzovali aj pomocou next-gen sekvenovania. Kmene sme pomocou metódy MLST zaradili do piatich sekvenčných typov. Najčastejšími typmi boli ST-11 a ST-307, ktoré celosvetovo patria medzi najrozšírenejšie sekvenčné typy karbapeném rezistentných *K. pneumoniae*. V druhej časti práce sme z odpadovej vody izolovali šesť bakteriofágov infikujúcich kmene *K. pneumoniae*. Na základe sekvencií DNA boli bakteriofágy zaradené do rodov *Kaypovavirus*, *Webervirus* a *Pylasvirus*. Stanovili sme hostiteľskú špecifitu fágov na súbore klinických kmeňov, pričom fágy infikovali minimálne jeden a maximálne 54 kmeňov *K. pneumoniae*. Najširšie hostiteľské spektrum mal fág vKMB-55, ktorý infikoval 54 (54 %) testovaných kmeňov, najmä kmene ST-307 a ST-11. Úzke hostiteľské spektrum mali bakteriofágy vKMB-53 a vKMB-57, ktoré boli schopné infikovať iba kmeň KMB-1234 (ST-11, wzi 24), a bakteriofág vKMB-56, ktorý infikoval len KMB-1239 (ST-5889, wzi 23). Izolované bakteriofágy môžu byť využité ako alternatíva antibiotík na liečbu infekcií vyvolaných karbapeném-rezistentnými kmeňmi *K. pneumoniae*.

Tento výskum bol zrealizovaný vďaka Agentúre na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-23-0140.

Genetická analýza vtáčích kmeňov West Nile vírusu (rod *Orthoflavivirus*) izolovaných z klinických prípadov

Csank Tomáš¹, Loziaková Peňazziová Katarína¹, Pivka Soňa¹, Vivien Kiss^{2,3}, Pačanská Zuzana¹

¹ Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie a imunológie,
Komenského 73, 041 81 Košice

² University of Pécs, Szentágotthai Research Center, Virological Research Group, Ifjuság útja 20., Pécs
7624, Hungary

³ Észak-magyarországi Lógyógyászati Kft., Lévy József utca 1., 3534 Miskolc, Hungary
tomas.csank@uvlf.sk

Vírus západonílskej horúčky (WNV) je globálne rozšírený ortoflavivírus, ktorý predstavuje významnú hrozbu pre vtáčie populácie, pričom dravé vtáky často vykazujú vysokú náchylnosť a úmrtnosť. WNV je arbovírus, ktorý sa v prírode udržiava v enzootickom cykle medzi komármi a vtákmi. Hoci infekcia WNV je u vtákov často bezpríznaková, u niektorých druhov, najmä u dravých vtákov, sa môže vyvinúť závažné klinické ochorenie končiacie úhynom.

V rámci štúdie bolo analyzovaných osem kmeňov WNV, ktoré pochádzali od mŕtvych voľne žijúcich dravcov, alebo dravcov chovaných v zajatí. Klinické prípady boli zaznamenané v piatich okresoch u šiestich jastrabov veľkých (*Astur gentilis*), jastraba krahulca (*Astur nisus*) a u sovy laponskej (*Strix nebulosa lapponica*). Genóm vírusov bol analyzovaný Illumina platformou na NovaSeq 6000 systéme. WNV patriace do línie 2 môžu byť klasifikované do štyroch skupín A, B, C a F. Do poslednej skupiny patria európske kmene rozdelené do podskupín D a E (Šolaja et al., 2024). Kódujúce oblasti slovenských kmeňov WNV boli porovnané s 55 európskymi a africkými sekvenciami. Analyzované vírusy zo Slovenska sú zoskupené do podskupín E1 a E2 spoločne so západo- a stredoeurópskymi kmeňmi. V podskupine D2.1 sú slovenské kmene WNV zoskupené v rámci Balkánskeho klastra s izolátmi z Maďarska. V štruktúrálnych a neštruktúrálnych proteínoch sme zaznamenali 28 nesynonymných zámen, z ktorých 6 bolo unikátnych s potenciálom vplyvom na virulenciu.

Línia 2 WNV bola identifikovaná ako významný problém v Európe, keďže za posledné desaťročia výrazne rozšírila svoje geografickú distribúciu. Každoročné epidémie v populácii ľudí a zvierat v Európe zdôrazňujú potrebu neustáleho sledovania a genetickej charakterizácie cirkulujúcich kmeňov WNV.

Podakovanie: Spolufinancované projektom KEGA 018UVLF-4/2025 a Európskou úniou v rámci projektu 101132974 - OH SURVector. Vyjadrené názory a stanoviská sú výlučne názormi autora (autorov) a nemusia nevyhnutne odrážať názory a stanoviská Európskej únie alebo Európskej výkonnej agentúry pre zdravie a digitalizáciu (orgán poskytujúci pomoc). Európska únia ani orgán poskytujúci pomoc za ne nemôžu niesť zodpovednosť.

Výskyt izolátov *Klebsiella pneumoniae* rezistentných na karbapenemázu v regionálnej nemocnici na Slovensku a význam génov virulencie a produkcie biofilmu k celkovej patogenite

Dekkerová Jaroslava¹, Walentín Tomáš¹, Jozefíková Anna², Liščáková Jana², Bujdáková Helena¹

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie,
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava

²Kysucká nemocnica s poliklinikou Čadca, Oddelenie klinickej mikrobiológie a centrálnej sterilizácie,
Palárikova 2311, 022 16 Čadca
jaroslava.dekkerova@uniba.sk

Prevalencia izolátov *K. pneumoniae* produkujúcich karbapenemázu (CPE, z angl. „carbapenemase“) v nemocničnom prostredí má za posledné desaťročie výrazne zvýšený trend. Rezistencia často súvisí so schopnosťou klinických izolátov tvoriť biofilm. Hlavným cieľom experimentálnej práce bolo preskúmať schopnosť tvorby biofilmu vybraných izolátov *K. pneumoniae* s preukázanou produkciou CPE z regionálnej nemocnice na Slovensku a určiť prítomnosť rezistencie a reguláciu génov virulencie spojených práve s biofilmom. Biofilm bol kvantifikovaný farbením kryštálovou violeťou a metabolická aktivita biofilmu bola stanovená metódou MTT. Viac ako 50 % všetkých izolátov *K. pneumoniae* bolo potvrdených ako silní producenti biofilmu a zároveň mali potvrdenú vyššiu metabolickú aktivitu biofilmu v porovnaní so slabo resp. stredne biofilm tvoriacimi izolátmi. Okrem toho bola pomocou PCR potvrdená prítomnosť génov rezistencie (*blaSHV1*, *blaTEM1*, *blaCTXM1*) a génov spojených s tvorbou biofilmu (*fimH*, *mrkD*, *entB*). PCR potvrdila prítomnosť génov asociovaných s rezistenciou na ESBL a génov dôležitých pre vývoj biofilmu vo všetkých testovaných klinických izolátoch. Nakoniec bola stanovená zmena expresie génov asociovaných s biofilmom v závislosti od schopnosti tvoriť biofilm vybraných izolátov *K. pneumoniae* pomocou qPCR. Výsledky potvrdili zvýšenú expresiu génov súvisiacich s adhéziou *fimH* a *mrkD* u stredne silných (3,3x viac pre *FimH* a 12x viac pre *mrkD*) alebo silných producentov biofilmu *K. pneumoniae* (2,2x viac pre *fimH* a 13,4x pre *mrkD*) v porovnaní so slabými producentmi biofilmu. Zmeny regulácie génu *entB* pre siderofóry v závislosti od intenzity biofilmu nebola preukázaná. Získané výsledky poskytujú cenné informácie o vzťahu medzi zvýšením rezistencie, prítomnosťou CPE a produkciou biofilmu, ako aj o genetickej regulácii biofilmu klinických izolátov *K. pneumoniae*.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-21-0302, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0240/23 a NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti Slovenska v rámci projektu č. 09I01-03-V04-00022.

Biologické dôsledky expozície bisfenolu A a jeho analógov u modelového organizmu *Caenorhabditis elegans*

Hockicková Patrícia, Kaiglová Alžbeta, Kucharíková Soňa

Trnavská univerzita v Trnave, Katedra laboratórnych vyšetrovacích metód v zdravotníctve,
Univerzitné námestie 1, 918 43 Trnava
patricia.hockickova@tvu.sk

Endokrinné disruptory (EDC) sú exogénne zlúčeniny, ktoré dokážu narušiť homeostázu endokrinného systému. Medzi najvýznamnejších zástupcov tejto skupiny látok patrí bisfenol A (BPA), syntetická zlúčenina bežne využívaná pri výrobe polykarbonátových plastov a epoxidových živíc. Z hľadiska biologických účinkov je BPA biologicky aktívny už pri mikromolárnych koncentráciách, pričom sa správa ako xenoestrogén. Jeho mechanizmus účinku zahŕňa napodobňovanie prirodzených hormónov a kompetitívnu väzbu na hormonálne receptory. Táto interakcia je spájaná s etiológiou širokého spektra patologických stavov, vrátane reprodukčných, neurobehaviorálnych a metabolických porúch, ako aj so zvýšenou incidenciou neoplastických ochorení. V reakcii na preukázané riziká BPA sa začalo s jeho substitúciou štrukturálne podobnými analógmi, ako sú bisfenol S (BPS), bisfenol F (BPF) a bisfenol AF (BPAF), avšak poznatky o ich škodlivých účinkoch na zdravie nie sú dostatočne charakterizované. Naša štúdia sa zamerala na komparatívnu analýzu účinkov BPA a jeho analógov na modelový organizmus *Caenorhabditis elegans*. Vyhodnotili sme biologické parametre divokého kmeňa nematód (N2) a dvoch mutantných kmeňov (*bli-1* a *dpy-13*) s porušenou syntézou kutikuly. Monitorovali sme tri kľúčové parametre - senzorickú neuroplasticitu prostredníctvom sledovania behaviorálnych zmien (habituácia), reprodukčnú schopnosť nematód (ovipozícia) a vitalitu embryí. Výsledky potvrdili, že všetky testované bisfenoly mali signifikantný negatívny vplyv na sledované parametre. Komparatívna analýza ďalej odhalila, že BPF a BPAF preukázali výraznejšie negatívne pôsobenie na nematódy v porovnaní s BPA, čo sa prejavilo v zhoršených neurobehaviorálnych a reprodukčných parametroch. Zistenia zároveň poukazujú na zvýšenú citlivosť mutantných kmeňov na bisfenoly vo všetkých testovaných parametroch. To naznačuje, že genetická predispozícia je kľúčovým faktorom pri hodnotení vplyvu environmentálnych kontaminantov. Vzhľadom na zvýšenú citlivosť môžu mutantné kmene slúžiť ako lepšie a citlivejšie modelové organizmy pre budúce skriningové testy chemických látok. Tieto výsledky tiež podčiarkujú potrebu komplexného toxikologického posudzovania chemických alternatív pred ich zavedením do priemyselného a spotrebiteľského používania.

Podakovanie: Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-24-0093, Kultúrnou a edukačnou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, výskumu, vývoja a mládeže Slovenskej republiky (KEGA 013UCM-4/2025).

Epikatechín vs. EGCG: porovnanie biologických účinkov a hodnotenie bezpečnosti

Hollá Katarína¹, Víglaš Ján², Nováková Vanesa¹, Bírošová Lucia¹

¹Slovenská technická univerzita, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Ústav potravinárstva a výživy, Oddelenie výživy a hodnotenia kvality potravín,
Radlinského 9, 812 37 Bratislava

²Slovenská technická univerzita, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Ústav biochémie a mikrobiológie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
katarina.holla@stuba.sk

Katechíny patria medzi prírodné flavonoidy známe svojimi priaznivými účinkami na ľudské zdravie. Epikatechín a epigallokatechín galát (EGCG) patria medzi hlavné katechíny zeleného čaju a odlišujú sa nielen chemickou štruktúrou, ale aj intenzitou biologických účinkov. Prezentované výsledky porovnávajú účinky týchto dvoch katechínov na baktérie a zároveň hodnotia ich bezpečnosť prostredníctvom testovania toxicity na *in vivo* modeli *Galleria mellonella* a skúmania rizika indukcie rezistencie voči antibiotikám pomocou Amesovho testu. Testovanie antibakteriálnej aktivity potvrdilo silnejší inhibičný účinok EGCG v porovnaní s epikatechínom. Pri hodnotení potenciálu zosilniť účinok antibiotík sa ukázalo, že epikatechín zvyšuje citlivosť MRSA na cefoxitín, zatiaľ čo EGCG tento efekt nevykazoval. Za účelom bližšieho objasnenia mechanizmu antibakteriálneho účinku bola skúmaná schopnosť oboch katechínov depolarizovať alebo permeabilizovať bakteriálne membrány. Inhibícia tvorby biofilmu epikatechínom a EGCG sa potvrdila pri dvoch silných producentoch - modelovom kmeni *Pseudomonas aeruginosa* a environmentálnom izoláte *Escherichia coli*. Toxicita oboch katechínov bola testovaná na *in vivo* modeli *Galleria mellonella*, pričom všetky testované koncentrácie sa ukázali ako netoxické. Epikatechín a EGCG sú častými zložkami prípravkov na podporu rastu svalov či redukciu hmotnosti. Ich vysoká spotreba vedie k vylučovaniu do odpadových vôd, kde môžu prispievať k vzniku selekčného tlaku podporujúceho vznik a šírenie génov rezistencie voči antibiotikám. Preto je dôležité posúdiť ich bezpečnosť aj z hľadiska možnej indukcie rezistencie v bakteriálnych populáciách. Riziko indukcie rezistencie voči ciprofloxacínu bolo skúmané modifikovaným Amesovým testom na kmeňoch *S. typhimurium* TA 98 a *E. coli* WP2 (λ).

Tento výskum bol podporený projektom Mladý výskumník STU pod názvom VEGAN 1394 a projektom VEGA 1/0464/21.

Genomická analýza kmenů *Escherichia coli* izolovaných z biopsií pacientů s kolorektálním karcinomem

Kateřina Holubová, Saša Zahornacká, Zoe Kolarčíková, David Šmajš, Juraj Bosák

Masarykova Univerzita, Lékařská fakulta, Biologický ústav, Kamenice 753/5, 625 00 Brno
katerina.holubova@med.muni.cz

E. coli je bakterie, která je významnou součástí střevního mikrobiomu každého jedince. *E. coli* je zpravidla považována za komenzální a zcela neškodnou, ale vyskytují se mezi nimi i vážné patogeny způsobující extraintestinální a průjemové infekce. V posledních letech byla zkoumána i role *E. coli* u chronických onemocnění trávicího traktu člověka, ale také u výskytu kolorektálního karcinomu. Za účely objasnění tohoto vztahu byla v rámci naší laboratoře provedena studie [1], která charakterizovala 246 izolátů *E. coli* z biopsií 61 pacientů s kolorektální neoplazií a 20 zdravých kontrol na základě přítomnosti genů 35 virulenčních faktorů. Tato studie identifikovala častější výskyt čtyř genů virulenčních faktorů (*ibeA*, *iroN*, *sfa*, *usp*) u pacientů s karcinomem kolorektálního traktu ve srovnání s kontrolní skupinou. U pacientů v pokročilejších stádiích karcinomu byla navíc prevalence těchto virulenčních faktorů zvýšená oproti pacientům v časných stádiích. Na základě výsledků této studie bylo vybráno 217 izolátů, u kterých byla následně provedena celogenomová sekvenace. Po sestavení genomů čítaly výsledky sekvenace průměrně 172 kontigů o délce větší než 500 bp, s průměrnou hloubkou krytí 600×. Jednalo se o dostatečnou kvalitu sekvenace. Pro genomickou analýzu byly vybrány databáze VirulenceFinder a Virulence Factor Database (VFDB). Dle výsledků analýzy se v genomech vyskytuje 163 jedinečných genů virulenčních faktorů, s průměrným výskytem 30 genů v rámci genomu jednotlivých kmenů. Výsledky genomické analýzy naznačují, že existují rozdíly v zastoupení genů virulenčních faktorů u kmenů *E. coli* pacientů s kolorektálním karcinomem ve srovnání se zdravými jedinci. Geny virulenčních faktorů, u kterých byla nalezena souvislost s výskytem karcinomu, mají potenciál využití jako markery při testech na prevenci kolorektálního karcinomu.

[1] Bosák, J., Kohoutová, D., Hrala, M., Křenová, J., Morávková, P., Rejchrt, S., Bureš, J., & Šmajš, D. (2023). *Escherichia coli* from biopsies differ in virulence genes between patients with colorectal neoplasia and healthy controls. *Frontiers in microbiology*, 14, 1141619.

Tento výzkum byl podpořen projektem Národního institutu virologie a bakteriologie (Program EXCELES, ID: LX22NPO5103, financovaný Evropskou unií – Next Generation EU) a Ministerstvem zdravotnictví České republiky (NW25-09-00323)

Genetická diverzita bakteriofágov rodu *Cronobacter* a ich potenciál v terapii

Michal Kajsik^{1,2}, Peter Ďurovka¹, Barbora Nináčová¹,
Hana Drahovská²

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Vedecký park, Ilkovičova 8, 841 04 Bratislava

²Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie,
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava
michal.kajsik@uniba.sk

Rod *Cronobacter* (*Enterobacteriaceae*) zahŕňa sedem druhov oportunistických patogénov spojených so závažnými infekciami novorodencov, ako sú meningitída, nekrotizujúca enterokolitída a sepsa. Napriek ich nízkej incidencii sú tieto infekcie charakteristické vysokou mortalitou a narastajúcou rezistenciou izolátov voči bežne používaným antibiotikám. Bakteriofágy predstavujú sľubnú alternatívu v liečbe aj prevencii kontaminácie potravín, avšak ich efektívna aplikácia si vyžaduje detailnú genetickú charakterizáciu. Počet dostupných genómov bakteriofágov *Cronobacter* v databáze INSDC sa výrazne zvýšil z 18 v roku 2014 na 50 do mája 2025, s veľkosťami genómov od 22 do 223 kb. Okrem týchto údajov sme analyzovali aj osem nových izolátov (vB_Ctu_VP1, vB_Ctu_VP2, vB_Ctu_VP3, vB_Ctu_VP6, vB_Cmu_VP5, vB_Cma_VP9, vB_Cma_VP10 a vB_Cdu_VP22) izolovaných a charakterizovaných na Slovensku. Prostredníctvom komparatívnej genomiky sme hodnotili genetickú diverzitu týchto fágov na základe nukleotidovej podobnosti, zdieľaného génového zastúpenia a fylogenetickej analýzy jednotlivých génov. Výsledky poukazujú na vysokú genetickú variabilitu, pričom fágy možno rozdeliť do 11 klastrov a 13 genómov predstavujúcich jedinečné línie. Najpočetnejší je klaster A obsahujúci zástupcov rodu *Cronovirus*, ktorý zahŕňa 10 bakteriofágov prevažne izolovaných na Slovensku. Zamerali sme sa aj na stanovenie biologických vlastností bakteriofágov v našich zbierkach, ako napríklad hostiteľská špecificita, stanovenie životného cyklu a antimikrobiálna aktivita v modelových podmienkach.

Tieto zistenia poskytujú aktualizovaný prehľad diverzity bakteriofágov rodu *Cronobacter* a zdôrazňujú ich potenciál ako účinných nástrojov v budúcej fágovej terapii a stratégiách kontroly infekcií.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-23-0140.

Adaptive remodeling of *Bordetella* type III secretion system in response to environmental and host cues

Kamanová Jana¹, Malcova Ivana¹, Zmuda Martin¹, Vondrova Denisa¹, Allsop Romero Tania¹

¹Institute of Microbiology, Czech Academy of Sciences, Videnska 1083, 142 00 Praha 4 – Krč, Czech Republic
kamanova@biomed.cas.cz

The classical *Bordetella* species, *B. bronchiseptica* and *B. pertussis*, are closely related respiratory pathogens that colonize the ciliated epithelium of the mammalian airway, causing diseases that range from chronic infections in animals to acute whooping cough in humans. A central virulence determinant of these bacteria is the type III secretion system (T3SS), a multiprotein nanomachine that translocates bacterial effector proteins directly into the cytosol of host cells. The *Bordetella* T3SS consists of a basal body, a needle filament, and a distinctive helical tip filament composed of the Bsp22 protein. This tip structure connects the injectisome to the host membrane and is essential for the translocation of the cytotoxic effector BteA. Once delivered into host cells, BteA disrupts calcium homeostasis and induces rapid, non-apoptotic cell death.

Using high-resolution microscopy and gene expression analyses, we demonstrate that Bsp22 forms flexible filaments that dynamically elongate at their distal ends under secretion-permissive conditions. Upon host cell contact or cultivation in host cell media, filament growth is restricted and *bsp22* expression is downregulated, while the injectisome remains functional for BteA delivery. In differentiated human nasal epithelial cultures, Bsp22 filaments become sparse and align with host cilia, reflecting structural remodeling of the injectisome during mucosal colonization.

Collectively, these findings reveal that the *Bordetella* T3SS is a highly dynamic apparatus whose architecture and regulation are tightly coordinated with environmental and host cues.

This work has been funded by grant 24-11053S of the Czech Science Foundation (www.gacr.cz), and a grant from the program Johannes Amos Comenius under the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (project Nr CZ.02.01.01/00/22_008/0004597).

Prebiotiká ako podpora probiotických baktérií a ich vlastností

Kamlárová Anna, Štofilová Jana, Kvaková Monika, Benetinová Veronika

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Centrum klinického a predklinického
výskumu MEDIPARK, Trieda SNP 1, 040 11 Košice
anna.kamlarova@upjs.sk

Biomedicínsky výskum posledných rokov sa intenzívne zameriava na výskum črevného mikrobiómu s cieľom lepšie pochopiť jeho význam a úlohu v ľudskom zdraví, ako aj možnosti jeho cielenej modulácie. Črevný mikrobióm zohráva v organizme kľúčovú úlohu, okrem zabezpečenia tráviacich a metabolických procesov prispieva aj k regulácii imunitných reakcií, ochrane hostiteľa pred patogénmi a k udržiavaniu celkového zdravia a pohody.

Probiotiká a prebiotiká predstavujú dôležité nástroje cielenej modulácie a podpory črevnej mikrobioty. Probiotiká sú živé mikroorganizmy, ktoré pri podávaní v dostatočnom množstve poskytujú hostiteľovi zdravotné benefity. Prebiotiká sú substráty využívané probiotickými a ďalšími prospešnými baktériami, pričom stimulujú ich rast a aktivitu čím pozitívne ovplyvňujú zdravie človeka. Prebiotiká i probiotiká poskytujú hostiteľovi zdravotné benefity aj samostatne, avšak ich vhodnou kombináciou (probiotikum + prebiotikum) môžeme vytvoriť synbiotikum, ktoré môže ešte výrazne efektívnejšie, synergicky zvyšovať pozitívne účinky.

Cieľom tejto práce bolo analyzovať vplyv prebiotických substrátov na rast a podporu prospešných vlastností troch probiotických kmeňov *Limosilactobacillus fermentum* (LF-AK1, LF-AK2 a LF-AQ3), u ktorých boli potvrdené prospešné probiotické vlastnosti ako protizápalový účinok, inhibícia patogénov, podpora črevnej bariéry etc. Testovaných bolo sedem prebiotických substrátov vo forme čistých izolovaných látok - inulín z čakanky, fruktooligosacharidy odvodené od inulínu (Orafti P95 a Orafti Synergy1), maltodextrín z kukuričného škrobu alebo komplexných rastlinných zmesí - karobový prášok, čakankový sirup a prášok z ľanových semien. Sledoval sa účinok jednotlivých prebiotík na rast probiotických kmeňov a následne aj vplyv na inhibíciu rastu *E. coli*, pričom bol porovnávaný účinok probiotík a synbiotík. Výsledky priniesli pár sľubných synbiotických kombinácií pre ďalšie analýzy.

Tento výskum bol podporený grantami APVV-23-0354, APVV-23-0031, VEGA 1/0232/25, VEGA 1/0253/25 a v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dopytovo-orientovaný výskum pre udržateľné a inovatívne potraviny, Drive4SI Food 313011V336.

Úloha N-glykozylácie v replikácii a prenose vírusu kliešťovej encefalitídy

Kevély Ádám¹, Nováková Eva^{1,2}, Koči Kamila^{2,3}, Koči Juraj^{1,3}

¹ Biomedicínske centrum SAV, v. v. i., Virologický ústav, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava

² Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava

³ Ústav zoológie, Dúbravská cesta 9, 845 06 Bratislava
adam.kevely@savba.sk

Vírus kliešťovej encefalitídy (TBEV) je obalený RNA vírus spôsobujúci ochorenie s trvalými neurologickými následkami. Jeho genóm kóduje tri štruktúrne a osem neštruktúrnych proteínov. Na zabezpečenie efektívnej replikácie, prenosu a úniku pred imunitnou odpoveďou TBEV využíva viacero z týchto proteínov, najmä obalový glykoproteín E, prekursor membránového proteínu prM a neštruktúrny proteín NS1. Uvedené proteíny podliehajú posttranslačnej N-glykozylácie, ktorá zásadne ovplyvňuje ich štruktúru a funkciu. Na preskúmanie úloh týchto glykozylácií sme pomocou metódy reverznej genetiky vytvorili mutantné vírusové varianty so špecifickými aminokyselinovými zamenami v N-glykozylačných miestach. V cicavčích a kliešťových bunkových kultúrach sme pri mutantných variantoch pozorovali nižší titer v porovnaní s divým kmeňom, pričom mutácie v proteínoch E a NS1 mali najvýraznejší vplyv na replikáciu vírusu. Rovnako v dormantných kliešťoch vykazovali mutantné varianty TBEV zníženú dynamiku replikácie, prevažne v neskorších intervaloch infekcie (deň 7 a 14), čo sa prejavilo zníženým titrom pri porovnaní s divým kmeňom. *In vivo* experimenty zamerané na neviremický prenos mutantných TBEV variantov preukázali signifikantne znížený prenos variantov nielen medzi kliešťami, ale aj z kliešťa do hostiteľa. Okrem toho, znížená neurovirulencia mutantných TBEV variantov *in vivo* poukazuje na úlohu glykozylácie v patogenéze infekcie spôsobenej TBEV. Celkovo naše výsledky naznačujú, že N-glykozylácia proteínov TBEV je zásadná pre replikáciu vírusu, jeho perzistenciu, prenos a virulenciu, čo sú kľúčové predpoklady pre zachovanie enzootického cyklu TBEV.

Tento výskum bol financovaný EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I01-03-V04-00089

***Dinoroseobacter shibae* koordinuje genovou expresi pomocí změny 3D struktury chromosomu**

Tomasch Jürgen, Hronek Pavel, Kopejtko Karel,
Koblížek Michal

Laboratoř anoxygenních fototrofů, Mikrobiologický ústav AV ČR, Třeboň
koblizek@alga.cz

Nedávné studie prokázaly, že 3D uspořádání bakteriálních chromozómů hraje důležitou roli v regulaci buněčné exprese. Tyto práce využívají metodu Chromosome conformation capture sequencing (HiC), která umožňuje určit vzájemná kontaktní místa jednotlivých úseků chromozómalní DNA. Pro naši studii jsem použili fototrofní bakterii *Dinoroseobacter shibae*, která byla izolována před 20 lety z kultur mořských obrněnek. Její fotosyntetický aparát je kódován 46 geny uspořádanými v jednom souvislém fotosyntetickém genovém klastru (PGC). Jejich exprese je koordinována v závislosti na přirozeném denním cyklu. Pomocí HiC a RNA sekvenování jsme zjistili, že ve tmě zaujímá chromozom v místě PGC otevřenou konformaci, což umožňuje přepis fotosyntetických genů. Na světle se kolem PGC vytvoří těsné chromozómalní smyčky a jeho exprese se zastaví. Bakterie také obsahuje geny pro bakteriální bičík, které jsou rovněž uspořádané v genovém klastru (FGC). Ten je naopak přepisován na světle a utlumen ve tmě. Velké množství hlavních regulátorů obou genových klastrů v proteomu a jejich schopnost oligomerizace naznačují jejich podíl na tvorbě chromozómalních smyček. Kolokalizace obou genových klastrů se vyskytuje i u dalších zástupců řádu Rhodobacterales, což naznačuje, že koordinace biosyntézy těchto dvou struktur konformačními změnami chromozomu může být v této bakteriální skupině běžná.

*Tento výzkum byl podpořen projektem **Photomachines** financovaného v rámci Operačního programu Jan Amos Komenský MŠMT.*

Mikrobiologická kvalita rastlinných alternatív mlieka vyrobených v domácich podmienkach

Koňuchová Martina, Jedličková Monika, Valík Ľubomír

Oddelenie výživy a hodnotenia kvality potravín, Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37

Bratislava

martina.konuchova@stuba.sk

V poslednom čase sa čoraz viac dostáva do popredia trend, pri ktorom spotrebitelia preferujú konzumáciu rastlinných alternatív mlieka a mliečnych výrobkov. Okrem subjektívnych preferencií mnoho spotrebiteľov trpí aj zdravotnými problémami, ako je laktózová intolerancia alebo alergia na mliečne proteíny. Konzumenti si často pripravujú takéto nápoje doma, čo je spojené s potenciálnym mikrobiologickým rizikom.

Z tohto dôvodu sme sa zamerali na analýzu mikrobiologickej kvality nápojov na báze ryže, sóje, ovsa, orechov a kokosu, ktoré boli laboratórne pripravené podľa bežných domácich receptúr. Vzorky surovín sme analyzovali z hľadiska mikrobiologických ukazovateľov (celkový počet mikroorganizmov, počty spórotvorných mikroorganizmov, kvasiniek a vláknitých húb, *Staphylococcus aureus* a koliformných baktérií).

Následne sme zo spomínaných surovín vyrobili 11 vzoriek rastlinných alternatív mlieka a skladovali sme ich po dobu 8 dní pri chladiarenskej teplote 6 °C. Počas skladovania nápojov sme sledovali mikrobiologické zmeny v celkovom počte mikroorganizmov a v počtoch kvasiniek a vláknitých húb. Výsledky poukázali na rozdiely v mikrobiologickej kvalite medzi jednotlivými druhmi nápojov. Najhoršiu mikrobiologickú kvalitu vykazoval nápoj pripravený z mandlí so šupkou, pri ktorom sme na konci skladovacích testov zaznamenali najvyššie počty kvasiniek a vláknitých húb (nad úrovňou 3 log KTJ.ml⁻¹).

Na základe dosiahnutých výsledkov možno konštatovať, že mikrobiologická kvalita rastlinných nápojov je výrazne ovplyvnená kvalitou použitých vstupných surovín. Navyše, získané výsledky zdôrazňujú potrebu informovania spotrebiteľov o rizikách spojených s domácou výrobou rastlinných nápojov a odporúčajú dodržiavanie správnych hygienických postupov.

Tento výskum bol podporený Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0132/23.

Antivírusový účinok IFN typu I na replikáciu kliešťami prenášaných orbivírusov

Loziaková Peňazziová Katarína, Pivka Soňa, Schusterová Petra,
Pačanská Zuzana, Csank Tomáš

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie a imunológie,
Komenského 73, 041 81 Košice
katarina.penazziova@uvlf.sk

Orbivírusy (rod: *Orbivirus*, čeľaď: *Sedoreoviridae*) sú komármi, pakomármi a kliešťami prenášané arbovírusy, ktorých genóm pozostáva z 10 segmentov dsRNA. Kliešťami prenášané orbivírusy (KPO) predstavujú biologicky heterogénnu skupinu, v rámci ktorej bol zoonotický potenciál potvrdený u zástupcov séro skupiny Great Island vírus (GIV). V strednej Európe medzi zoonotické sérotypy GIV patria Tribeč (TRBV), Lipovník (LIPV) a Kemerovo (KEMV) vírusy. Napriek dôkazom o ich neurotropizme sa im venuje len minimálna výskumná pozornosť a nie sú zahrnuté v skriningových štúdiách ani v diferenciálnej diagnostike ochorení CNS. Cieľom práce bolo sledovať replikáciu TRBV a KEMV v závislosti od koncentrácie interferónov typu I (IFN- α , IFN- β). Myšacia fibroblastová línia L929 bola predinkubovaná s IFN (2,5–40 ng/ml) a následne infikovaná TRBV alebo KEMV (MOI 0,1). Infekčný titer v bunkách a médiu bol stanovený po 24 hpi plak formačným testom na Vero E6 bunkách. Pri KEMV došlo k poklesu titra v bunkách o tri logaritmy po IFN- α a o štyri logaritmy po IFN- β už pri 2,5 ng/ml; v médiu bol pokles miernejší (o jeden logaritmus). U TRBV klesol titer v bunkách o tri a v médiu o dva logaritmy pri oboch typoch IFN. Spearmanova analýza potvrdila negatívnu koreláciu medzi koncentráciou IFN a vírusovým titrom ($p = 0,017$ až $< 0,001$).

Výsledky ukázali signifikantný inhibičný účinok IFN- α a IFN- β na replikáciu TRBV a KEMV v L929 bunkách. Zistenia potvrdzujú kľúčovú úlohu IFN dráh pri kontrole infekcie KPO a poskytujú základ pre ďalšie štúdium mechanizmov vírusovej perzistencie a patogenézy.

Financované EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V05-00017 (IGA-ESGV/08/2024); Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0689/24. Za technickú podporu ďakujeme Mgr. Dominike Drotárovej.

Fágy infikujúce kmene *Escherichia coli* vhodné pre fágovú terapiu

Markusková Barbora¹, Elnwrani Sulafa¹, Zemanová Kristína¹, Kajsik Michal², Slobodníková Livia³,
Drahovská Hana¹

¹Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

²Vedecký park Univerzity Komenského v Bratislave

³Ústav mikrobiológie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

hana.drahovska@uniba.sk

Escherichia coli zaradená do čeľade *Enterobacteriaceae* je komenzálna črevná baktéria, ale aj oportunistický patogén spôsobujúci intestinálne aj extraintestinálne ochorenia. Je to najčastejší pôvodca infekcií močového traktu, pričom celosvetovo sa ročne nakazí 150 miliónov ľudí. Veľkým problémom sú multirezistentné kmene, na ktoré klasická antibiotická liečba nezaberá. Jednou z alternatívnych možností liečby je aj fágová terapia. Pre zvýšenie hostiteľského spektra a pre zníženie pravdepodobnosti vzniku fág-rezistentných kmeňov baktérií sa pri terapii najčastejšie využívajú koktaily zložené z viacerých fágov. Cieľom práce bola charakterizácia fágov infikujúcich kmene UPEC. V práci sme izolovali 17 fágov. Všetky fágy patrili do triedy Caudoviricetes a boli zaradené do čeľadí *Straboviridae*, *Autographiviridae* a *Drexelviridae* a do rodov *Kagunavirus*, *Justusliebigvirus* a *Murrayvirus*. Zistili sme, že 81% testovaných kmeňov UPEC bolo citlivých na infekciu aspoň jedným fágom, pričom fágy infikovali predovšetkým kmene fyloskupiny B2 a D. Fágový koktail zložený so šiestich fágov s najširšou hostiteľskou špecificitou potvrdil dobrú účinnosť voči štyrom z piatich testovaných kmeňov v tekutom LB aj v umelom močovom médiu. V rámci charakterizácie bakteriofágov sme študovali funkciu *ter* génov *Justusliebigvirus* fága vKMB37, ktorých funkcia v životnom cykle fága nie je známa. Teluričitanový operón sa často vyskytuje u patogénnych baktérií, avšak jeho presný mechanizmus účinku ostáva záhadou. Pripravili sme súbor mutantov s deléciami v oblasti *ter* operónu, ktoré mali veľkosti 0 (bodová mutácia) - 15 kpb. Nezistili sme vplyv mutácií na rast fágov v štandardných podmienkach. Získané poznatky bude možné využiť pri príprave koktailov na fágovú terapiu UTI.

Tento výskum bol podporený grantom APVV-23-0140

***In vitro* štúdium interferónovej odpovede indukovanej zoonotickými kliešťami prenášanými orbivírusmi (Kemerovo vírus, Tribeč vírus)**

Schusterová Petra¹, Loziaková Peňazziová Katarína¹, Kiššová Zuzana², Pačanská Zuzana¹, Csank
Tomáš¹

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie a imunológie,
Komenského 73, 041 81 Košice

²Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra morfológických disciplín,
Komenského 73, 041 81 Košice
petra.schusterova@uvlf.sk

Kemerovo vírus (KEMV) a Tribeč vírus (TRBV) sú zoonotické orbivírusy, ktoré boli v minulosti asociované s ochoreniami centrálného nervového systému u ľudí. Cieľom štúdie bolo porovnanie nimi navodenej indukcie interferónov typu I (IFN-I: IFN- α , IFN- β) v boviných MDBK bunkách, v myšacích fibroblastoch L929 a v ľudských astrocytoch (HA). S cieľom synchronizovať infekciu, sme bunky inkubovali s KEMV alebo TRBV (MOI=0,1) po dobu 1 hodiny a následne sme vírusové inokulum odstránili. Infikované bunky sme ďalej inkubovali v kompletnom kultivačnom médiu pri 37 °C v atmosfére CO₂. Pre analýzy génovej expresie IFN-I boli bunky lyzované 24 hodín po infekcii (hpi) a 48 hpi. Zaznamenali sme, že v každom nami študovanom modeli bol nárast hladiny mRNA pre IFN- β vyšší po infekcii KEMV v porovnaní s TRBV. Tento rozdiel bol najmarkantnejší v HA (už 24 hpi) a myšacích fibroblastoch (48 hpi), ale menší v MDBK bunkách. V HA bol rozdiel v expresii IFN- β nasledovný: 24 hpi KEMV 2700 $\times$ vs. TRBV 0,7 $\times$; 48 hpi KEMV 2000 $\times$ vs. TRBV 220 $\times$. V myšacích L929 bunkách bol asi 10 $\times$ rozdiel v mRNA pre IFN- β pozorovaný až 48 hpi, kedy pre KEMV sme namerali hodnoty 2303,98 $\pm$ 62,26 a pre TRBV 214,06 $\pm$ 24,49. Čo sa týka hladiny mRNA pre IFN- α , tak downreguláciu sme pozorovali v TRBV infikovaných HA a naopak najvyššie hladiny boli pozorované v MDBK bunkách po infekcii KEMV alebo TRBV. Tieto rozdiely v indukcii IFN-I pri infekcii boviných, myšacích a ľudských buniek poukazujú na potrebu štúdií zameraných na mechanizmy úniku KPO pred vrodennou imunitnou odpoveďou.

Tento výskum bol podporený EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V05-00017 (IGA-ESGV/08/2024) a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projektoch VEGA 1/0354/21 a VEGA 1/0689/24.

Mikrobiálne metabolity ako modulátory črevnej bariéry pri ulceróznej kolitíde: efekt FMT a probiotík v modeli SHIME®

Štofilová Jana¹, Kamlárová Anna¹, Bertková Izabela¹, Kvaková Monika¹, Ambro Ľuboš², René Link¹, Hertelyová Zdenka¹, Janíčko Martin³

¹Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Centrum klinického a predklinického výskumu MediPark, Trieda SNP 1, 040 11 Košice

²Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Technologický a inovačný park, Centrum interdisciplinárnych biovied, Jesenná 5, 04001 Košice

³Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, II. Interná klinika, Trieda SNP 1, 040 11 Košice

Prednášajúci autor: jana.stofilova@upjs.sk

Dysbióza črevnej mikrobioty významne prispieva k patogenéze ulceróznej kolitídy (UC), pričom jedným z jej typických prejavov je zápal črevnej sliznice a narušenie integrity črevnej bariéry. Intervencie zamerané na moduláciu črevnej mikrobioty, ako je aplikácia probiotík alebo fekálnej mikrobiálnej transplantácie (FMT), predstavujú perspektívny prístup k obnoveniu rovnováhy črevného ekosystému. Modulované metabolity generované po týchto zásahoch môžu potenciálne podporovať indukciu remisie u pacientov s UC.

Cieľom štúdie bolo zhodnotiť moduláciu črevnej mikrobioty pacienta s UC, kultivovanej v SHIME® modeli, prostredníctvom aplikácie probiotického prípravku Colon Dophilus alebo FMT zdravého dobrovoľníka, a následne analyzovať účinok vzniknutých mikrobiálnych metabolitov na integritu črevnej bariéry *in vitro*. Mikrobiálne analýzy potvrdili, že aplikácia FMT aj probiotického prípravku v modeli SHIME® modulovala diverzitu a zvýšila abundanciu črevnej mikrobioty so súčasným zvýšením hladiny butyrátu. Zaznamenaný bol nárast relatívneho zastúpenia významných producentov butyrátu, ako *Faecalibacterium prausnitzii* a *Bifidobacterium longum*, a po aplikácii FMT sa mikrobiota obohatila aj o nové druhy. Modulované mikrobiálne metabolity z oboch zásahov prispeli k udržaniu integrity črevnej bariéry prostredníctvom zachovania štruktúr tesných spojení (okludín, zonulín-1) a stability transepitelovej elektrickej rezistencie a permeability črevného epitelu. Zároveň bola pozorovaná inhibícia sekrécie prozápalových chemokínov IL-8 a MCP-1. Štúdia preukázala, že aplikácia FMT a vybraného probiotického prípravku priaznivo moduluje črevnú mikrobiotu pacientov s UC kultivovanú v modeli SHIME®. Mikrobiálne metabolity získané po FMT alebo probiotickej modulácii zlepšujú vlastnosti intaktnej aj zapálenej črevnej bariéry *in vitro*.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-16-0176 a APVV-23-0031, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0232/25 a VEGA 1/0253/25.

Prítomnosť génov pre produkciu enterotoxínov pri klinických izolátoch *Staphylococcus aureus* a ich citlivosť na fágové preparáty

Straka Marek¹, Dubinová Martina¹, Hubenáková Zuzana², Bugalová Aneta³, Slobodníková Livia¹,
Liptáková Adriana¹, Drahovská Hana⁴, Andrzejczak-Gradko, Sylwia⁵

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta, Mikrobiologický ústav, Sasinkova 4, 811 01
Bratislava

²Slovenská zdravotnícka univerzita, Lekárska fakulta, Ústav biológie, Limbová 12, 833 03 Bratislava

³Vedecký park Univerzity Komenského, Ilkovičova 8, 841 04 Bratislava

⁴Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra molekulárnej biológie,
Ilkovičova 6, 841 04 Bratislava

⁵Uniwersytet Zielonogórski, Instytut Nauk Biologicznych, Katedra Biotechnologii, Z. Szafrana 1, 65 516
Zielona Góra
marek.straka@fmed.uniba.sk

Staphylococcus aureus patrí medzi najvýznamnejších pôvodcov bakteriálnych infekčných ochorení. Vďaka širokému spektru virulénnych faktorov dokáže vyvolávať rôzne typy infekcií, najmä infekcie kože a mäkkých tkanív, respiračné infekcie alebo aj život ohrožujúce infekcie krvného riečiska. Navyše, terapia týchto ochorení je často komplikovaná rezistenciou kmeňov voči antibiotikám. Alternatívu v terapii by mohli predstavovať fágy. Cieľom tejto práce bolo detegovať prítomnosť génov pre produkciu enterotoxínov pri klinických izolátoch *S. aureus* a stanoviť ich citlivosť na fágové preparáty. Analyzovaných bolo 77 klinických izolátov *S. aureus*. Ich citlivosť na antimikrobiálne látky bola interpretovaná podľa EUCAST. Citlivosť na komerčné fágové preparáty (Bakteriofag stafylokokový, Staphylococcal bacteriophage, Sextaphage®, Pyo-bacteriophage) bola stanovená metódou tvorby plakov. Prítomnosť génov pre produkciu enterotoxínov bola detegovaná pomocou multiplex PCR. Štatistická analýza bola vykonávaná pomocou online dostupných štatistických softvérov. Prítomnosť génov pre produkciu enterotoxínov bola potvrdená pri 33 kmeňoch (42,9 %), pričom prevažovali gény pre enterotoxíny typ C (18 kmeňov) a D (10 kmeňov). Šestnásť z týchto kmeňov bolo rezistentných voči meticilínu (MRSA; $p \leq 0,05$), väčšina z nich patrila k spa typom t003 a t032. Citlivosť kmeňov *S. aureus* na fágové preparáty sa pohybovala medzi 75,3 % a 81,8 %, pri MRSA kmeňoch medzi 95,8-100 % ($p \leq 0,05$). Vysoká účinnosť všetkých fágových prípravkov bola detegovaná aj pri kmeňoch kódujúcich enterotoxíny (81,8-84,8 %).

Z uvedených výsledkov vyplýva, že výskyt génov pre produkciu enterotoxínov bol vyšší pri MRSA izolátoch. Ich citlivosť na fágové preparáty je však vysoká, čo naznačuje využiteľnosť fágovej terapie pri kmeňoch rezistentných voči antimikrobiálnym látkam.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-23-0140.

Nukleokapsidový proteín SARS-CoV-2 sprostredkuje interakciu medzi regulátormi komplementu a viriónom

Víglaský Jakub¹, Bhide Katarína¹, Talpašová Lea¹, Bhide Mangesh^{1,2}

¹Laboratórium biomedicínskej mikrobiológie a imunológie, Univerzita Veterinárskeho Lekárstva a Farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

²Neuroimunologický ústav, Slovenská Akadémia Vied. v. v. i., Dúbravská cesta 9, 845 10, Bratislava
viglaskj@gmail.com

Nukleokapsidový proteín (N) vírusu SARS-CoV-2, ktorý je detegovateľný v plazme pacientov s COVID-19, je známy svojím imunomodulačným potenciálom. Hoci je často asociovaný prozápalovou signalizáciou, jeho úloha v úniku pred imunitným systémom zostáva nepreskúmaná. V tejto práci opisujeme mechanizmus, prostredníctvom ktorého môže N proteín napomáhať vírusovej perzistencii: pôsobí ako most medzi solubilnými komplementovými regulačnými proteínmi (CRP) a viriónom. Pomocou dot blotu, ELISA a biolayer interferometrie sme preukázali vysokú afinitu interakcie medzi rekombinantnými proteínmi N a S (kD ~ 86,22 nM), čo sme ďalej potvrdili na intaktných viriónoch SARS-CoV-2 variantu BA.5 Omikron. Mapovanie interakčných domén, založené na čiastočnej trypsinizácii v kombinácii s hmotnostnou spektrometriou, ukázalo, že proteín N sa viaže na N-terminálnu doménu proteínu S. Zároveň sme zistili, že proteín N selektívne viaže viaceré CRP v ľudskom sére, vrátane C1-inhibítora, C4BP, faktoru H a vitronektínu a sprostredkováva ich interakciu s povrchom viriónov. Väzba CRP chráni virión pred komplementom sprostredkovanou virolýzou, čím zabezpečuje prežitie vírusu počas aktivácie komplementu. Výsledný komplex N–CRP–virión predstavuje potenciálne novú stratégiu úniku pred komplementom, pri ktorej je vírus maskovaný hostiteľskými regulačnými proteínmi, čím sa znižuje jeho neutralizácia. Naše výsledky poukazujú na proteín N ako na multifunkčný faktor – štrukturálnu zložku, imunomodulátor a sprostredkovateľa úniku pred komplementom. Táto štúdia prináša prvý dôkaz takéhoto mechanizmu u SARS-CoV-2 a otvára perspektívy pre vývoj terapeutických stratégií zameraných na jeho narušenie.

Tento výskum bol financovaný EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V05-00017, Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-22-0084 a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0381/23.

Genomická a fenotypová analýza kmeňov *Escherichia coli* s probiotickým potenciálom

Zahornacká Saša, Bosák Juraj, Janečková Klára, Šmajš David

Masarykova univerzita, Lekárska fakulta, Biologický ústav, Kamenice 753/5, 625 00 Brno
sasa.zahornacka@med.muni.cz

Probiotiká sú bežne používané prospešné mikroorganizmy, ktoré podporujú ľudské zdravie. Niekoľko probiotických preparátov obsahuje kmene *Escherichia coli*, pričom kmeň *E. coli* Nissle 1917 (EcN) je najčastejšie využívaným zástupcom. Hoci je *E. coli* zvyčajne črevný komenzál, určité kmene – vrátane probiotických – môžu niesť patogénne znaky, čo vyvoláva obavy ohľadom ich bezpečnosti. V našom laboratóriu bola preukázaná antagonistická aktivita štyroch ľudských izolátov *E. coli* (B1172, B771, 582, H22) voči enteropatogénom v podmienkach *in vitro* a *in vivo* [1, 2], čo naznačuje ich probiotický potenciál. Cieľom tejto štúdie je vyhodnotiť bezpečnostný profil štyroch experimentálnych kmeňov v porovnaní s EcN. Celogenómové sekvencie experimentálnych kmeňov *E. coli* [3] a EcN boli analyzované s cieľom identifikovať gény asociované s virulenciou a determinanty antimikrobiálnej rezistencie. Spomedzi všetkých analyzovaných kmeňov nesie kmeň 582 najmenej génov virulencie. Kmene B1172 a B771 obsahujú gény pre antibiotiká inaktivujúce β -laktamázy na konjugatívnych alebo mobilizovateľných plazmidoch, pričom B1172 zároveň nesie chromozomálne gény pre rezistenciu voči sulfametoxazolu (*sul2*) a tetracyklínu (*tetB*). Fenotypová charakterizácia zahŕňala *in vitro* testy adhézie a invázie s použitím troch rôznych bunkových línií kolorektálneho karcinómu (Caco-2, HT-29, SW620). Všetky štyri testované experimentálne kmene vykazovali adhezívnu kapacitu podobnú EcN, pričom kmene 582 a B771 vykazovali rovnakú alebo nižšiu invazivitu do epitelových buniek v porovnaní s EcN, čo naznačuje nízky patogénny potenciál. Na základe výsledkov testu invázie, obsahu génov virulencie a rezistencie sa kmeň 582 javí ako najperspektívnejší probiotický kandidát.

[1] Hrala M., Bosák J., Micenková L., Křenová J., Lexa M., Pirková V., Tomáščíková Z., Koláčková I. Šmajš, D. *Escherichia coli* strains producing selected bacteriocins inhibit porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) under both *in vitro* and *in vivo* conditions. *Appl Environ Microbiol.* 2021 Jun;87(14): e0312120. doi: 10.1128/AEM.03121-20.

[2] Cursino L., Šmajš D., Šmarda J., Nardi RMD, Nicoli JR, Chartone-Souza E., Nascimento AMA. Exoproducts of the *Escherichia coli* strain H22 inhibiting some enteric pathogens both *in vitro* and *in vivo*. *J Appl Microbiol.* 2006 Apr;100(4): 821-829. doi: 10.1111/j.1365- 2672.2006.02834.x.

[3] Fedrová P., Hrala M., Tom N., Micenková L., Nascimento AMA, Bosák J., Šmajš D. Complete genome sequences of five *Escherichia coli* strains with probiotic attributes. *Microbiol Resour Announc.* 2023 Aug;12(9): e00363-23. doi: 10.1128/MRA.00363-23.

Tento výskum bol podporený projektom Národní institut virologie a bakteriologie (Program EXCELES, ID: LX22NPO5103, financovaný Európskou úniou – Next Generation EU) a Ministerstvom zdravotnictví České republiky (NW25-09-00323).

The background of the slide is a collage of various microorganisms. At the top left is a petri dish containing several colonies of different sizes. To its right are numerous rod-shaped bacteria. Further right is a large, complex fungal structure with many small spores. Below the petri dish is a chain of spherical bacteria. At the bottom left is a cluster of small, oval-shaped bacteria. In the bottom center are more rod-shaped bacteria. To the right of the text is a spherical virus with spikes. At the bottom right is a large, complex bacteriophage with a polyhedral head and long tail. A small, star-shaped microorganism is also visible near the bottom center.

Moderné technológie a metódy výučby mikrobiológie

Aplikace OrgPad jako platforma pro modernizaci výuky mikrobiologie na příkladu fenotypové identifikace klinicky významných bakterií

Bobek Jan

Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Ústav lékařské mikrobiologie
Studničkova 7, 128 00 Praha
jan.bobek@lf1.cuni.cz

Moderní výuka mikrobiologie vyžaduje didaktické nástroje, které podporují aktivní učení, vizuální orientaci a schopnost aplikovat teoretické znalosti v praktickém kontextu. Tradiční tištěná schémata a učební texty jsou z didaktického hlediska omezené, zejména pro trénink rozhodovacích postupů nezbytných v klinické diagnostice. V našem projektu jsme využili digitální platformu OrgPad, propojující konceptuální mapování s multimediální integrací, k vytvoření interaktivní elektronické mapy zaměřené na fenotypovou identifikaci klinicky významných bakterií.

Výsledná mapa vychází z identifikačních algoritmů užívaných v rutinní praxi i ve výuce lékařské mikrobiologie. Studenty provází rozhodovací stromy krok za krokem a doplňuje je obrazovou dokumentací, multimediálními zdroji a odkazy na relevantní literaturu. Materiál je dostupný online, pravidelně aktualizovaný a navržený pro využití na různých typech zařízení, což usnadňuje flexibilní implementaci do výuky.

Efektivita tohoto nástroje je ověřována prostřednictvím dotazníkového šetření mezi studenty i pedagogy. Očekáváme, že interaktivní forma výuky povede k posílení aktivního učení, lepší fixaci znalostí a ke sjednocení kvality výuky. Prezentovaný přístup zároveň demonstruje potenciál aplikace OrgPad jako přenositelného modelu pro výuku dalších oblastí mikrobiologie a příbuzných oborů.

Paní MUDr. Václava Adámková, Ph.D., primářka Klinické mikrobiologie a ATB centra ÚLBDL 1.LF UK a VFN, společně se svým týmem připravila základní identifikační schémata pro praktickou výuku Lékařské mikrobiologie a laskavě umožnila převedení těchto schémat do elektronické podoby. Projekt vznikl za finanční podpory platformy Paedagogium (<https://paedagogium.cuni.cz/>). Autor použil aplikaci OrgPad také k projektovému řízení grantů GAČR 25-16251S a Cooperatio 207032-3 Immunity and Infection.

Novoty vo výučbe mikrobiológie na Lekárskej fakulte Univerzity Komenského v Bratislave

Dubinová Martina¹, Koreň Ján¹, Dibalová Hana¹, Janošíková Lucia¹, Straka Marek¹, Voronkina Iryna¹, Záborská Magdaléna¹, Hnilicová Silvia², Vitovič Pavol², Laurovičová Miroslava², Sýkora Peter², Binka Adrián³, Gábrišová Dominika³, Kmeťková Bronislava^{1,3}, Ujpál Marek³, Liptáková Adriana¹

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta, Mikrobiologický ústav, Sasinkova 4, 811 01 Bratislava

²Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta, Ústav medicínskeho vzdelávania a simulácií, Sasinkova 4, 811 01 Bratislava

³Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta, Špitálska 24, 813 72 Bratislava
marek.straka@fmed.uniba.sk

Vzdelávanie študentov medicíny pre ich budúce lekárske povolanie má svoje špecifiká. Študenti musia počas štúdia obsiahnuť veľký objem informácií, ktorým je potrebné rozumieť a aplikovať ich v praxi. K napĺňaniu týchto požiadaviek prispievajú inovatívne metódy výučby, akými sú near-peer teaching (NPT) a v neposlednom rade simulačná výučba. Tieto prístupy začali byť aplikované aj do výučby mikrobiológie pre všeobecné lekárstvo v slovenskom aj zahraničnom programe na Lekárskej fakulte Univerzity Komenského (LF UK) v Bratislave počas uplynulého akademického roka 2024/2025. Do praktických cvičení bola zaradená simulácia septického šoku, ktorá sa realizovala na Ústave medicínskeho vzdelávania a simulácií. V rámci simulácie bolo potrebné správne odobrať anamnézu, materiál na mikrobiologické vyšetrenie, určiť diagnózu a nastaviť liečbu v časovom limite. Veľmi dôležitou súčasťou každej simulácie bol debriefing, teda analýza simulácie so spätnou väzbou. Simuláciu si vyskúšalo viac ako 400 študentov slovenského a zahraničného študijného programu. Na cvičeniach bol aplikovaný aj ďalší inovatívny prístup NPT, pri ktorom výučbu viedli tútori – starší študenti medicíny pod dohľadom pedagógov Mikrobiologického ústavu. NPT si odskúšali štyria tútori a bolo doň zapojených približne 80 slovenských študentov. Spätné väzby týkajúce sa zavedenia simulácie a NPT boli zozbierané od študentov vo forme dotazníkov. Viac ako 80 % študentov v dotazníku uviedlo, že simulácia ich motivovala s väčším nasadením pracovať na cvičení a aj simulácia a NPT napomáhali retencii vedomostí z preberanej témy. Zavedené metódy pomohli zlepšiť kvalitu výučby mikrobiológie na LF UK a ich zavádzanie bude pokračovať aj v akademickom roku 2025/2026.

Tento výskum bol podporený Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte KEGA 002UK 4/2022.

Aktualizace praktické výuky mikrobiologie pro studenty lékařské fakulty

Chanová Marta¹, Petříčková Kateřina¹, Závora Jan^{1,2}

¹Ústav lékařské mikrobiologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

²Klinická mikrobiologie a ATB centrum, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky
Všeobecné fakultní nemocnice v Praze
marta.chanova@lf1.cuni.cz

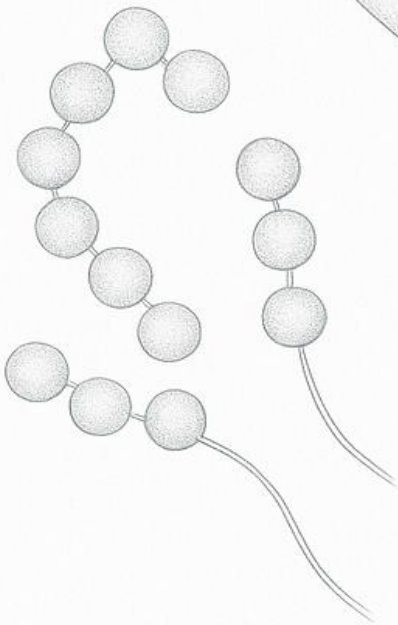
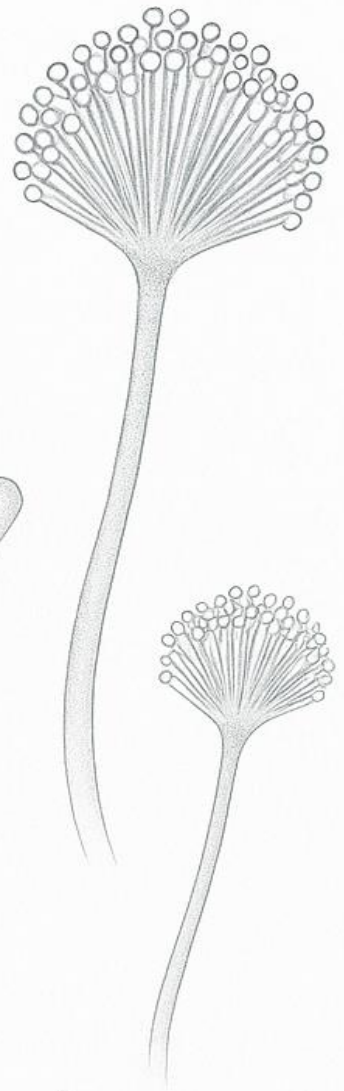
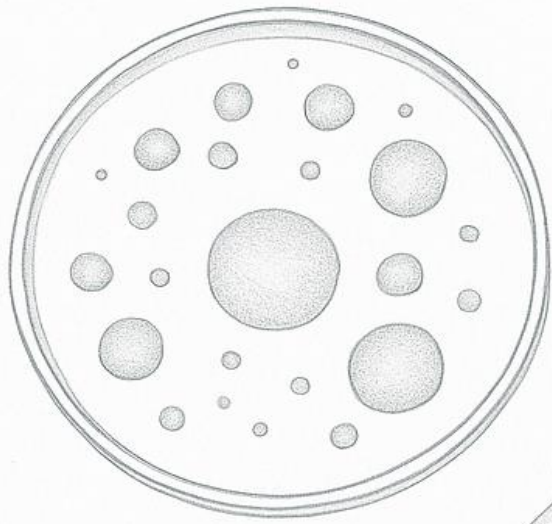
Představovaný projekt aktualizace náplně praktické výuky se týká výuky mikrobiologie pro studenty 2. a 3. ročníku 1. lékařské fakulty UK v oboru Všeobecné lékařství. Výuka probíhá blokově (1 týden/semestr) a její náplní je zejména nácvik základních laboratorních postupů v mikrobiologické diagnostice (Mikrobiologie 1, LS ve 2. ročníku) a nácvik stanovení diagnózy, interpretace výsledků a návrhu terapie s využitím cvičných kazuistik (Mikrobiologie 2, ZS ve 3. ročníku).

Praktická výuka mikrobiologie je limitovaná (a) dostupností, kultivační náročností a patogenitou některých mikrobů, a (b) náročností moderních metod na čas, materiální nebo přístrojové vybavení. Studenti se tak doposud setkávali hlavně s tradičními mikrobiologickými diagnostickými metodami (barvení, kultivace, základní biochemické testy) a s omezeným výběrem mikrobů. Ve výuce převažoval nácvik metod, které v praxi provádí laboratorní pracovník, a naopak chyběl komplexnější vhled do práce lékaře indikujícího mikrobiologické vyšetření i klinického mikrobiologa.

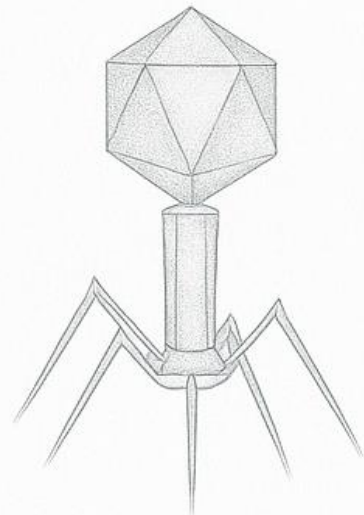
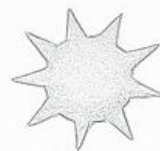
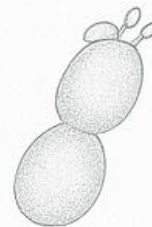
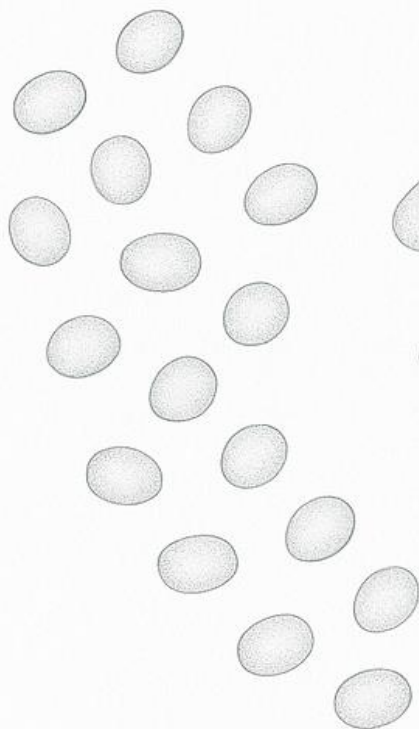
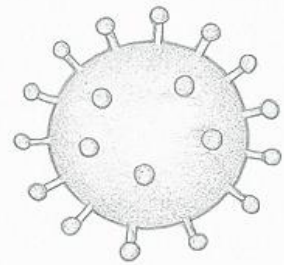
Cílem projektu bylo (1) navrhnout úkoly, které by rozšířením spektra mikrobů i metod stávající praktickou výuku zasadili do kontextu moderní laboratorní diagnostiky, (2) lépe simulovat klinickou praxi zařazením nácviku základů diferenciální diagnostiky, indikace mikrobiologických vyšetření a interpretaci získaných výsledků, (3) současně ale udržet povědomí o principech a postupech všech typů vyšetření prováděných v laboratoři klinické mikrobiologie vč. jejich využitelnosti a limitací, potřebné pro budoucí lékařskou praxi.

Praktika v nynější formě mají potenciál být zajímavější a lákavější pro studenty s různými zájmy a preferencemi. Zkušenost z praktik bude hodnotná pro studenty se zájmem uplatnit se v mikrobiologických oborech, realistická představa o práci v mikrobiologické diagnostické laboratoři bude ale velice užitečná ve všech oborech vyžadujících spolupráci s klinickým mikrobiologem. Aktualizovaná výuka probíhá od začátku ZS 2025/2026 a příspěvek poskytne její detailnější zhodnocení.

Poděkování: K realizaci přispěla podpora UK (projekty Cooperatio 207032-3, SVV 2606)



Postery



Detekcia mutácií asociovaných s rezistenciou na antivirotiká v genóme HCMV

Benko Mário, Bartíková Pavlína, Kudlová Lucia, Lopusná Katarína

Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, v.v.i, Virologický ústav,
Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava
mario.benko@savba.sk

Herpesvírusy sú ubikvitárne patogény, ktorými je latentne infikovaná majorita populácie. Spomedzi herpesvírusov je klinicky významný ľudský cytomegalovírus (HCMV), ktorý po primárnej infekcii perzistuje v organizme a má schopnosť modulovať imunitnú odpoveď hostiteľských buniek. Infekcie spôsobené HCMV môžu byť život ohrozujúce predovšetkým u jedincov s oslabenou imunitou ako sú pacienti po transplantácii orgánov, HIV pozitívny jedinci, novorodenci a pacienti s ďalšími komorbiditami. Na liečbu a profylaxiu HCMV infekcií sa využívajú antivirotiká ganciklovir, cidofovir a foscarnet (inhibítory DNA polymerázy); Maribavir (inhibitor vírusovej kinázy) a letermovir (inhibitor vírusovej terminázy). Bolo dokázané, že niektoré mutácie v HCMV genóme (prevažne v géne UL97 kódujúcom proteín kinázu) súvisia s rozvojom rezistencie na antivirotiká. V rámci tejto práce sme vykonali rozsiahly prehľad literatúry na základe ktorého sme zistili, že okrem génu UL97 sa mutácie vyskytujú aj v génoch UL27, UL54 a UL55 a tieto sú tiež asociované s rezistenciou na antivirotiká, najmä ganciklovír (zámena aminokyseliny A594V a C603W) a maribavir (zámena aminokyseliny T409M a H411Y). Následne sme pripravili primery, ktoré sa špecificky viažu na tieto úseky a amplifikujú gény UL27, UL54, UL55 a UL97. Ako referenčný genóm HCMV sme použili sekvenciu kmeňa HCMV Merlin z databázy GenBank (NC_006273.2). Jednotlivé sady primerov sme otestovali pomocou štandardnej PCR reakcie s TaqDNA polymerázou (New England Biolabs, US) na templátovej DNA (BAC-HCMV). Výsledné PCR produkty sme vizualizovali pomocou DNA agarózovej elektroforézy s použitím farbičky etídiumbromid. Výsledky potvrdili, že nami navrhnuté primery sú špecifické a môžu sa používať na detekciu mutácií vo vybraných génoch HCMV v patientských vzorkách.

Tento výskum bol podporený grantovým programom Slovenskej akadémie vied pre postdoktorandov (PostdokGrant APD0120) a Vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied (VEGA 2/0140/25).

Využitie olfaktorických vlastností *Caenorhabditis elegans* pri diagnostike nádorových ochorení

Bertok Fečová M.¹, Kaiglová A.¹, Hockicková P.¹, Bárdyová Z.², Reháková R.¹, Melnikov K.¹ a
Kucharíková S.¹

¹Trnavská univerzita v Trnave, Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Katedra laboratórnych
vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Univerzitné námestie 1, 918 43 Trnava

²Národný onkologický inštitút, Klenová 1, 833 10 Bratislava
monika.bertokfecova@tvu.sk

Naša štúdia sa zamerala na využitie olfaktorických vlastností hlístovca *Caenorhabditis elegans* v chemotaktických testoch s cieľom vyhodnotiť ich potenciál pri detekcii onkologických ochorení. Využitie hlístovca *C. elegans* v chemotaktických testoch, ktoré je umožnené jeho vysoko citlivými čuchovými receptormi, predstavuje sľubný prístup v diagnostike rakoviny. Rastúci záujem o neinvazívne metódy detekcie špecifických prchavých organických zlúčenín v moči pacientov robí z tohto modelu atraktívny nástroj pre ďalší výskum. Počas experimentálnej práce boli nematódy po synchronizácii vývojových štádií *C. elegans* vystavené buď moču pacientov s rakovinou alebo vzorkám moču od zdravých jedincov (kontrolný súbor). Následne sme pre každú vzorku stanovili chemotaktické indexy. Na základe týchto testov sme **dokázali rozlíšiť** vzorky zdravých jedincov od pacientov s rakovinou prsníka alebo rakovinou hrubého čreva. Naše výsledky preukázali štatisticky významný rozdiel v chemotaktických indexoch pozorovaných pri vzorkách moču pacientov s rakovinou v porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi ($p < 0.001$). Okrem toho test vykazoval sľubnú diagnostickú využiteľnosť so senzitivitou 98 %, špecifitou 62 % a detekčnou mierou 78 %. Získané výsledky nadväzujú na predchádzajúce pozorovania a potvrdzujú pozoruhodnú schopnosť hermafroditov *C. elegans* rozlišovať prchavé organické zlúčeniny súvisiace s rakovinou vo vzorkách moču. Tieto výsledky sú sľubné pre vývoj finančne dostupného skriningového testu, ktorý by mohol výrazne zlepšiť včasnú detekciu onkologických ochorení.

Podakovanie: Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-24-0093, Kultúrnou a edukačnou grantovou agentúrou Ministerstva školstva, výskumu, vývoja a mládeže Slovenskej republiky (KEGA 013UCM-4/2025).

Neuroinflamácia počas infekcie chrípkou typu A

Betáková Tatiana^{1,2}, Blašková Jana¹, Donátová Karin¹,
Mladá Miriam², Katarína Lopušná²

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie,
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava

²Slovenská akadémia vied v Bratislave, Biomedicínske centrum, Virologický ústav, Dúbravská cesta 9,
84505 Bratislava
jana.blaskovicova@uniba.sk

Vírus chrípkou typu A sa považuje za respiračný vírus, ale môže spôsobovať aj systematické ochorenia. V poslednom období sa infekcia vírusom chrípkou čoraz častejšie spája s rozvojom neurodegeneratívnych ochorení. Infekcia vírusom chrípkou A (IAV) môže v mozgu podporovať neurozápal a aktivovať vrodenu imunitnú odpoveď.

V tejto štúdii sme testovali kľúčové gény a cytokíny zapojené do signálnych dráh spojených s poškodením mozgu; ako aj prítomnosť vírusu a poškodenie DNA imunitných buniek izolovaných z mozgov myši infikovaných IAV. Myši Balb/c boli infikované smrteľnou dávkou IAV a pľúca a mozog boli odoberaté na 3. deň po infekcii. Odoberaté vzorky boli podrobené histologickej analýze, analýze transkriptómu, RT PCR, cytokínovým testom, kométovému testu a fragmentačnému testu. Vírus chrípkou sa v mozgu detegoval iba *nested* RT-PCR. Zistili sme, že gény zapojené do poškodenia neurónov, neuronálnej smrti, signálnej dráhy MAPK a amyloidu α/β a Tau boli u infikovaných myši dysregulované. Infekcia IAV viedla k závažným nekrotickým léziám v pyramídovej vrstve hipokampu. Identifikovali sme 13 imunologicky relevantných proteínov, ktoré boli vysoko exprimované v mozgu. Niektoré z týchto proteínov vrátane IFGBP-2, IGFBP-6 a MPO podporujú rozvoj demencie a neurologických ochorení. Detekcia IAV v imunitných bunkách izolovaných z mozgového tkaniva podporuje hypotézu, že infikované imunitné bunky môžu prenášať vírus. Výsledky získané z kométového testu a testu fragmentácie dokázali poškodenie DNA týchto buniek.

V našej práci sme identifikovali gény a molekulárne mediátory, ktoré môžu prispievať k rozvoju neurodegeneratívnych ochorení.

Podakovanie: Tento výskum bol podporený Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 2/0014/24 a VEGA 2/0026/22.

Therapeutic potential of bacteriophage endolysin EN534-C for biofilm-associated infections caused by *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus aureus*

Lucia Bocanova¹, Anna Dolovacka¹, Tetiana Moskalets², Barbora Niku¹, Gabriela Bukovska¹

¹ Department of Genomics and Biotechnology, Institute of Molecular Biology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovak Republic

² Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Molecular Biology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovak Republic
lucia.bocanova@savba.sk

The escalating burden of antimicrobial resistance, coupled with biofilm-mediated pathogenesis by *Streptococcus agalactiae* and *Staphylococcus aureus*, represents a formidable clinical challenge. This study evaluates the therapeutic efficacy of recombinant bacteriophage endolysin EN534-C, derived from a GBS strain prophage, as an antimicrobial agent targeting biofilms produced by these clinically significant pathogens. The crystal violet quantification demonstrated 61.5% of clinical isolates that exhibited robust biofilm formation, substantially exceeding laboratory-adapted reference strains. Moreover, antimicrobial susceptibility profiling of *S. agalactiae* clinical isolates revealed alarming resistance patterns: 81.8% tetracycline resistance, 45.5% macrolide resistance (erythromycin), and 36.4% lincosamide resistance (clindamycin). The three-domain engineered endolysin EN534-C, comprising catalytic amidase₃ and CHAP domains and flanking a peptidoglycan-binding LysM domain, exhibited potent antibiofilm activity across both species. Treatment of cells with 0.1 µM EN534-C resulted in a remarkable biofilm disruption, ranging from 44.6% to 80.2%. Notably, *S. aureus* demonstrated exceptional susceptibility (80.2% eradication), whereas *S. agalactiae* clinical isolates yielded 47.0-76.3% reduction. The thermostability analysis confirmed optimal lytic activity at physiological temperatures with continual efficacy to 50°C. The cytotoxicity evaluation of endolysin EN534-C, employing MRC-5 human lung fibroblasts, revealed negligible toxicity at concentrations up to 100 µg/ml (1.81 µM), establishing a therapeutic index exceeding 100-fold above efficient concentrations. These results demonstrate EN534-C as an effective alternative to antibiotics and for treatment of biofilm infections. Our endolysin exhibits broad antimicrobial activity, minimal cytotoxicity, and overcomes antibiotic resistance mechanisms without disrupting beneficial bacteria. These properties support its potential for clinical development against drug-resistant biofilm pathogens.

This work was supported by APVV 23-0140 grant from Slovak Research and Development Agency and by VEGA grant 2/0079/22 from Slovak Academy of Sciences.

Interakcia črevnej mikrobioty s aflatoxínom B1 *in vitro*

Bolebruchová Michaela, Michaláková Lucia, Polozsányi Zoltán

Ústav biochémie a mikrobiológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie Slovenskej
technickej univerzity v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
michaela.bolebruchova@stuba.sk

Mykotoxíny, vrátane aflatoxínu B1 (AFB1), predstavujú riziko pre ľudské zdravie a ich detoxifikácia je veľmi aktuálnou témou. Táto práca prezentuje výsledky získané s použitím troch bakteriálnych kmeňov - *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli*, ktoré boli kultivované na Mueller-Hintonovom (MH) agare; a *Lactobacillus rhamnosus*, ktorý bol kultivovaný na De Man-Rogosa–Sharpe (MRS) agare. Inhibičné účinky na rast testovaných kmeňov baktérií boli sledované mikrodilučnou metódou pri použití štyroch koncentrácií AFB1 – 5, 10, 50 a 100 µg/ml. Z výsledkov po 9 h kultivácii vyplýva, že najnižšia použitá koncentrácia AFB1 5 µg/ml nemá výrazné inhibičné účinky na dané kmene. Pri najvyššej použitej koncentrácii AFB1 došlo k spomaleniu rastu o 24 % pri kmeni *S. Enteritidis*, o 29 % pri kmeni *E. coli* a o 19 % pri kmeni *L. rhamnosus*. V ďalšom kroku boli sledované dekontaminačné účinky daných kmeňov voči AFB1. Po 24 h kultivácii s AFB1 s počiatočnou koncentráciou 100 µg/ml v kultivačnom médiu – MH bujón pre *S. Enteritidis* a *E. coli*, a MRS bujón pre *L. rhamnosus* - bol AFB1 dvakrát extrahovaný chloroformom v pomere 1:1 (v:v) a bola vykonaná HPLC analýza na stanovenie množstva AFB1. Výsledky tejto analýzy ukazujú, že pri kmeni *S. Enteritidis* došlo k zníženiu množstva AFB1 o 81%, pri *E. coli* o 55 % a pri *L. rhamnosus* o 54 %.

Získané výsledky naznačujú, že rôzne kmene tvoriace črevnú mikrobiotu by mohli zastávať dôležitú úlohu v detoxifikácii AFB1.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-22-0383.

Identifikácia zástupcov kultivovateľnej bakteriálnej mikrobioty v infundibulárnych kazových léziách u koní

Bučan J.¹, Maďar M.¹, Polakovič I.²

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie a imunológie,
Komenského 6, 041 81 Košice

²UEQVET s.r.o. Jána Smreka 2066/16
Senec 903 01
jaroslav.bucan@uvlf.sk

V rámci výskytu bakteriálnych zástupcov kultivovateľnej bakteriálnej mikrobioty v infundibulárnych kazových léziách u koní nie sú evidované početné publikácie. Preto sme v tejto štúdii analyzovali vzorky odobraté zo zubných kazov koní s cieľom charakterizovať bakteriálne spoločenstvá spojené s týmto ochorením. Molekulárna identifikácia odhalila prítomnosť širokého spektra mikroorganizmov, ktoré boli zaradené do 21 rodov. Najvyššia diverzita aj abundancia boli pozorované v rode *Streptococcus* (24 izolátov), kde dominovali druhy *Streptococcus devriesei* (9 izolátov) a *Streptococcus lutetiensis* (8 izolátov). Okrem týchto hlavných taxónov bolo detegovaných ďalších 11 druhov s nízkou prevalenciou (1–3 izoláty). Druhým najčastejším rodom bol *Staphylococcus* (17 izolátov), pričom výrazne prevládal *Staphylococcus xylosus* (12 izolátov). Ďalšie druhy, ako *S. hominis* a *S. epidermidis*, sa vyskytli sporadicky. V rode *Actinobacillus* (13 izolátov) bol dominantný *A. equuli* (4 izoláty), nasledovaný *A. genomosp* (3 izoláty). Medzi ďalšími identifikovanými taxónmi sa nachádzali rody *Bacillus* (8 izolátov, najmä *B. licheniformis*), *Acinetobacter* (5 izolátov, vrátane *A. lwoffii*), *Pantoea* (4 izoláty) a menšie zastúpenia rodov *Kosakonia*, *Rothia*, *Exercitatus*, *Priestia*, *Mammaliicoccus* a ďalších. Väčšina týchto rodov bola zastúpená iba jedným až dvomi druhmi s nízkou prevalenciou. Získané údaje poukazujú na vysokú bakteriálnu diverzitu asociovanú s dentálnymi léziami koní, pričom opakovane identifikované druhy rodu *Streptococcus* a *Staphylococcus* môžu predstavovať významné členy orálnej mikrobioty s potenciálnym podielom na patogenéze infundibulárneho kazu.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v zmluve APVV-23-0384 Perspektíva využitia prospešných baktérií a ich bioaktívnych látok v prevencii a terapii orálnych ochorení spoločenských zvierat a v projekte VEGA 1/0668/24 Potenciál bioaktívnych látok produkovaných prospešnými baktériami pri prevencii a terapii ochorení zubov vo veterinárnej a humánnej medicíne

***Enterococcus faecium* a *Candida albicans*: priatelia či konkurenti?**

Lucia Černáková, Adriána Melišová, Helena Bujdáková

Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie,
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava
lucia.cernakova@uniba.sk

Adhézia k abiotickým materiálom a tvorba biofilmov na zdravotníckych pomôckach sa považujú za dôležité virulénne vlastnosti patogénnych mikroorganizmov. Enterokoky rezistentné voči vankomycínu sú rozšírené v nemocniciach celosvetovo, ale v porovnaní s *Enterococcus faecalis*, o virulencii a patogenéze *Enterococcus faecium* vieme stále relatívne málo. Účinná liečba pretrvávajúcich nozokomiálnych infekcií a ochorení spojených s opakovanou kontamináciou polymikrobiálnymi biofilmami je nevyhnutná a zároveň náročná. Ale ak chceme tieto mikroorganizmy z povrchov odstrániť resp. zabrániť ich adherencii, musíme dôkladne preskúmať ich vlastnosti. V súčasnosti si získavajú pozornosť prírodné zlúčeniny ako napríklad sekundárne metabolity húb (farnezol). Cieľom tejto štúdie bolo vykonať charakterizáciu interakcie medzi *Candida albicans* a *E. faecium*, ktoré tvoria duálny/zmiešaný biofilm. Na posúdenie morfogénzy a tvorby biofilmu boli použité štandardné metódy ako je farbenie pomocou kryštálovej violeti, stanovenie počtu kolóniotvorných jednotiek a mikroskopia. Následne bola skúmaná expresia génov súvisiacich s adhéziou ako kľúčovým faktorom pri formovaní biofilmu. Virulencia kmeňov a cytotoxický účinok farnezolu boli študované *in vivo* pomocou *Galleria mellonella*. Taktiež boli sledované zmeny v imunitnej odpovedi lariev po infekcií jedným patogénom a viacerými.

Tento výskum bol podporený COST Action CA23152 — RegulatoryToolBox, prostredníctvom COST (European Cooperation in Science and Technology), Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-21-0302, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0240/23 a EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I01-03-V04-00022.

Antimikrobiálna rezistencia kmeňov *Staphylococcus aureus* izolovaných z dermatologických nálezov humánnych pacientov

Dančová Nikola¹, Gregová Gabriela¹, Szabóová Tatiana¹, Hajdučková Vanda²,
Nagyová Mária³, Fedáková Zuzana⁴

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Komenského 73, 041 81 Košice

²Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie a imunológie, Komenského 73, 041 81 Košice

³Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Ústav lekárskej a klinickej mikrobiológie, Trieda SNP 1, 040 01 Košice

⁴Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Klinika dermatovenerológie, Trieda SNP 1, 040 01 Košice
Nikola.Dancova@uvlf.sk

Staphylococcus aureus patrí medzi najčastejšie izolované patogény pri infekčných ochoreniach kože a mäkkých tkanív u ľudí na celom svete. Závažný problém pri liečbe týchto infekcií predstavuje rastúca antimikrobiálna rezistencia *S. aureus*. Cieľom tejto štúdie bolo charakterizovať prevalenciu a vyhodnotiť profily fenotypovej antimikrobiálnej rezistencie u testovaných kmeňov *S. aureus*. Počas obdobia šiestich mesiacov bolo odobratých 51 vzoriek z dermatologických nálezov hospitalizovaných pacientov. Na základe výsledkov kultivácie, mikroskopického vyšetrenia, testovania biochemických vlastností a identifikácie prostredníctvom MALDI-TOF MS bolo 13 izolátov (25,5 %) identifikovaných ako *S. aureus*. Citlivosť izolátov na antimikrobiálne látky bola stanovená mikrodilučnou kolorimetrickou metódou s použitím systému mikrotitračných platničiek Bel-Miditech, s interpretačným odčítaním minimálnych inhibičných koncentrácií (MIC). Z celkového počtu 20 testovaných antimikrobiálnych látok bola najvyššia miera rezistencie zistená na ampicilín (69,2 %), oxacilín (53,8 %), gentamicín (46,2 %), erytromycín a klindamycín (38,5 %). Rezistencia na cefoxitín a chloramfenikol bola zaznamenaná pri jednom izoláte. Na základe profilu rezistencie systém automaticky vygeneroval pravdepodobné mechanizmy rezistencie. Najčastejším bol mechanizmus rezistencie na penicilíny (69,2 %), nasledovaný rezistenciou na aminoglykozidy [PH(2'')-AC(6')!] (46,2 %). U 38,5 % bol zaznamenaný aj mechanizmus MLS_B (rezistencia na makrolidy, linkosamidy a streptogramín B). Prítomnosť meticilín-rezistentného *S. aureus* (MRSA) bola potvrdená u 7,7 % izolátov, avšak multirezistencia detegovaná nebola. Zistenia našej štúdie poukazujú na význam *S. aureus* ako rezistentnej patogénnej baktérie v dermatologických nálezoch a zdôrazňujú potrebu racionálneho používania antimikrobiálnych látok a pravidelného monitoringu antimikrobiálnej rezistencie.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-23-0488, ako aj Ministerstvom školstva, výskumu, vývoja a mládeže SR v projekte KEGA 009UVLF-4/2025.

Akumulácia a volatilizácia jódu mikroskopickými vláknitými hubami

Duborská Eva, Zamani Zeinab, Bujdoš Marek

Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Ústav laboratórneho výskumu
geomateriálov, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava
eva.duborska@uniba.sk

Mikroorganizmy zohrávajú zásadnú úlohu v pedogeochemických procesoch a významne ovplyvňujú mobilitu a biogeochemický cyklus jódu v pôdných ekosystémoch. Okrem akumulácie jódu sú mikroorganizmy schopné prostredníctvom metabolických dráh transformovať anorganické formy na prchavé metylované zlúčeniny, čím znižujú jeho lokálne koncentrácie. Hlavnými producentmi jódmetánu sú mikrobiálne spoločenstvá, pričom mikroskopické vláknité huby predstavujú významnú skupinu zapojenú do tejto transformácie. Mobilita i mechanizmy akumulácie alebo sorpcie jednotlivých špecíí jódu sa však výrazne líšia.

Cieľom tejto práce bolo porovnať účinnosť metabolickej transformácie jodidových a jodičnanových foriem v prítomnosti vybraných pôdných druhov mikroskopických vláknitých húb (*Aspergillus terreus*, *Aspergillus fischeri*, *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium poae*, *Alternaria tenuissima* a *Trichoderma viride*). Všetky testované druhy preukázali schopnosť akumulovať 2–6 % z pridaného jódu (10 mg/L) zo živného média, bez výrazného rozdielu medzi jodidovou a jodičnanovou formou. Najvyššiu akumuláciu kapacitu vykazoval druh *F. poae*, nasledovaný *A. tenuissima*, *P. chrysogenum*, *T. viride*, *A. terreus* a *A. fischeri*.

Z hľadiska biovolatilizácie sa ako najaktívnejšie ukázali druhy *F. poae*, *A. tenuissima* a *T. viride*, pričom volatilizácia bola oveľa výraznejšia v prítomnosti jodičnanov. Tieto výsledky poukazujú na význam druhovej špecificity húb pri transformácii jódu a zdôrazňujú potrebu ich ďalšieho štúdia v kontexte mobility a dostupnosti tohto esenciálneho prvku v agroekosystémoch.

Financované EÚ Next Generation EU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V04-00123.

Vplyv mikroorganizmov na koróziu plynárenských a ropných technológií

Eliáš Alexej¹, Hanišáková Nikola¹, Vítězová Monika¹,
Vítěz Tomáš¹, Pešta Matúš¹, Doskočil Leoš², Buchtík Martin²

¹Masarykova Univerzita v Brne, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie, Oddělení mikrobiologie, Kamenice 5, 625 00 Brno

²Vysoké Učení Technické v Brne, Chemická fakulta, Ústav chemie materiálů, Purkyňova 464/118,
Brno 61200
520983@mail.muni.cz

V súčasnosti sa korózia kovov stáva jedným z najvýznamnejších problémov v oblasti priemyslu a infraštruktúry. Medzi rozmanité formy korózie, ktoré ohrozujú integritu kovových materiálov, patrí tiež mikrobiálne indukovaná korózia, ktorá prebieha aj v anaeróbných prostrediach, na čo doplácajú predovšetkým prevádzkovatelia podzemných či podmorských potrubí a iných kovových technológií. Odhaduje sa, že korózia ropovodov a plynovodov spôsobí celosvetovo škody vo výške desiatok miliárd USD ročne.

Za najvýznamnejších pôvodcov mikrobiálne indukovanej korózie (MIC) sa považujú sulfát redukujúce mikroorganizmy, metanogénne archea, či acetogénne mikroorganizmy. Tieto skupiny mikroorganizmov sa vyskytujú v plynárenských a ropných zariadeniach a spôsobujú koróziu podzemných aj povrchových technológií. Pre evaluáciu korózneho potenciálu jednotlivých druhov mikroorganizmov boli použité ako molekulárne biologické, kultivačné, tak aj zobrazovacie metódy a analýza povrchov. U metanogénnych archea je hlavným ukazateľom indukovania korózie tvorba metánu za využitia železa v oceli ako jediného donoru elektrónov pre metanogézu. Z rozboru zloženia plynu na plynovom chromatografe bolo zistené, že 30 mililitrové kultúry sú schopné vyprodukovať za obdobie 2 mesiacov až 1,151 milimolov metánu, pričom jediným zdrojom vodíku boli 4 gramy ocele. Z výsledkov potenciodynamických polarizačných meraní plynie, že hodnota korózneho prúdovej hustoty i_{corr} bola pre ocel v sterilnom médiu $0,91 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ a pre ocel vystavenú kultúre $2,37 \mu\text{A}/\text{cm}^2$. Z týchto hodnôt plynie, že z kinetického hľadiska korózia prebiehala rýchlejšie v médiu s kultúrou *Methanococcus maripaludis*, a to asi 2,6 krát.

Výsledky potvrdili, že anaeróbne mikrobiálne spoločenstvá indukujú koróziu kovov, a to rôznou intenzitou, v závislosti na podmienkach prostredia, zloženia spoločenstva či typu materiálu.

Účast na konferenci byla podpořena z projektu Specifického výzkumu Masarykovy univerzity
MUNI/A/1774/2024.

Rezistencia na makrolidy, linkozamid a streptogramín B (MLS_B) u kmeňov *Staphylococcus aureus* spôsobujúcich bovinú mastitídu

Galambošiová Tímea^{1,2}, Bujňáková Dobroslava¹

¹Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Centrum Biovied SAV, v.v.i., Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice

²Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice

kocurekova@saske.sk

Mastitída patrí k najčastejším patológiám u dojníc. Okrem mechanického poškodenia vyvolávajú mastitídu práve infekčné agensy, najmä stafylokoky, streptokoky či koliformné baktérie. *Staphylococcus aureus* je hlavným pôvodcom zápalu mliečnych žliaz dojníc na celom svete. Cieľom našej práce bola izolácia a identifikácia kmeňov a určenie ich fenotypovej a genotypovej rezistencie. Hmotnostným spektrofotometrom bolo potvrdených 36 kmeňov *Staphylococcus aureus* zo vzoriek získaných od dojníc s mastitídou, chovaných na slovenských farmách. Pomocou diagnostického systému Bel-MIDITECH (Bratislava, Slovensko) bola odhalená zvýšená rezistencia na ampicilín (AMP) = 89%, tetracyklín (TET) = 49% a piperacilín + tazobaktám (TZP) = 41%. Intermediárnu citlivosť na nitrofurantoín (NIT) vykazovalo 100% kmeňov, na trimetoprim až 93% izolátov. Všetky kmene boli citlivé na teikoplanín, vankomycín, tigecyklín a trimetoprim + sulfónamid. Interpretatívne odčítavanie antibiogramov odhalilo predpokladaný MRSA (metilín rezistentný *Staphylococcus aureus*) mechanizmus rezistencie u 11 kmeňov. Ďalej bola u 8 stafylokokov stanovená konštitutívna MLS_B rezistencia, ktorá poskytuje baktériám skríženú rezistenciu voči makrolidom, linkozamidom a streptogramínu B. U dvoch izolátov sa potvrdila indukovaná MLS_B rezistencia, pri ktorej patogény reagujú rezistentne na makrolidy, avšak sú citlivé na linkozamidy a streptogramín B. Genotypová rezistencia bola zameraná na detekciu génov kódujúcich rezistenciu na MLS_B (*msrA*, *ermC*, *vgaA*), kde najdominantnejším génom bol *msrA* = 36%. MLS_B kmene predstavujú významnú hrozbu pre zdravie ľudí, nakoľko disponujú širokým spektrom mechanizmov rezistencie voči viacerým skupinám antibiotík. MRSA kmene vyvolávajú ťažko liečiteľné infekcie u ľudí aj zvierat. Až 61% našich kmeňov produkovalo β-laktamázu (*blaZ*), na druhej strane však izoláty nedisponovali génmi *mecA* a *mecC*, ktoré sú charakteristické pre MRSA.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-22-0457

Kultivovateľná kožná mikrobiota u zdravých koní

Dajana Gondoľová, Lucia Štempelová, Viola Strompfová

Centrum biovied SAV, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice
gondolova@saske.sk

Podobne ako mikroorganizmy čreva, aj komenzálne mikroorganizmy na koži zohrávajú dôležitú úlohu pri ochrane organizmu voči patogénom, vyvažovaní reakcií imunitného systému a rozklade kožných produktov. V prípade, keď je kožná bariéra narušená alebo je narušená rovnováha medzi komenzálnymi a patogénnymi baktériami, môže dochádzať k ochoreniam kože alebo dokonca k systémovým chorobám. Pre zistenie rozsahu zapojenia mikrobioty do patológie kožných ochorení, je nevyhnutné poznať zloženie mikrobioty kože za fyziologických podmienok. Preto jedným z našich cieľov bolo získať poznatky o druhovom zložení bakteriálnej zložky mikrobioty získanej neinvazívnym spôsobom - sterom z rôznych oblastí na tele. Pre získanie vzoriek boli využité kone v dobrom zdravotnom stave (n=50) pochádzajúce z troch chovov (Košice, Kráľovce, Kavečany). Kožné stery (celkovo 250) boli odobraté z piatich miest na tele (papuľa, krk, chrbát, brucho, sponka) a po macerácii v Ringerovom roztoku vysiate na Mannitol Salt agar, MacConkey agar, Pseudomonas agar a Brain Heart Infusion agar. Porastené kolónie boli odpichnuté, prečistené a identifikované pomocou MALDI-ToF spektrometrie po predchádzajúcej izolácii proteínov pomocou kyseliny mravčej a acetonitrilu (Bessede et al., 2011). Z Gram-pozitívnych druhov dominoval rod *Staphylococcus*, pričom bolo identifikovaných 19 rôznych druhov. K najbežnejšie zastúpeným patrili druhy *S. succinus* (u 72 % koní), *S. xylosus* (56 %), *S. vitulinus* (38 %) a *S. warneri* (38 %). Z ostatných zastúpených rodov/druhov (20/42) bol najčastejšie izolovaný *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli* a rod *Enterococcus*, najmä druh *E. casseliflavus*.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-23-0005 a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 2/0004/24.

Výskyt CoNS a profil ich antimikrobiálnej rezistencie v nemocničnom prostredí

Gregová Gabriela¹, Szabóová Tatiana¹, Dančová Nikola¹, Viera Lovajová², Ján Király³

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra verejného veterinárskeho lekárstva a welfare zvierat, Komenského 73, 041 81 Košice

²Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Ústav lekárskej a klinickej mikrobiológie, Trieda SNP 1, 040 01 Košice

³Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie a imunológie, Komenského 73, 041 81 Košice

Koaguláza negatívne stafylokoky (CoNS) môžu byť príčinou nozokomiálnych infekcií.

V poslednom období narastá výskyt antimikrobiálnej rezistencie CoNS v nemocničnom prostredí. Cieľom tejto štúdie bolo charakterizovať prevalenciu a vyhodnotiť profily fenotypovej antimikrobiálnej rezistencie u testovaných kmeňov stafylokokov. Z prostredia nemocnice (vyšetrovne, ambulancie a izieb pacientov) bolo odobratých 34 sterov z prostredia (stôl, chorobopis, posteľ..) a nemocničných pomôcok (barle, motodlaha). Na základe výsledkov kultivácie, mikroskopického vyšetrenia, testovania biochemických vlastností a identifikácie prostredníctvom MALDI-TOF MS bolo 24 izolátov identifikovaných ako CoNS. Citlivosť izolátov na antimikrobiálne látky bola stanovená mikrodilučnou kolorimetrickou metódou platničkami Bel-Miditech, s interpretačným odčítaním minimálnych inhibičných koncentrácií (MIC). Najvyššia miera rezistencie bola zistená na ampicilín (u 21 izolátov), rifampicín (u všetkých izolátov) oxacilín (u 18 izolátov), erytromycín (u 18 izolátov). a gentamicín (u 8 izolátov). Najčastejším mechanizmom rezistencie bol MRCoNS (u 58% izolátov), konštitutívne MLSB (u 41 % izolátov) (rezistencia na makrolidy, linkosamidy a streptogramín B) z 24 izolátov. Mechanizmus rezistencie na penicilíny bol zaznamenaný u 29 % izolátov a rezistencia na aminoglykozidy [PH(2'')-AC(6'')!] u 33 % izolátov. Fenotyp multirezistencie a mec génov nebol zistený. Zistenia našej štúdie poukazujú na význam racionálneho používania ATB a zdôrazňujú dôležitosť hygieny prostredia v nemocniciach.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-23-0488, ako aj Ministerstvom školstva, výskumu, vývoja a mládeže SR v projekte KEGA 009UVLF-4/2025.

Identifikácia CoNS od pacientov z kožných lézií, testovanie ich schopnosti tvoriť biofilm a detekcia génov rezistencie

Hajdučková Vanda¹, Király Ján¹, Hudecová Patrícia¹, Hisirová Simona¹, Pilipčinec Emil¹,
Dančová Nikola², Teleky Jana³, Nagyvová Mária⁴

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie a imunológie,
Komenského 73, 041 81 Košice

²Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra verejného veterinárskeho
lekárstva a welfare zvierat, Komenského 73, 041 81 Košice

³Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra morfológických disciplín,
Komenského 73, 041 81 Košice

⁴Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, LF, Ústav lekárskej a klinickej mikrobiológie
Trieda SNP 1, 040 11 Košice
vanda.hajduckova@uvlf.sk

Stafylokoky sú súčasťou fyziologickej mikrobioty ľudí. Môžu spôsobovať rôzne ochorenia, od kožných až po život ohrožujúce systémové infekcie. V súčasnosti sú častejšie identifikovaní pôvodcovia kožných infekcií zo skupiny koaguláza-negatívnych stafylokokov (CoNS) ako *Staphylococcus aureus*. Zvyšujú svoju virulenciu schopnosťou tvoriť biofilm, na ktorej sa podieľajú gény *fnbA*, *fnbB*, *clfA*, *clfB*, *srtA*, *icaA*, *icaB*, *icaC*, *icaD*, *agrA* alebo aj rezistenciou voči meticilínu prostredníctvom génu *mecA* alebo *mecC* kódujúceho proteín 2a viažuci penicilín (PBP2a). Vzorky boli získané z chronických kožných rán hospitalizovaných pacientov (n=51). Vo vzorkách bolo identifikovaných 29 izolátov stafylokokov, z ktorých bolo 16 CoNS (*S. epidermidis*, n=8; *S. haemolyticus*, n=7; *S. capitis*, n=1). Cieľom tejto štúdie bolo vyhodnotiť u jednotlivých druhov CoNS schopnosť tvoriť biofilm a prítomnosť génov podieľajúcich sa na jeho tvorbe a detegovať gény zodpovedné za meticilínovú rezistenciu. U všetkých izolátov bola potvrdená schopnosť tvoriť biofilm, ale u žiadneho neboli detegované gény podieľajúce sa na jeho tvorbe. U *S. epidermidis* boli 3 izoláty silnými producentmi biofilmu a z toho 2 mali prítomný gén *mecA* a u 5 stredne silných producentov biofilmu bol *mecA* gén detegovaný u 3. Päť izolátov *S. haemolyticus* vytváralo silný biofilm a z nich 4 mali gén *mecA* a u oboch stredne silných producentov biofilmu bol tiež prítomný. *S. capitis* vykazoval silnú schopnosť tvoriť biofilm a neboli u neho detegované gény meticilínovej rezistencie. Výsledky poukazujú na to, že producenti biofilmu prispievajú k chronickému priebehu infekcií a navyše rezistentné kmene komplikujú ich liečbu čím sa potvrdzuje, že CoNS sú závažným problémom v klinickej praxi.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-23-0488, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte KEGA 018UVLF-4/2025.

Antibakteriálne účinky extraktu z *Cichorium intybus* na *Paenibacillus larvae*

Hamarová Ľudmila, Kopčáková Anna

Centrum biovied SAV, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice
hamarova@saske.sk

Včela medonosná je hmyz veľkého hospodárskeho významu, ktorý v súčasnosti ohrozuje mnoho faktorov. Jedným z nich je aj bakteriálne ochorenie mor včelieho plodu, ktoré má na včelstvá devastačný účinok so značným ekonomickým dopadom. Ochorenie spôsobuje gram-pozitívna sporulujúca baktéria *Paenibacillus larvae*. V krajinách EÚ, kde je liečba ochorenia antibiotikami zakázaná, nateraz neexistuje žiadna účinná terapia. Liečba antibiotikami je tiež neefektívna na spóry *P. larvae*. To vytvára priestor pre hľadanie alternatívnych prístupov v terapii a prevencii moru včelieho plodu vo včelstvách. Jednou z možností je využitie medicínálnych rastlín, ktoré sú známe svojimi liečivými účinkami. V našich experimentoch sme testovali účinok etanolového extraktu z čakanky obyčajnej (*Cichorium intybus*) na *P. larvae*. Extrakt sme pripravili pomocou refluxnej extrakcie. Na detekciu antibakteriálneho účinku voči baktériám aj voči spóram sme použili diskový difúzny test. Minimálnu inhibičnú koncentráciu (MIC) sme určili pomocou mikrodilučnej metódy s použitím 96-jamkovej mikrotitračnej platničky. Po 24 hodinovej kultivácii bol priemer inhibičnej zóny na platni s inokulovanými baktériami od 0,7 do 1,3 cm v závislosti od objemu testovaného extraktu (20 µl, 40 µl, 60 µl, 80 µl). Takmer rovnaké priemery inhibičných zón sme zaznamenali aj pri testovaní pôsobenia (kultivácia 72 hodín) na spóry ($4,5 \times 10^7$ / ml). Dvojnásobným riedením sme pripravili koncentrácie extraktu od 0,002 mg/ml do 2 mg/ml. MIC voči baktériám *P. larvae* sme detegovali pri koncentrácii 0,25 mg/ml.

Výsledky naznačujú, že extrakt z čakanky obyčajnej má inhibičný účinok na baktérie aj spóry *P. larvae* a predstavujú základnú informáciu pre ďalší výskum a potenciálne využitie v praxi.

Táto práca vznikla vďaka podpore projektovej schémy SAV- PostdokGrant (APD0096).

Fenotypová detekcia vybraných faktorov virulencie u rezistentných koaguláza-negatívnych *Staphylococcus* spp. (CoNS): efluxné pumpy a produkcia betalaktamáz

Hisirová Simona¹, Koščová Jana¹, Király Ján¹, Hajdučková Vanda¹, Hudecová Patrícia¹, Lovayová Viera²

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie a imunológie, Komenského 73, 041 81 Košice

²Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Ústav lekárskej a klinickej mikrobiológie, Trieda SNP 1, 040 11 Košice

CoNS patria k významným oportúnnym patogénom a sú častou príčinou nozokomiálnych infekcií, pričom liečbu komplikuje ich virulencia a rezistencia na antibiotiká. Fenotypové metódy poskytujú jednoduchú a lacnú formu diagnostiky širokého spektra mechanizmov rezistencie. V rámci štúdie bolo analyzovaných 51 klinických vzoriek, z ktorých bolo 22 izolátov negatívnych (43 %), 13 izolátov identifikovaných ako *S. aureus* (25 %) a 16 izolátov bolo zaradených do skupiny CoNS – *S. haemolyticus* (7; 14 %), *S. epidermidis* (8; 16 %) a *S. capitis* (1; 2 %). Produkcia efluxných púmp (EP) bola stanovená Ethidium-bromid Cartwheel metódou (Müller-Hinton agar – MHA; etídium-bromid 2,5 mg/l). Produkcia EP bola vyhodnotená pod UV-svetlom rozdelením do štyroch kategórií: žiadna, slabá, stredne silná a silná. Zo 16 izolátov bol jeden negatívny (6 %), počet silných producentov bol 11 (69 %), stredne silných 1 (6 %) a slabých 3 (19 %). Produkcia základných betalaktamáz (BL) bola stanovená modifikovaným Inhibitor-based testom na MHA s dvomi dvojicami antibiotických diskov: ampicilín (10 mg) a ampicilín/sulbaktám (20 mg); amoxicilín (25 mg) a amoxicilín/klavulanát (30 mg). Produkcia BL bola stanovená odčítaním veľkosti inhibičných zón (v mm). Rozdiel ≥ 5 mm medzi antibiotikom a antibiotikom + inhibítorom BL značí prítomnosť BL (CLSI). Zo 16 izolátov bolo 9 určených ako producenty BL (56 %). Tri izoláty (19 %) nemali identifikovaný rozdiel ≥ 5 mm a 4 izoláty (25 %) nebolo možné odčítať, kvôli rezistencii voči všetkým testovaným antibiotikám. Výsledky potvrdzujú, že detekcia mechanizmov rezistencie, ako sú EP a produkcia BL, je kľúčová pre pochopenie virulencie CoNS a strategické riadenie antimikrobiálnej terapie.

Financované EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V05-00017. Táto práca bola financovaná aj grantom Agentúry na podporu výskumu a vývoja (APVV-23-0488), grantom KEGA (018UVLF-4/2025) Ministerstva školstva, výskumu, vývoja a mládeže SR.

Využití metody qPCR pro detekci sulfát redukujících bakterií

Horáčková Linda¹, Kuschevych Ivan¹, Mašlaňová Ivana²,

¹Masarykova Univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav Experimentální biologie, Oddělení Mikrobiologie, Laboratoř anaerobních mikroorganismů, bud.E25, Kamenice 753/5, 625 00 Brno

²Masarykova Univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav Experimentální biologie, Oddělení Genetiky a molekulární biologie, Laboratoř molekulární diagnostiky mikroorganismů, bud.E25, Kamenice 753/5, 625 00 Brno
533486@mail.muni.cz

Sulfát redukující bakterie zahrnují velkou taxonomicky nejednotnou skupinu anaerobních mikroorganismů. Zástupci této skupiny sdílejí metabolickou dráhu disimilační redukce síranu. Díky ní se významně podílejí na koloběhu síry a na regulaci procesů v prostředí i v živých organismech. Výskyt těchto mikroorganismů v živých organismech byl zkoumán a kvantifikován u sedmi živočišných druhů. Metoda qPCR je jedna z prostředků kvantifikace sulfát redukujících bakterií z přírodního prostředí i z fekálií živočichů včetně člověka. Pro kvantifikaci metodou qPCR byla zvolena dvojice primerů amplifikujících úsek v genu pro alfa-podjednotku adenylylsulfát reduktázy (AprA). Produkt *aprA* genu se účastní metabolické dráhy redukce síranů u těchto bakterií.

Studie ukázala, že vyšší abundanci sulfát redukujících bakterií obecně vykazují fekální vzorky odebrané od býložravců a naopak u psa domácího nebyla tato skupina vůbec zachycena.

Účast na konferenci byla podpořena z projektu Specifického výzkumu Masarykovy univerzity MUNI/A/1774/2024

Defining the essential genome of *Treponema pallidum* through transposon mutagenesis

Matěj Hrala, Juraj Bosák, Petr Andrla, David Šmajš

Masaryk University, Faculty of Medicine, Department of Biology, Kamenice 5, 625 00 Brno
hrala.matej@gmail.com

Treponema pallidum subsp. *pallidum* (*T. pallidum*), the causative agent of syphilis, represents a significant global health challenge. The complex growth requirements of *T. pallidum* historically limited its *in vitro* cultivation and made genetic manipulation challenging. However, recent breakthroughs in *in vitro* cultivation have now enabled genetic modifications. The aim of this study was to systematically identify non-essential genes within the *T. pallidum* genome. We used the random transposon mutagenesis, which resulted in random insertion mutants. Gene disruptions revealed dispensability of these genes for viability of bacterium under *in vitro* conditions. Our experimental design involved the chemocompetence-mediated transformation of *T. pallidum* strains SS14, with the suicide plasmid carrying transposon. Transformed culture underwent several passages *in vitro* under continuous kanamycin selection, successfully enriching viable transformants. Subsequently, high-throughput Illumina sequencing was employed to precisely map and characterize more than thirty transposon insertion sites across the genomes of *T. pallidum* strain. These identified genes could define the minimal *T. pallidum* genome and could lead to identification of treponemal virulence factors.

The work was funded by the National Institute of Virology and Bacteriology (Programme EXCELES, ID Project No. LX22NPO5103, Funded by the European Union - Next Generation EU).

Genome-wide identification of genetic variability within infecting treponemal populations

Janečková Klára, Vrbová Eliška, Mikalová Lenka, Šmajš David

Department of Biology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic
janeckova@med.muni.cz

Bacterium *Treponema pallidum* is a human pathogen causing several diseases based on the subspecies; *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* (TPA) is the causative agent of syphilis, *Treponema pallidum* subsp. *pertenue* (TPE) is the causative agent of yaws, and *Treponema pallidum* subsp. *endemicum* (TEN) is the causative agent of bejel.

During host infection, populations of treponemes are not genetically identical but contain different subpopulations. Genetic heterogeneity on a genome-wide scale was revealed in previous studies. Other studies mapped the intrastrain heterogeneity in 37 genomes and found more than a hundred variable positions in more than 70 genes. However, these studies were limited by low depth coverage of the sequenced genomes, incomplete genome sequences, and limited number of available genomic sequences.

This study analysed 13 genomes with available finished genome sequences where average depth coverage was higher than 100x to overcome the abovementioned limitations. Moreover, unlike in previous studies, the complete genome sequences were analysed in separate parts to allow analysis of paralogous genome regions. We determined intrastrain heterogeneity sites including variability in homopolymeric tracts and compared it between the genomes.

The work was supported by the project National Institute of Virology and Bacteriology (Programme EXCELES, ID Project No. LX22NPO5103) – Funded by the European Union – NextGenerationEU.

Pôdne zasolenie ako faktor ovplyvňujúci bakteriálne spoločenstvá v koreňoch laskavca

Kačírová Jana¹, Kováčová Viera², Hricová Andrea¹

¹ Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV, Akademická 2, 950 07 Nitra, Slovensko

² Ústav biologickej fyziky, Univerzita v Kolíne nad Rýnom, 509 37 Kolín nad Rýnom, Nemecko

jana.kacirova@savba.sk

Zasolenie pôdy patrí medzi hlavné abiotické stresory negatívne ovplyvňujúce rast a produkciu plodín. Endofytické mikroorganizmy pomáhajú zvyšovať odolnosť rastlín voči tomuto stresoru prostredníctvom viacerých mechanizmov. Pomocou sekvenovania amplikónov v plnej dĺžke (oblasť V1–V9, ~1500 bp) bolo porovnané mikrobiálne zloženie pôdy a koreňov dvoch druhov laskavca (*Amaranthus cruentus* a *Amaranthus hypochondriacus*) s odlišnou toleranciou voči zasoleniu, pred a po troch dňoch od aplikácie 300 mM NaCl. Získané výsledky preukázali, že mapovanie čítaní na úrovni kmeňa bolo vo všetkých vzorkách vysoko konzistentné (~89 % čítaní), zatiaľ čo na úrovni druhov sa výraznejšie líšili (57–76 %). V koreňových mikrobiómoch silne dominoval kmeň *Pseudomonadota* (79–86 %), pričom kmeň *Bacillota* predstavoval len malú časť (4–10 %), zatiaľ čo pôdne spoločenstvo vykazovalo zmiešanější zloženie (66 % *Pseudomonadota* a 22 % *Bacillota*). Na úrovni druhov sa koreňové mikrobiómy líšili od mikrobiómu v okolitej pôde a viaceré druhy boli zistené len v koreňoch, vrátane *Xanthomonas albilineans*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Candidatus Liberibacter africanus*, *Candidatus Portiera aleyrodidarum* a *Herbaspirillum frisingense*. Reakcie na zasolenie boli hostiteľsky špecifické, u *A. cruentus* stúplo zastúpenie cyanobaktérie *Geminocystis* sp. NIES-3709, kým u *A. hypochondriacus* sa zvýšil výskyt niekoľkých druhov, vrátane *Azospirillum doebereinae*, *Emticicia oligotrophica*, *Mucilaginibacter paludis* a *Paradevosia tibetensis*. Okrem toho u oboch druhov došlo k nárastu zastúpenia *Piscinibacter* sp. XHJ-5 a *Sulfuritalea hydrogenivorans*. Prekvapivo žiadne druhy neboli konzistentne znížené po 72 hodinách stresu zo zasolenia. Tieto vzorce spoločne naznačujú, že zasolenie pôdy pretvára koreňové mikrobiómy spôsobom špecifickým pre hostiteľa, pričom obohatenie bakteriálnych druhov súvisí s kolobehom živín a adaptáciou na stres.

Tento výskum bol podporený Programom grantov pre postdoktorandov SAV PostdokGrant APD0022.

Porovnanie antibiofilmovej aktivity klasickej vs. nanočasticovej formy ZnO voči biofilm- produkujúcim izolátom *Escherichia coli* z hnačkujúcich teliat

Karahutová Lívia

Centrum Biovied SAV v.v.i., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Šoltésovej 4-6, Košice 04001
karahutova@saske.sk

Biofilmy predstavujú organizované spoločenstvá mikroorganizmov adherujúcich k povrchom, obklopené extracelulárnym polymérnym matrixom, ktorý zabezpečuje ich ochranu pred imunitným systémom hostiteľa a znižuje účinnosť antimikrobiálnej liečby. U neonatálnych teliat s hnačkami sa často izolujú enteropatogénne kmene *Escherichia coli* (*E. coli*), ktoré prostredníctvom adhezínov kolonizujú intestinálnu sliznicu a produkujú toxíny vedúce k poruche elektrolytickej rovnováhy. Schopnosť tvorby biofilmu u týchto kmeňov prispieva k ich perzistencii v prostredí a znižuje účinnosť terapeutických zásahov.

Táto štúdia hodnotila výskyt a molekulové charakteristiky 100 izolátov *E. coli* získaných z hnačkujúcich teliat. Analýza zahŕňala detekciu génov virulencie (*papC*, *eaeA*, *stx1/2*, *cnf1/2*, *stl*, *ltl*) a ich fylogenetickú klasifikáciu prostredníctvom PCR reakcií. Fylogeneticky dominovali extraintestinálne kmene (56 %), najčastejšie zo skupiny D (32 %). Schopnosť izolátov tvoriť biofilm bola hodnotená kvantitatívnym kryštál-violet testom s použitím mikrotitračnej platničky (Nunc, Roskilde, Dánsko) a absorbancia bola meraná pri 570 nm. Až 88 % izolátov vykazovalo schopnosť tvorby biofilmu, pričom 32 % patrilo medzi silných producentov. Účinnosť klasického a nanočasticového oxidu zinočnatého (ZnO) proti biofilmu bola testovaná pri piatich koncentráciách; obidve formy vykazovali inhibičný účinok, pričom nanočastice preukázali mierne vyššiu efektivitu. Výsledky potvrdzujú prítomnosť viacerých patotypov *E. coli* (STEC, EPEC, EHEC, NTEC, ETEC) s biofilmotvorným potenciálom a poukazujú na perspektívu ZnO ako protibiofilmového agensu.

Financované EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V04-00364.

Prítomnosť génov kódujúcich rezistenciu voči meticilínu u biofilm-tvoriacich *Staphylococcus aureus* izolovaných z dermatologických nálezov humánných pacientov

Király Ján¹, Hajdučková Vanda¹, Hudecová Patrícia¹, Hisirová Simona¹, Pilipčinec Emil¹,
Dančová Nikola², Teleky Jana³, Nagyová Mária⁴

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie a imunológie,
Komenského 73, 041 81 Košice

²Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra verejného veterinárskeho
lekárstva a welfare zvierat, Komenského 73, 041 81 Košice

³Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra morfológických disciplín,
Komenského 73, 041 81 Košice

⁴Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, LF, Ústav lekárskej a klinickej mikrobiológie
Trieda SNP 1, 040 11 Košice
jan.kiraly@uvlf.sk

Narušením integrity kože dochádza k vytvoreniu vhodných podmienok pre kolonizáciu rán mikroorganizmami. Významnú úlohu zohráva *Staphylococcus aureus*, ktorý tvorí súčasť fyziologickej mikrobioty ľudí, ale môže spôsobovať ochorenia s miernym až závažným prejavom. Kritickými faktormi vplývajúcimi na jeho virulenciu je schopnosť tvoriť biofilm aj v dôsledku prítomnosti génov (*fnbA*, *fnbB*, *clfA*, *clfB*, *srtA*, *icaA*, *icaB*, *icaC*, *icaD*, *agrA*) alebo vzniku rezistencie voči antimikrobiálnym látkam prostredníctvom génov *mecA* a *mecC* kódujúcich proteín 2a viažuci penicilín (PBP2a). Od 51 hospitalizovaných pacientov boli odobraté vzorky z kožných lézií, v ktorých bolo identifikovaných 13 izolátov *S. aureus*. Cieľom štúdie bolo sledovať tvorbu biofilmu na fenotypovej úrovni a gény zodpovedné za jeho tvorbu a aj prítomnosť génov kódujúcich PBP2a. Z celkového počtu izolátov *S. aureus* bolo 12 vyhodnotených ako silní producenti biofilmu a jeden ako slabý. Všetky izoláty boli pozitívne testované na prítomnosť génov zapojených do procesu tvorby biofilmu, ale nie u všetkých boli potvrdené všetky testované gény. Najvyššiu prevalenciu mali gény *icaA*, *icaB*, *icaC*, *icaD*, *srtA*, *agrA*, ktorá bola 100 %. Z génov kódujúcich proteíny bunkovej steny (*fnbA*, *fnbB*, *clfA*, *clfB*), zodpovedných za adherenciu k hostiteľským bunkám bol v 100 % zastúpení iba gén *clfB*, kódujúci zhlukovací faktor B proteínu CWA, ktorému bola dokázaná kľúčová funkcia, čím významne zvyšuje schopnosť baktérií tvoriť biofilm. Z oboch génov kódujúcich meticilínovú rezistenciu bol v testovaných izolátoch detegovaný iba *mecA* a to u dvoch, ktorí boli aj silnými producentmi biofilmu. Prítomnosť biofilmových a zároveň meticilín rezistentných *S. aureus* zdôrazňujú potrebu optimalizácie liečby a zavádzania preventívnych opatrení v klinickej praxi.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-23-0384, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte KEGA 018UVLF-4/2025.

***Promethearchaeoti* – skrytá diverzita archeí stredoevropských pramenů**

Kocůrková Kristýna¹, Hanišáková Nikola¹, Vítězová Monika¹, Lochman Jan², Novák David², Horáčková Linda¹, Zejbrlíková Anežka¹

¹Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie, Oddělení mikrobiologie, Laboratoř anaerobních mikroorganismů, Kamenice 5, 625 00 Brno

²Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav biochemie, Kamenice 5, 625 00 Brno
533893@mail.muni.cz

Promethearchaeoti, dříve *Asgardarchaeota*, představují skupinu archeí vytvořenou na základě metagenomických sekvencí detekovaných v extrémních podmínkách mořských sedimentů. Tyto velice obtížně kultivovatelné mikroorganismy zaujaly především svými velkými genetickými podobnostmi s eukaryotickými buňkami, hrající možnou roli v endosymbiotické teorii vzniku eukaryot. Výzkum tohoto kmene v posledních letech nejenže rozšířil tuto skupinu, na základě sekvenčních dat a bioinformatických analýz, o mnoho dalších tříd, ale také vedl k prvnímu izolovanému zástupci, *Promethearchaeum syntrophicum*. Některé studie navíc začaly nasvědčovat tomu, že zástupci této skupiny nemusí být omezeni pouze na extrémní prostředí. Prezentovaný výzkum se zaměřuje na identifikaci zástupců této archeální říše v přírodních pramenech střední Evropy a jejich následnou kultivaci. Při výběru odběrových lokalit byla zohledněna schopnost promethearchaeí vytvářet syntrofní vztahy s dalšími mikroorganismy. Proto byly preferovány prameny s podmínkami vhodnými pro růst sulfát-redukujících bakterií a metanogenních archeí. Identifikace probíhá za pomoci molekulárně biologických metod, zejména tedy PCR a sekvenování, zatímco kultivace využívá anaerobní techniky kontinuální kultivace v kombinaci s technikou enrichment culture. Získaná sekvenční data ukazují na možnou přítomnost dosud nepopsaných linií *Promethearchaeoti* v analyzovaných přírodních pramenech.

Účast na konferenci byla podpořena z projektu Specifického výzkumu Masarykovy univerzity MUNI/A/1774/2024.

Vplyv vybraných humínových látok na rast pôvodcu moru včelieho plodu - *Paenibacillus larvae*

Kollár Moskáľová Lenka, Dagmar Mudroňová

Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach,
Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika
Lenka.Moskalova@student.uvlf.sk

Mor včelieho plodu, vyvolaný pôvodcom *Paenibacillus larvae*, je vysoko nákazlivé a smrteľné ochorenie, ktoré postihuje plod včely medonosnej. Tento patogén infikuje výhradne larvy, najmä počas ich kŕmenia alebo prostredníctvom kontaminovaného prostredia, čo vedie k systémovej infekcii a vysokej úmrtnosti plodu. Keďže je v celej Európskej únii liečba antibiotickými prípravkami v chovoch včiel zakázaná, dôraz sa kladie predovšetkým na hľadanie a testovanie alternatívnych riešení prírodného pôvodu. Jednu z možností predstavujú humínové látky (HL), ktoré sú komplexné organické zlúčeniny s vysokou molekulovou hmotnosťou, ktoré vznikajú pri rozklade rastlinných a živočíšnych zvyškov v pôde. Vďaka svojim biologickým účinkom a schopnostiam nachádzajú HL široké uplatnenie najmä vo veterinárnej medicíne. Cieľom tejto práce bolo testovať účinok rôznych foriem (kvapalnej a tuhej) a koncentrácií (0,4 %, 0,6 %, 0,8 % a 1 %) HL na rast patogénu *P. larvae* (CCM 4483), ktorý spôsobuje mor včelieho plodu. HL boli aplikované priamo do rastového média (MYPGP bujón) spolu s kultúrou *P. larvae*. Testované boli nasledujúce HL: Humac® Natur AFM, Humac® Natur AFM liquid a Humac® Natur AFM MycotoxiSorb. Po 24-hodinovej kultivácii bol rast patogéna vyhodnotený pomocou platňovej metódy. Zistili sme, že výraznejší vplyv na rast *P. larvae* mal Humac® Natur AFM, keď pri použití všetkých testovaných koncentrácií došlo k poklesu počtov paenibacilov. Zatiaľ čo pri použití Humac® Natur AFM liquid a Humac® Natur AFM MycotoxiSorb sme zaznamenali významný pokles len pri použití určitých koncentrácií HL. Na základe našich výsledkov sme stanovili vhodné inhibujúce koncentrácie voči *P. larvae* pre testované HL, pričom tieto budú použité pre ďalšie experimenty.

Publikácia vznikla za finančnej podpory IGA UVLF 07/2025 „In vitro črevný model ako nástroj skúmania vplyvu látok prírodného pôvodu u *Oncorhynchus mykiss* a *Apis mellifera*“ a VEGA 1/0454/22.

Detekcia prevalencie genotypu u *Paenibacillus larvae* - pôvodcu moru včelieho plodu na Slovensku

Anna Kopčáková¹, Andrea Mojžišová²

¹ Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Centrum biovied SAV, v.v.i., Šoltésovej 4-6, 04001 Košice

² Štátny veterinárny a potravinový ústav, Jánoškova 1611/58, 026 01 Dolný Kubín

kopcakova@saske.sk

Baktéria *Paenibacillus larvae* je známa ako pôvodca moru včelieho plodu, ktorý je rozšírený na celom svete. Ide o vysoko nákazlivé smrteľné ochorenie včiel medonosných. Virulencia ochorenia je ovplyvnená genotypom *P. larvae*. V súčasnosti je známych päť genotypov *P. larvae*, ktoré sú pomenované podľa Enterobakteriálneho Repetitívneho Intergénového Konsenzu (ERIC). Z doposiaľ dostupných údajov na území Slovenska nebola uskutočnená žiadna štúdia, ktorá by sa priamo venovala genotypizácii *P. larvae* izolátov. Preto sme sa rozhodli vyplniť medzeru v poznatkoch a pomocou molekulárnych metód – ERIC–PCR, preskúmať komplexne všetky regióny Slovenska. V našich experimentoch bolo doposiaľ analyzovaných 30 izolátov *P. larvae*, ktoré boli identifikované použitím kultivačných metód a následne pomocou MALDI - TOF analýzy proteínových profilov. Izoláty boli získané v rokoch 2024 – 2025 od Štátneho veterinárneho a potravinového ústavu v Dolnom Kubíne, ktoré je akreditovaným pracoviskom na choroby včiel a taktiež na mor včelieho plodu na Slovensku. Výsledky molekulárnych analýz ukázali, že doposiaľ u všetkých študovaných bakteriálnych izolátov *P. larvae* bol detegovaný ERIC II genotyp. Do budúca plánujeme rozšíriť danú štúdiu o analýzu viacerých izolátov z každého regiónu Slovenska a potvrdiť tak prevalenciu toho ktorého genotypu na našom území.

Táto práca vznikla vďaka podpore projektu VEGA 2/0099/25.

Od laboratória k bezpečným potravinám: ako stresové faktory ovplyvňujú rast a produkciu stafylokokových enterotoxínov

Koreneková Júlia¹, Vavreková Alžbeta¹, Olejníková Petra², Hrušková Monika¹,
Bírošová Lucia¹

¹Slovenská technická univerzita, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav potravinárstva a výživy, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

²Slovenská technická univerzita, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav biochémie a mikrobiológie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
julia.korenekova@stuba.sk

Staphylococcus aureus je významným pôvodcom alimentárnych intoxikácií z dôvodu syntézy enterotoxínov (SE) priamo v potravinách. SE sú vysoko rezistentné voči tepelnému ošetreniu aj zmenám pH, preto podmienky technologické spracovanie potravín eliminujú vegetatívne bunky, avšak prítomné toxíny zostávajú biologicky aktívne. *S. aureus* zároveň vykazuje schopnosť adaptácie na stresové podmienky, čo mu poskytuje konkurenčnú výhodu. Detailné poznanie vplyvu týchto faktorov na rast a produkciu SE je nevyhnutné pre prevenciu intoxikácií a presnejšie hodnotenie mikrobiálneho rizika.

V našej štúdii sme analyzovali tri potravinové izoláty *S. aureus* produkujúce enterotoxíny A–E. Cieľom bolo vyhodnotiť vplyv NaCl na rast a produkciu SE v modelovom médiu pri ôsmich hodnotách aktivity vody (a_w 1,00–0,86). Rastová rýchlosť bola závislá od kmeňa; nízke koncentrácie soli (do 7,95 %) mali pozitívny vplyv na rast napriek predĺženiu *lag* fázy, čo zodpovedá halofilnému charakteru druhu *S. aureus*. So zvyšujúcou sa koncentráciou NaCl sme zaznamenali pokles na úrovni génovej expresie SE. Virulencia izolátov bola paralelne hodnotená na modelovom organizme *Galleria mellonella*, pričom najnižšia hodnota LD50 sa vyskytla u producenta SEE medzi 1.–2. dňom po inokulácii.

Naše výsledky potvrdzujú, že prídavok soli – jedného z najčastejších konzervačných prostriedkov – ovplyvňuje nielen dynamiku rastu, ale aj mieru produkciu enterotoxínov. Hoci poznatky o bezpečnosti potravín v súvislosti so *S. aureus* neustále pribúdajú, mechanizmy regulácie génovej expresie pri produkcii SE zostávajú výzvou pre ďalší výskum.

Táto práca bola podporená výzvou pre doktorandov a mladých výskumných pracovníkov STU na naštartovanie výskumnej kariéry (Grant 23-04-02-A).

The effect of adaptation of filamentous microscopic fungi on the mobilization of hazardous elements from flotation waste from Lintich

Kósaová Rebeka^{1,2}

¹Institute of Laboratory Research on Geomaterials, Comenius University, Mlynská dolina, 842 15
Bratislava, Slovakia

²Slovak Spectroscopic Society, member of the Association of Slovak Scientific and Technological
Societies, Mlynská dolina G, 842 15, Bratislava, Slovakia
kosaova1@uniba.sk

Past mining activities have led to hazardous metal accumulation, with tailings posing long-term leaching risks. Biological leaching with microorganisms offers a promising solution not only to recover valuable metals but also to mitigate the environmental impact. This study evaluated the effect of adapting the filamentous fungus *Aspergillus niger* on bioaccessible metal fraction and toxicity reduction in polymetallic flotation waste from the Lintich tailing pond (Banská Štiavnica). Bioaccessible metal concentrations were determined using flame atomic absorption spectrometry (F-AAS), and metal fractionation was assessed by BCR sequential extraction to establish bioavailable forms. Fungal adaptation was performed through repeated subcultivation over an extended period, gradually exposing the fungi to increasing amounts of waste material containing a complex mixture of elements. Material toxicity before and after bioleaching was evaluated using the Toxicity Characteristic Leaching Procedure (TCLP, EPA Method 1311). Both adapted and non-adapted fungal cultures acidified the media (pH $\approx$ 2.15–2.6), as substantiated by the detection of organic acids (eg. oxalic acid). Initially, Cd, Pb and Zn were present in the mobilizable fractions at 46%, 42%, and 37%, respectively, which decreased to 11%, 15%, and 17% following bioextraction. Although the initial toxicity levels didn't exceed regulatory thresholds, fungal treatment further reduced these values – by approximately 25% for Pb, 21% for Zn and 76% for Cd. These findings indicate that the application of microscopic fungi can effectively reduce the mobilization and leaching of such waste to the environment, while the effect of microbial adaptation varies depending on the specific metal.

This research was funded by Grant UK/1156/2025. It was also supported by the Slovak Spectroscopic Society, a member of the Union of Slovak Scientific and Technical Societies, with the following logo:

Úloha megaplazmidov v evolúcii halofilných baktérií

Lorková Kellnerová Zuzana, Kisková Jana, Piknová Mária, Pristaš Peter

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedecká fakulta, Ústav biologických
a ekologických vied, Katedra mikrobiológie, Šrobárova 2, 041 54 Košice
zuzana.lorkova@student.upjs.sk

Halofilné mikroorganizmy sú schopné prežívať v prostrediach s vysokou koncentráciou NaCl vďaka špecifickým adaptačným mechanizmom, ktoré sa vyvinuli ako odpoveď na environmentálne stresové faktory. Gény zodpovedné za tieto procesy sa často nachádzajú na plazmidoch, ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu v horizontálnom prenose génov (HGT). Tento proces zásadne prispieva k výmene genetickej informácie medzi mikroorganizmami, dokonca aj medzi vzdialenými taxonomickými skupinami, čím zohráva významnú úlohu v ich evolúcii. V rámci tejto práce sme sa zamerali na genetickú analýzu megaplazmidu izolátu *Halovibrio* sp. HP20-59 izolovaného zo soľanky v Prešove. Plazmidová sekvencia bola identifikovaná bioinformatickými nástrojmi PLACNETw a geNomad a anotovaná prostredníctvom serverov RAST a Bakta Web. Megaplazmid bol následne porovnaný s dostupnými databázami. Výsledky ukázali, že analyzovaný megaplazmid (194 106 bp, obsah GC 53,8 %) má výrazne mozaikovú štruktúru a obsahuje regióny so značnou podobnosťou s plazmidmi halofilných baktérií rodu *Halomonas* a *Vreelandella* pochádzajúcich z geograficky odlišných lokalít. Naše pozorovania naznačujú, že plazmidy v hypersalinných prostrediach sú výsledkom dynamických výmen genetického materiálu, ktoré významne prispievajú k šíreniu adaptačných vlastností. Prvotnými analýzami sme na megaplazmide neidentifikovali gény priamo napomáhajúce prežitiu študovanej baktérie v hypersalinnom prostredí, identifikovali sme však proteíny, ktoré môžu zohrávať istú úlohu v adaptačných mechanizmoch (sigma faktor RNA polymerázy typu ECF, ATPáza typu P, transportné systémy, *mer* operón atď.). V ďalšom výskume sa detailnejšie zameriame na mechanizmy HGT a unikátne gény tohto megaplazmidu.

Financované EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V05-00008.

Identifikácia zástupcov *Streptococcus* vo vzorkách infundibulárnych kazových lézií u koní

Maďar M.¹, Bučan J.¹, Polakovič I.², Drška O.¹

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie a imunológie,
Komenského 6, 041 81 Košice

²UEQVET s.r.o. Jána Smreka 2066/16

Senec 903 01

madarmarian@gmail.com

Zubné kazy u koní sú z hľadiska štúdia mikrobioty a mikrobiologického zloženia veľmi málo študované. Svedčí o tom aj malý počet publikovaných prác. Infundibulárne zubné kazy možno považovať za modelové patológie podobné ľudským zubným kazom. Aj keď potrava koní je iná, patria medzi monogastrické organizmy. Princíp vzniku tohto ochorenia je podobný a závislý od patologickej skladby dentálnych biofilmov a zmeny v tomto prostredí v prospech kariogénnych baktérií. Podobne ako je u ľudí kľúčovým pôvodcom zubného kazu *Streptococcus mutans*, u koní sa na základe doterajších poznatkov za hlavného etiologického pôvodcu lézií v oblasti infundibula považuje *Streptococcus devriesei*. V našej práci sme sa zamerali na izoláciu, detekciu a identifikáciu zástupcov rodu *Streptococcus* na základe fenotypového ako aj genotypového prejavu. Pre účel identifikácie sme využili vzorky získané z 41 koní z chovov na Slovensku. Z výsledkov bolo zistené že v rámci rodu *Streptococcus* bol zaznamenaný výskyt aj ďalších zástupcov tohto rodu, medzi ktoré patrili *S. devriesei* 10x, *S. criceti* 7x, *S. orisasini* 4x, *S. equinus* 3x, *S. vicugnae* 2x, *S. caviae* 2x, *S. lutetiensis* 3x, *S. orisuis* 2x, *S. tangierensis* 2x, *S. cameli* 1x, *S. cabali* 1x, *S. confusa* 1x, *S. oriloxodontae* 1x, *S. galinaceus* 1x, *S. dentasini* 1x. Tieto zistenia nám otvárajú nové možnosti štúdia zubného kazu a hľadania nových bioaktívnych látok ako sú napríklad bakteriocíny. Tie sú schopné inhibovať rast týchto kariogénnych baktérií a to aj v rámci rodu, keďže je predpoklad ich interakcie a kompetície na mieste infundibulárnych kazov a to aj na úkor výskytu *Streptococcus devriesei*.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v zmluve APVV-23-0384 Perspektíva využitia prospešných baktérií a ich bioaktívnych látok v prevencii a terapii orálnych ochorení spoločenských zvierat a v projekte VEGA 1/0668/24 Potenciál bioaktívnych látok produkovaných prospešnými baktériami pri prevencii a terapii ochorení zubov vo veterinárnej a humánnej medicíne

Vírusy so zoonotickým potenciálom identifikované v piskoroch v strednej Európe

Jana Náhliková^{1,2}, Marta Heroldová³, Boris Klempa^{1,2}

¹ Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, v. v. i., Virologický ústav, Oddelenie ekológie vírusov, Dúbravská cesta 9, 845 05, Bratislava, Slovenská republika

² Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovenská republika

³ Ústav biologie obratlovců, Akademie věd ČR, v. v. i., Květná 8, 603 00 Brno, Česká republika
jana.nahlikova@savba.sk

Hantavírusy (čeleď *Hantaviridae*) a paramyxovírusy (čeleď *Paramyxoviridae*) predstavujú dve rozsiahle skupiny RNA vírusov infikujúcich široké spektrum hostiteľov. Mnohé vírusy z týchto čeledí patria medzi významné zoonotické patogény predstavujúce riziko pre človeka, ako napríklad Hantaan a Dobrava hantavírusy a Nipah a Hendra paramyxovírusy. Nedávne objavenie hantavírusov a paramyxovírusov v piskoroch (čeleď *Soricidae*) poukazuje na význam piskorov ako hostiteľov vírusov so zoonotickým potenciálom. Zároveň, vzhľadom na ich globálny výskyt a druhovú rôznorodosť, predstavujú významnú skupinu pre štúdium diverzity a evolúcie oboch vírusových čeledí v strednej Európe. Cieľom práce bolo identifikovať a geneticky charakterizovať hantavírusy a paramyxovírusy vo vzorkách pľúc piskorov (*Sorex* spp.) pochádzajúcich z rôznych lokalít Českej republiky. Vzorky tkanív 140 jedincov boli analyzované pomocou RT-PCR zameranej na konzervované oblasti genómu oboch vírusových čeledí. Pozitívne amplikóny boli následne sekvenované a podrobené fylogenetickej analýze s cieľom určiť ich evolučnú príbuznosť s už známymi vírusmi. Získané výsledky tak rozširujú poznatky o diverzite piskormi prenášaných vírusov v strednej Európe.

Tento výskum bol podporený z Horizon Europe Research & Innovation Programme projektu ZOE (GA No 101135094) a Programu grantov pre doktorandov SAV DoktoGrant (APP0592).

Rastlinné polyfenoly ako perspektíva v antimikrobiálnej terapii orálnych infekcií

B. Nebus¹, J. Kováč², L. Slobodníková¹, A. Liptáková¹, E. Kurin³, S. Bittner Fialová³

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

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

³Katedra farmakognózie a botaniky, Farmaceutická fakulta Univerzity Komenského, Bratislava, SK
benedikt.nebus@fmed.uniba.sk

Endodontické zákroky predstavujú riziko šírenia patogénov a vzniku chronických infekcií, pričom jedným z najvýznamnejších je *Enterococcus faecalis*. Táto baktéria dokáže prežiť v koreňových kanálikoch a vytvárať rezistentné biofilmy. Vzhľadom na rastúcu antimikrobiálnu rezistenciu sa zvyšuje záujem o prírodné polyfenoly s antibakteriálnym potenciálom. Cieľom práce bolo zhodnotiť účinok vodných extraktov zo zeleného čaju (*Camellia sinensis*) a mäty piepornej (*Mentha × piperita*), ako aj ich hlavných polyfenolových zložiek (epigalokatechín galát, epikatechín, kyselina kávová, kyselina rozmarínová) proti klinickým izolátom *E. faecalis*.

Extrakty boli pripravené ako infúzie a analyzované na obsah trieslovín, flavonoidov, hydroxyškoricových derivátov a celkových polyfenolov. Antibakteriálna aktivita sa hodnotila mikrodilučnou metódou (MIC, MBC). Najvyššiu účinnosť vykazoval zelený čaj, pričom epigalokatechín galát dosiahol najnižšie hodnoty MIC/MBC. Extrakt z mäty piepornej mal slabší efekt, a kombinácia oboch extraktov nevykázala aditívny účinok – naopak, prejavil sa antagonizmus.

Výsledky naznačujú, že polyfenoly zo zeleného čaju, najmä epigalokatechín galát, majú sľubný antibakteriálny potenciál proti *E. faecalis*. Perspektívne využitie rastlinných extraktov v ústnej hygiene a ďalší výskum účinkov na iné patogény môžu podporiť vývoj alternatívnych terapií.

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

From sequence to function: Characterization of a novel endolysin EN2486 with potential for *Listeria* spp. control in food industry

Niku Barbora¹, Bocánová Lucia¹,
Drahovská Hana², Véghová Adriana³, Kaclíková Eva³, Bukovská Gabriela¹

¹Institute of Molecular Biology, Slovak Academy of Sciences, Department of Genomics and Biotechnology, Dúbravská cesta 21, 845 51 Bratislava

²Comenius University, Faculty of Natural Sciences, Department of Molecular Biology, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava

³Food Research Institute, National Agricultural and Food Centre, Department of Microbiology, Molecular Biology and Biotechnology, Priemyselná 4, P.O.Box 25, 824 75 Bratislava

barbora.niku@savba.sk

Listeria monocytogenes, the causative agent of listeriosis, represents one of the most dangerous foodborne pathogens due to its high mortality rate, targeting of vulnerable populations (pregnant women, newborns, elderly, and immunocompromised individuals), diagnostic challenges, immune evasion capabilities, and extreme resilience. These characteristics necessitate effective strategies to prevent its presence in food products. Endolysins, which are natural lytic enzymes encoded by bacteriophages, represent promising alternative to conventional antimicrobial treatment. Here we present endolysin EN2486, a novel antimicrobial agent, encoded by gene *orf2486* identified on a prophage in the *Listeria monocytogenes* KMB-1106 genome, as a promising approach for eradicating *Listeria* spp. in food industry.

Bioinformatic analysis identified protein EN2486 as N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase that cleaves bacterial peptidoglycan between N-acetylmuramic acid and the first L-alanine residue. Sequence comparison with 15 well-characterized *Listeria* endolysins revealed no significant homology, suggesting uniqueness of this enzyme. The 3D protein structure was predicted using AlphaFold2. The enzymatic lytic activity was assessed via optical density reduction assay. Optimal lytic activity occurred at pH 7.0 – 9.0. The effects of NaCl, ZnCl₂, MgCl₂, and CaCl₂ concentrations on activity were evaluated. Host spectrum analysis included various strains of *Listeria*, *monocytogenes* serotypes, *L. innocua*, *L. grayi*, *L. welshimeri* and *L. seeligeri*. Thermostability and temperature-dependent activity were also characterized. In standardized buffer, EN2486 demonstrated lytic activity with a 2.9 log CFU/ml reduction. Remarkably, in 8% skim milk, the endolysin maintained significant efficacy with a 2.5 log CFU/ml reduction. These results indicate that endolysin EN2486 represents a powerful listeriocide with substantial potential for food industry applications.

This work was supported by APVV 23-0140 grant from Slovak Research and Development Agency and by VEGA grant 2/0079/22 from Slovak Academy of Sciences

In vitro príprava dsRNA štandardu pre RT-qPCR kvantifikáciu Tribeč vírusu

Pačanská Zuzana, Schusterová Petra, Loziaková Peňazziová Katarína, Pivka Soňa,
Csank Tomáš

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie a imunológie,
Komenského 73, 041 81 Košice
zuzana.pacanska@student.uvlf.sk

V súčasnosti predstavuje kvantitatívna polymerázová reťazová reakcia spojená s reverznou transkripciou (RT-qPCR) najcitlivejšiu a najšpecifickejšiu metódu na detekciu a kvantifikáciu vírusovej RNA v rôznych vzorkách. V tejto štúdii sme navrhli a pripravili štandardnú molekulu dsRNA na kvantifikáciu Tribeč vírusu (TRBV) a to v súlade s metodikou Li a Zamore (2019). Najskôr sme analyzovali genóm TRBV (Geneious 9.1.8), aby sme vybrali cieľovú oblasť vhodnú ako templát. Následne sme navrhli dve sady forward a reverse primerov, a to s alebo bez T7 promótorovej sekvencie na 5'konci. Tieto primery boli použité v dvoch konvenčných PCR reakciách na prípravu DNA templátov pre *in vitro* transkripciu *sense* a *antisense* ssRNA molekúl. Pred samotnou *in vitro* transkripciou boli produkty PCR purifikované precipitáciou s acetátom sodným a etanolom. Sekvencia DNA templátov bola overená sekvenovaním podľa Sangera. Na *in vitro* transkripciu sme použili *HiScribe™ T7 High Yield RNA Synthesis Kit* (New England Biolabs; NEB). Nami nasyntetizované ssRNA molekuly boli použité v tzv. duplex reakcii, ktorej výsledkom bola samotná štandarda resp. molekula dsRNA. Pred duplexnou reakciou a kvantitatívnymi testami boli molekuly ssRNA/dsRNA purifikované pomocou fenol-chloroformovej extrakčnej metódy. Pomocou bioinformatického softvéru Geneious, určeného na analýzu sekvenaných údajov, sme navrhli novú sadu primerov a sondy pre RT-qPCR špecifickú pre TRBV. Následne bola vykonaná séria RT-qPCR testov na overenie ich špecifickosti a optimalizáciu reakčných podmienok. Štandardné krivky ssRNA transkriptov a štandardnej molekuly dsRNA vykazovali veľmi dobrú účinnosť PCR, konkrétne 92 % pre transkript ssRNA ($R^2 = 0,994$) a 96,7 % pre štandardnú molekulu dsRNA ($R^2 = 1,0$). Záverom môžeme konštatovať, že nami navrhnutá a syntetizovaná štandardná molekula dsRNA je vhodná na kvantifikáciu TRBV v experimentálnych vzorkách.

Financované EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V05-00017 (IGA-ESGV/08/2024); Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0689/24.

Molekulárny dôkaz cirkulácie psieho parvovírusu u jazveca lesného (*Meles meles*) na Slovensku

Petroušková Patrícia¹, Pelegrinová Andrea¹, Lazár Jozef², Lipinský Jakub¹, Drážovská Monika¹, Prokeš Marián¹, Korytár Ľuboš¹, Kostičák Maroš¹, Ondřejková Anna¹

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra epizootológie, parazitológie a ochrany spoločného zdravia, Komenského 73, 041 81 Košice

²Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra chovu a chorôb zveri, rýb a včiel, ekológie a kynológie, Komenského 73, 041 81 Košice
patricia.petrusova@uvlf.sk

Psí parvovírus (CPV) predstavuje významný patogén psov s vysokou schopnosťou pretrvávať v prostredí a infikovať široké spektrum hostiteľov z radu Carnivora. Úloha jazveca lesného (*Meles meles*) v cirkulácii CPV zostáva doposiaľ nedostatočne preskúmaná. Cieľom tejto práce bolo charakterizovať prítomnosť a genetickú diverzitu CPV v tejto málo preskúmanej populácii voľne žijúcich zvierat na Slovensku. Počas rokov 2023 – 2025 bolo zo siedmich krajov Slovenska odobratých 53 vzoriek (14 črevných tkanív, 39 rektálnych výterov). DNA bola extrahovaná komerčnými súpravami a analyzovaná pomocou real-time PCR zameranej na VP2 gén. Pozitívne vzorky boli následne sekvenované na VP2 gén plnej dĺžky (1755 bp) a zaradené do fylogenetického kontextu spolu s referenčnými kmeňmi dostupnými v databáze GenBank. CPV DNA bola detegovaná v 6/53 vzorkách (11,3 %; 95% CI: 5.3 – 22.6). Pozitívne prípady pochádzali z rôznych regiónov Slovenska, čo poukazuje na rozšírenie CPV v populácii jazveca na národnej úrovni. Identifikované boli varianty CPV-2a a CPV-2b, vrátane izolátov s aminokyselinovými substitúciami charakteristickými pre tzv. „Asian-like“ línie (5G, 267Y, 324I, 370R). Fylogenetická analýza potvrdila úzku príbuznosť slovenských izolátov s európskymi kmeňmi a naznačila možný prienik variantov s ázijskými znakmi do strednej Európy. Naše výsledky predstavujú prvý molekulárny dôkaz prítomnosti CPV u jazveca lesného na Slovensku. Táto predbežná štúdia potvrdzuje hypotézu, že jazvec lesný sa môže podieľať na dynamike cirkulácie CPV v strednej Európe, avšak jeho presný epidemiologický význam je potrebné objasniť v rámci rozsiahlejších štúdií.

Financované EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR v rámci projektu č. 09I03-03-V05-00017.

Prevalencia *Staphylococcus* spp. u humánných pacientov s dermatologickými nálezmi

Pilipčinec Emil¹, Király Ján¹, Hajdučková Vanda¹,
Teleky Jana², Lovayová Viera³

¹Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie a imunológie,
Komenského 73, 041 81 Košice

²Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra morfológických disciplín,
Komenského 73, 041 81 Košice

³Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, LF, Ústav lekárskej a klinickej mikrobiológie
Trieda SNP 1, 040 11 Košice
emil.pilipcinec@uvlf.sk

Jedným z prejavov dermatitídy je prítomnosť kožných lézií. Tie predstavujú abnormality kože odlišné od okolitého tkaniva. Dermatitída nie je infekčné ochorenie, ale narušením integrity kože vznikajú vhodné podmienky pre kolonizáciu rany mikroorganizmami. K najčastejšie izolovaným patogénom podieľajúcich sa na infekciách rán patria *Staphylococcus* spp. Cieľom tejto štúdie bolo sledovať zastúpenie stafylokokov v získaných vzorkách na rodovej a druhovej úrovni čo pomôže zvýšiť povedomie o infekciách kože a usmerniť empirickú liečbu. Kultiváciou, mikroskopickým vyšetrením a pozitívnym katalázovým testom bolo u 24 hospitalizovaných pacientov z 51, identifikovaných 29 izolátov stafylokokov čo predstavuje 47 % prevalenciu. Identifikované stafylokoky boli na rodovej úrovni potvrdené konfirmačnou mPCR amplifikáciou segmentu génu 16S rRNA. Touto mPCR bol identifikovaný druh *S. aureus* detekciou časti jeho špecifických génov *eap* (extracelulárny adhézny proteín) a *nuc* (termostabilná nukleáza). Druhové zastúpenie bolo určené proteomickým prístupom prostredníctvom MALDI-TOF MS analýzy. Všetky izoláty boli určené ako *Staphylococcus* spp. z ktorých 13 (45 %) bolo identifikovaných ako *S. aureus* čo súhlasilo s výsledkom mPCR. Ostatných 16 izolátov (55 %) bolo identifikovaných ako koaguláza negatívne (CoNS) s najvyššou mierou výskytu *S. epidermidis* (8; 28 %), *S. haemolyticus* (7; 24 %) a *S. capitis* (1; 3 %). U všetkých stafylokokov bola sledovaná hemolytická aktivita s výsledkom: *S. aureus* 2 (α hemolýza) / 11 (β hemolýza), *S. epidermidis* 2 (α hemolýza) / 6 (β hemolýza), *S. haemolyticus* a *S. capitis* (β hemolýza). Zistenia našej štúdie poukazujú na významný výskyt stafylokokov v dermatologických nálezoch a zdôrazňujú potrebu ich cielenej diagnostiky z dôvodu racionalizácie využívania antibiotík v terapii.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-23-0488, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte KEGA 018UVLF-4/2025.

Vplyv IFN typu I na expresiu ISG počas replikácie kliešťami prenášaných orbivírusov

Pivka Soňa, Loziaková Peňazziová Katarína, Schusterová Petra,
Pačanská Zuzana, Csank Tomáš

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Katedra mikrobiológie
a imunológie, Komenského 73, 041 81 Košice
sona.pivka@uvlf.sk

Kliešťami prenášané orbivírusy (KPO) patria medzi zoonotické vírusy, ktoré sú v rutinných diagnostických postupoch infekcií centrálného nervového systému (CNS) stále opomínané. Štúdie poukazujú na ich potenciálnu úlohu v patogenéze neuroinfekcií, avšak dostupné poznatky o klinickom priebehu ochorení u ľudí a zvierat sú veľmi obmedzené. Práca bola zameraná na skúmanie vplyvu interferónov typu I (IFN- α , IFN- β) na expresiu génov stimulovaných IFN (ISG) v myšacej fibroblastovej línii L929. Bunky boli predinkubované s rôznymi koncentráciami IFN (2,5 – 40 ng/ml) počas 24 hodín a následne infikované Tribeč vírusom (TRBV) alebo Kemerovo vírusom (KEMV). Obe formy IFN vykázali významný antivírusový účinok už pri najnižšej koncentrácii, pričom bola potvrdená negatívna korelácia ($p < 0,001$) medzi koncentráciou IFN a počtom kópií vírusovej RNA (qPCR). Mechanizmus inhibície bol spojený so stimuláciou ISG (IFIT, OAS, PKR a Mx1), ktoré boli diferencovane exprimované v závislosti od typu IFN a dávky. Pri IFN- α bol maximálny nárast expresie (5-násobok pre IFIT, 3-násobok pre OAS) zaznamenaný pri vyšších koncentráciách, zatiaľ čo IFN- β indukoval génovú expresiu účinnejšie už pri 2,5 ng/ml s maximom 7-násobne IFIT a 6-násobne OAS. Expresia PKR zostala nezmenená, zatiaľ čo výsledky pre Mx1 boli vzhľadom na nízku bazálnu hladinu nejednoznačné. Výsledky poukazujú na významnú úlohu IFN typu I v kontrole replikácie KPO a poskytujú nové poznatky o mechanizmoch vrodenej antivírusovej odpovede hostiteľa.

Financované Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0689/24. Za technickú podporu ďakujeme Mgr. Dominike Drotárovej.

Odpoveď vláknitých húb *Aspergillus fumigatus* na prítomnosť antifungálnych zlúčenín

Segéňová Ivana, Olejníková Petra, Špaňová Petra

Slovenská technická univerzita, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav biochémie
a mikrobiológie, Radlinského 9, 812 37, Bratislava
ivana.segenova@stuba.sk

Antifungálna rezistencia vláknitých húb *Aspergillus fumigatus* v súčasnosti predstavuje jednu z najvýznamnejších výziev pre verejné zdravotníctvo. Zvyšujúci sa počet imunokompromitovaných pacientov, vysoká mortalita spojená s aspergilózami (najmä invazívnymi formami) a obmedzené spektrum dostupných účinných antimykotík, ktorých efektivita je limitovaná šíriacou sa rezistenciou, predstavujú hlavné faktory, ktoré podnecujú intenzívny výskum v tejto oblasti. Kľúčovým predpokladom pre vývoj nových, respektíve zvýšenie účinnosti aktuálne používaných liečiv je detailné poznanie mechanizmov, ktoré prebiehajú v bunke pri stresových podmienkach vyvolaných prítomnosťou antimykotík.

V našej práci sme sa zamerali na transkriptomickú analýzu génov kódujúcich enzýmy zapojené do ergosterolovej biosyntetickej dráhy ako aj transkripčné faktory, ktoré dráhu regulujú. Pozornosť sme venovali aj expresii génov kódujúcich cytochrómoxidázy a transmembránové transportéry zapojené do detoxikačných procesov. Odpoveď klinických izolátov *A. fumigatus* s definovanými profilmi rezistencie sme porovnali so zbierkovým kmeňom *A. fumigatus* CBS 101 355. Stresové podmienky boli indukované prenesením kmeňov v exponenciálnej fáze rastu na živné médiá suplementované klinicky používanými azolovými antimykotikami v koncentráciách odporúčaných podľa EUCAST pre detekciu rezistencie. Transkripcia sledovaných génov bola monitorovaná v rôznych časových intervaloch pôsobenia azolov. Naše výsledky prispievajú k hlbšiemu pochopeniu reakcií *A. fumigatus* na antifungálny stres, čo môže pomôcť pri identifikácii nových terapeutických cieľov.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-24-0167 a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0388/22.

Prítomnosť vankomycín rezistentných enterokokov vo vzorkách stolíc pri klostrídiovej kolitíde

Slebočníková Radka¹, Čurová Katarína¹, Droppová Lucia¹, Kardos Nicolas^{1, 2}

¹Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Ústav lekárskej a klinickej mikrobiológie, Trieda
SNP 1, 040 11 Košice

²Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Klinika detí a dorastu, Trieda SNP 1, 040 11
Košice

radka.sleboznikova@upjs.sk

Enterokoky sú grampozitívne baktérie, ktoré sú súčasťou črevnej mikrobioty ľudí a zvierat. Patria k pôvodcom oportúnnych infekcií, často nozokomiálnych. Z klinických vzoriek od ľudí sú najčastejšie izolované *E. faecalis* a *E. faecium*. V nemocničnom prostredí sa vyseletovali kmene rezistentné voči vankomycínu a iným antibiotikám (ATB). Viaceré štúdie potvrdzujú, že enterokoky svojou metabolickou aktivitou vytvárajú v čreve vhodné prostredie pre *Clostridioides difficile* (*C. difficile*). U predisponovaných pacientov predstavujú rizikový faktor rozvoja infekcie vyvolanej týmto patogénom.

V našej práci sme sa zamerali na dôkaz prítomnosti enterokokov vo vzorkách stolíc odobraných od pacientov pri klostrídiovej kolitíde a testovanie ich citlivosti voči ATB. Vzorky stolíc, v ktorých bola kultivačne potvrdená prítomnosť *C. difficile* (n=57), boli naočkované na selektívny agar pre enterokoky (EA). Pozitívna kultivácia na EA bola zaznamenaná pri 77,2 % vzorkách stolíc (n=44). Metódou MALDI-TOF MS boli identifikované tieto druhy enterokokov: *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. avium*, *E. raffinosus*, *E. hirae*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. durans*. Celkovo sme pri 44 vzorkách stolíc potvrdili prítomnosť 75 kmeňov enterokokov, z jednej vzorky 1-3 rôzne druhy. K hodnoteniu citlivosti izolovaných enterokokov voči ATB ampicilín, doxycyklín, trimetoprim-sulfametoxazol, linezolid, ciprofloxacín a vankomycín bol použitý diskový difúzny test (DDT). Kmene vykazujúce rezistenciu na vankomycín v DDT (n=12), sme otestovali E-testom. V prípade siedmich kmeňov sme zistili úplnú rezistenciu k vankomycínu (MIC >256).

Prítomnosť vankomycín rezistentných enterokokov (VRE) v hrubom čreve predstavuje zvýšené riziko prenosu génov rezistencie na *C. difficile*. Pre objasnenie korelácií medzi VRE a *C. difficile* bude cieľom ďalších výskumných aktivít charakterizácia plazmidovej výbavy enterokokov.

Tento výskum bol podporený Ministerstvom školstva, vedy, výskumu, vývoja a mládeže SR v projekte VEGA 1/0529/25.

Stafylokoky ako súčasť kožnej mikrobioty zdravých koní a ich faktory virulencie

Lucia Štempelová, Viola Strompfová, Dajana Gondoľová, Dobroslava Bujňáková, Livia Karahutová

Centrum biovied SAV, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Šoltésovej 4-6, 040 01 Košice
stempelova@saske.sk

Koža ľudí a zvierat je kolonizovaná rozmanitou mikrobiálnou populáciou. Významne zastúpené sú stafylokoky, ktoré majú dôležitú úlohu v epidemiológii zvierat a ľudí. Stafylokoky sa ako oportúnne patogény mnohokrát podieľajú aj na vzniku dermatologických ochorení. Cieľom tejto práce bolo analyzovať vlastnosti stafylokokov izolovaných z povrchových kožných sterov zdravých koní. Kožné stery boli odoberaté od 50-tich koní rôzneho plemena a veku, pochádzajúcich z troch chovov (Košice, Kráľovce, Kavečany). Na vytvorenie celkového obrazu zloženia kožnej mikrobioty boli stery odoberané z piatich miest na tele každého koňa (papuľa, krk, chrbát, brucho, sponka). Po ich identifikácii pomocou MALDI-TOF hmotnostnej spektrometrie, sme na fenotypové testovanie vlastností vybrali 121 koaguláza-negatívnych stafylokokov. U týchto kmeňov boli sledované vlastnosti ako tvorba extracelulárnych enzýmov (DNÁza, želatináza, kazeináza, lipáza, amyláza), tvorba hemolýzy a tvorba biofilmu. Na detekciu tvorby enzýmov boli použité živné média s prídavkom testovaných zložiek. Hodnotenie produkcie biofilmu sa uskutočnilo pomocou spektrofotometrického testu kryštálovou violetou podľa predtým publikovanej metódy Toledo-Arana et al. (2001) s malými modifikáciami, ako popísala Bujňáková a Kmeť (2012). Na stanovenie minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIC) antimikrobiálnych látok proti izolovaným kmeňom sa použili testovacie stripy Liofilchem® MIC (Taliansko). U testovaných stafylokokov bola najčastejšie pozorovaná produkcia želatinázy (50,4%), lipázy (46,3 %) a DNÁzy (41,3%). Schopnosť produkcie biofilmu bola pozorovaná u 90,0% stafylokokov. Použitím MIC testovacích stripov bola pozorovaná rezistencia na penicilín G (48%; 20% stredne rezistentných), erytromycín (12,0%), tetracyklín (6,0%), linezolid (4,0%) a oxacilín (4,0%). Naopak, všetky testované stafylokoky boli citlivé na cefoxitín, ciprofloxacín, levofloxacín, rifampicín, teikoplanín, trimetoprim-sulfametoxazol a vankomycín.

Tento výskum bol podporený grantom pre postdoktorandov SAV – PostdoktGrant (APD0011).

Imobilizácia bakteriálnych biokatalyzátorov na celulóзовú maticu pomocou väzobných domén vynášaných na bunkový povrch

Šúrová Dominika, Jankovičová Barbora, Dvořák Pavel

Masarykova Univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie, Oddělení
mikrobiologie, Laboratoř bioinženýrství mikroorganismů, Kamenice 753/5,
625 00 Brno
dominika.surova@yahoo.com

Celulosómy sú komplexné multienzymové štruktúry, ktoré niektoré anaeróbne baktérie využívajú na efektívnu degradáciu rastlinnej biomasy. Ich základom je nekatalytické proteínové lešenie – scaffoldin, ktoré nesie väzobné domény cohezíny. Na tie sa špecificky viažu dockeríny prítomné na celulolytických enzýmoch, čím vzniká modulárna štruktúra schopná cielenej hydrolýzy polysacharidov. Väzbu celulosómu k substrátu sprostredkováva celulózo-väzebná doména (CBM), ktorá sa vyskytuje v niektorých scaffoldinoch. Tento princíp je významne aplikovateľný v biotechnológiách, najmä v oblasti biokonverzie lignocelulóзовého odpadu.

Cieľom tejto práce je vytvoriť a porovnať tri odlišné plazmidové konštrukty ktoré umožňujú exprimovať proteíny s rôznymi väzobnými modulmi v modelovom organizme *Pseudomonas putida*, ktorý je možné jednoducho vizualizovať pomocou heterológnej expresie GFP. Väzbové proteíny sú vynášané na povrch bunky pomocou autotransportérového systému odvodeného z antigénu Ag43, ktorý pochádza z *Escherichia coli*. Následne bude testovaná ich schopnosť prichytenia v hostiteľských bunkách *Pseudomonas putida* na celulóзовý substrát a analyzovaný vplyv prítomnosti CBM na efektívnosť vystavenia scaffoldinu na bunkovom povrchu.

Na prípravu konštruktov sú využívané metódy molekulárneho klonovania, PCR amplifikácie, restriktívnej digestie a bakteriálnej transformácie. V ďalších krokoch budú transformované bunky inkubované s celulóзовými guľôčkami a vizualizované pod fluorescenčným mikroskopom.

Očakávaným prínosom projektu je overenie funkčnosti väzobného systému, ktorý by mohol slúžiť ako základ pre inžinierstvo baktérií schopných cielenej adhézie na pevné substráty a prepojenie degradačných enzýmov s imobilizovanými bunkami.

Účasť na konferencii bola podporená z projektu Špecifického výskumu Masarykovej univerzity MUNI/A/1774/2024.

Úloha UPR-signálnej dráhy v modulácii citlivosti na azolové antifungálne látky

Michaela Taušová, Tomáš Pagáč, Ján Víglaš, Petra Olejníková

Ústav Biochémie a Mikrobiológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, STU v Bratislave,
Radlinského 9, 81237 Bratislava
michaela.tausova@stuba.sk

Rastúci výskyt rezistencie vlákňitých húb voči antimykotikám, najmä azolom, predstavuje mimoriadnu terapeutickú výzvu. Obmedzená účinnosť terapie často nastáva v dôsledku aktivácie adaptačných mechanizmov, ktoré umožňujú vlákňitým hubám prežiť stres vyvolaný pôsobením antimikrobiálnych látok. Jednou zo signálnych dráh, ktorá prispieva k vysporiadaniu sa so stresom je aj *unfolded protein response* (UPR) signálna dráha. Hlavnou úlohou signálnej dráhy je zabezpečiť správnu štruktúru proteínov a ich posttranslačné úpravy. Na overenie našej hypotézy sme využili modelovú vlákňitú hubu *Neurospora crassa*. Zapojenie UPR signálnej dráhy v adaptívnej odpovedi na azoly sme preskúmali vystavením mycélia azolom po dobu 2 hodín a následnou transkriptomickou analýzou génov zapojených do signálnej dráhy- hac, ire, bip a pdi. Priamy vplyv aktivácie UPR dráhy na moduláciu účinku azolov a rast vlákňitej huby sme skúmali makrodilučnou metódou použitím induktorov UPR dráhy - ditiotreitolu (DTT) a tunikamycínu (TN). Transkriptomická analýza ukázala, že po dvojhodinovej expozícii mycélia azolom nenastáva signifikantný stres ER, ktorý je potrebný pre aktiváciu UPR dráhy a teda krátkodobá expozícia nie je postačujúcim podnetom. Počas modulácie účinku azolov DTT a TN sa však ukázalo, že obe látky, ktoré indukujú stres ER zvýšili inhibičný účinok azolov. Tieto výsledky naznačujú, že modulácia proteostázy a aktivácia UPR dráhy môžu byť účinnou stratégiou na zvýšenie efektivity azolov.

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-24-0167, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0388/22.

Vplyv katechínu na odolnosť buniek *Candida parapsilosis* voči antimykotikám

Kocúreková Petra, Súlovská Hanka,
Eliaš Daniel, Konečná Alexandra, Tóth Hervay Nora

Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie,
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava
nora.toth@uniba.sk

Kvasinka *Candida parapsilosis* je bežnou súčasťou ľudskej mikrobioty, ktorá je častým pôvodcom nozokomiálnych infekcií u imunokompromitovaných pacientov. Úspešnosť liečby ochorení spôsobených fungálnymi patogénmi je limitovaná množstvom antifungálnych látok, ako aj schopnosťou buniek kvasiniek využívať rôzne mechanizmy rezistencie voči týmto látkam. Katechín zo skupiny prírodných polyfenolických zlúčenín – flavonoidov, má potenciál zvyšovať antifungálne vlastnosti v praxi využívaných liečiv. V práci sme sa zamerali na antimykotický účinok katechínu voči klinickým izolátom *C. parapsilosis*.

Získané výsledky naznačujú, že kombinácia katechínu a flukonazolu vedie k inhibícii rastu klinických izolátov *C. parapsilosis* rezistentných voči flukonazolu. V prítomnosti katechínu došlo v bunkách referenčného kmeňa ako aj v bunkách klinických izolátov k zvýšenej produkcii ROS. Analýza exprese vybraných génov zahrnutých v rezistencii kvasiniek *C. parapsilosis* voči azolom preukázala v prítomnosti katechínu zvýšenú expresiu génov *CpTAC1* a *CpCDR1B* u oboch klinických izolátov. Potenciálny synergický účinok katechínu a flukonazolu bol tiež skúmaný na larvách *Galleria mellonella* infikovaných *C. parapsilosis*, pričom najvyššia miera prežitia bola pozorovaná v skupine liečenej kombináciou oboch zlúčenín.

Získané výsledky potvrdili, že kombinácia katechínu a flukonazolu výrazne inhibuje rast klinických izolátov *C. parapsilosis* a vedie k zvýšenej expresii efluxných púmp. Katechín prehĺbil účinok flukonazolu u lariev *G. mellonella* infikovaných *C. parapsilosis*. Získané poznatky možno využiť pri vývoji nových terapeutických stratégií pri liečbe infekcií spôsobených rezistentnými kmeňmi *Candida sp.*

Podakovanie: Práca vznikla za podpory grantov VEGA 1/0388/22 a APVV-19-0094.

Mikrobiálne znečistenie vzduchotechniky obytných domov a jeho vplyv na ľudské zdravie

Soňa Vrbenská¹, Monika Vítězová¹, Tomáš Vítěz¹, Dalimil Petrilák², Luděk Petrilák², Tomáš Juřena³,
Pavel Lošák³, Martin Nad³

¹Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Oddělení mikrobiologie, Ústav experimentální biologie, Kotlářská 267/2, 611 37 Brno

²Alkion service s.r.o., Kruh 83, 514 01 Kruh

³Vysoké učení technické v Brně, Ústav procesního inženýrství, Fakulta strojního inženýrství, Technická 2896/2, 616 69 Brno
vrbenskasonka@gmail.com

Ľudia trávia vo vnútornom prostredí až 90 % svojho času, preto je jeho kvalita zásadným určujúcim faktorom pre ľudské zdravie. Viaceré aspekty ovplyvňujú kvalitu vzduchu v interiéroch, vrátane vzduchotechnických systémov, ktoré zabezpečujú odvod a úpravu vzduchu v obytných budovách. Problémom je, že tieto systémy sú prevádzkované bez údržby v mnohých bytových domoch už desaťročia. V dôsledku optimálnej teploty, vlhkosti a akumulácie organických zvyškov v nich dochádza k vytvoreniu priaznivého prostredia pre rast a množenie mikroorganizmov. Následne, v dôsledku spätného prúdenia vzduchu môže dochádzať k ich šíreniu do bytových jednotiek, čo môže predstavovať potenciálne riziko pre ľudské zdravie, najmä pre osoby s oslabenou imunitou. Napriek týmto rizikám v súčasnosti v Českej republike neexistuje žiadna legislatívna úprava, ktorá by stanovovala povinnosť čistiť alebo inak udržiavať prevádzkované vzduchotechnické systémy. Cieľom nášho projektu bol odber a analýza vzoriek prachu zo vzduchotechniky obytných domov v ôsmich mestách v rámci Českej republiky. Na základe molekulárno-biologických analýz (NGS, sekvenovanie novej generácie) sme popísali mikrobiálne zastúpenie vo vzduchotechnických systémoch vrátane potenciálne patogénnych baktérií a mikroskopických húb. V rámci analýzy znečistenia sme previedli meranie adenosíntrifosfátu (ATP) pre stanovenie úrovne organickej kontaminácie v týchto systémoch. ATP sa ako univerzálny zdroj energie nachádza vo všetkých živých bunkách. V prípade bunkovej smrti sa zvyčajne degraduje. ATP tak možno považovať za spoľahlivý ukazovateľ pre hodnotenie rastu a aktivity baktérií. Tento projekt tak prispieva k lepšiemu pochopeniu rizík spojených s mikrobiálnou kontamináciou vzduchotechnických systémov a podporuje rozvoj efektívnych stratégií na včasnú identifikáciu potenciálne patogénnych mikroorganizmov a prevenciu ich ďalšieho šírenia.

Účasť na konferencii bola podporená z projektu Specifického výzkumu Masarykovy univerzity MUNI/A/1774/2024 a FW10010555 Vývoj univerzálního zařízení pro analýzu a čištění vzduchotechniky obytných domů TAČR v spolupráci s Alkion service s.r.o. a VUT v Brně.

Fotodynamická inaktivácia: Inovatívna stratégia na eradikáciu biofilmov ESKAPE patogénov

Walentín Tomáš, Dekkerová Jaroslava, Bujdáková Helena

Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie,
Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava
walentin1@uniba.sk

Patogény zo skupiny ESKAPE sú častými pôvodcami rôznych komunitných aj nozokomiálnych infekcií. Vďaka ich efektívnym mechanizmom rezistencie sa stávajú takmer neliečiteľnými pre konvenčné antimikrobiálne terapeutiká, zvyšujú mortalitu a nadmerne zaťažujú zdravotníctvo. Významnými mechanizmami rezistencie sú produkcia ESBL β -laktamáz, enzýmov inhibujúcich β -laktámové antibiotiká, či produkcia biofilmu, ktorý poskytuje bunke fyzickú ochranu pred vplyvmi z prostredia. Medzi alternatívne terapie patrí antimikrobiálna fotodynamická inaktivácia (aPDI). Mechanizmus aPDI je založený na troch základných zložkách - fotosenzitívnej látke, kyslíku a zdroji svetla. 0,125 mM metylénová modrá v kombinácii s červeným laserom (660 nm) bola zvolená ako fotosenzibilizér schopný produkovať reaktívne formy kyslíka (ROS). ROS narušajú bakteriálne bunky a rozrušujú biofilmy. Vďaka neselektívnemu účinku aPDI sa nepredpokladá vznik rezistencie voči tejto inovatívnej terapii. Okrem *in vitro* experimentov bola overená účinnosť aPDI aj na *in vivo* modeli *Galleria mellonella*.

Všetky testované referenčné kmene a klinické izoláty *K. pneumoniae*, *A. baumannii* a *P. aeruginosa* boli schopné produkovať biofilm. aPDI s metylénovou modrou preukázala inhibičný účinok už po 1 minúte ožarovania, kedy bola dosiahnutá eradikácia biofilmu všetkých šiestich testovaných kmeňov približne o 2 log¹⁰ stupne. Následne bol pozorovaný vplyv aPDI na expresiu génov virulencie *K. pneumoniae*. *In vivo* experimenty preukázali výrazné zlepšenie prežívania infikovaných lariev po aPDI. Odpoveď imunitného systému lariev na infekciu bola sledovaná aj pomocou qPCR analýzy, kde bola pozorovaná zvýšená expresia vybraných génov imunitnej odpovede *G. mellonella*. aPDI s metylénovou modrou predstavuje sľubnú alternatívu na terapiu ťažko liečiteľných infekcií asociovaných s multirezistentnými ESKAPE patogénmi.

Výskum bol realizovaný s finančnou podporou Slovenskej agentúry pre výskum a vývoj pod projektom č. APVV-21-0302; projekt VEGA 1/0240/23 bol podporený Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu Slovenskej republiky a NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti Slovenska v rámci projektu č. 09I01-03-V04-00022.



SARSTEDT

Váš partner v oblasti medicíny,
vedy a výskumu.

www.sarstedt.com

info.sk@sarstedt.com

Tel: 02/321 84 930

Ponúkame riešenia šité na mieru pre najrozmanitejšie oblasti použitia vrátane molekulárnej biológie, biochémie a bunkovej biológie. Kvalita produktu je prispôbená aplikácii, čo umožňuje čo najvyššiu úroveň reprodukovateľnosti v analytike.

Čisté podmienky v priestoroch a automatizované výrobné procesy sú požiadavky na certifikované štandardy kvality Sarstedt "PCR Performance Tested", "Biosphere® plus", "TC-Test" a "Cryo Performance Tested". Týmto spôsobom môžeme spoľahlivo zabrániť aj najnižším stupňom kontaminácie. S cieľom poskytnúť potrebné záruky sa certifikácie neustále prispôbujú stavu výskumu.

Reagenčné a centrifugačné skúmavky



Mikroskúmavky a reagenčné mikroskúmavky



Mikrobiológia



Kultivácia buniek a tkanív



PCR a molekulárna biológia



Manipulácia s kvapalinami



Forezná medicína



Sarpette® M - Nový rad vysoko kvalitných pipiet





Prehľad dodávaných laboratórnych prístrojov a služieb

www.trigonplus.sk

CENTRIFÚGY

mikrocentrifúgy a malé centrifúgy
multifunkčné centrifúgy
vysokootáčkové centrifúgy
veľkoobjemové centrifúgy
ultracentrifúgy



MIKROPLATNIČKOVÁ INSTRUMENTÁCIA

spektrofotometre, fotometre
fluorometre, luminometre
dávkovalce, premývačky
trepačky, trepačky na mikroplatničky
automatické pipetovacie stanice
magnetické purifikátory KingFisher®



GEL-IMAGING a COLONY COUNTING

gélková dokumentácia a analýza
chemiluminiscencia, fluorescencia
elektroforézy, zdroje pre elfo
počítacie kolónie a analýza inhibičných zón



KONCENTRÁTORY VZORIEK

vákuové centrifugačné koncentrátory
stolné lyofilizátory
veľkoobjemové lyofilizátory
vákuové sušiarne



MYČKY a AUTOKLÁVY

laboratórne myčky
veľkokapacitné myčky
laboratórne autoklávy



PRÍPRAVA ČISTEJ VODY

reverzná osmóza
deionizačné systémy
kompaktné laboratórne systémy
poloautomatické systémy



PIPETY

LABORÁTORNY PLAST
pipety FinnTimer a ClipTip
kompletný sortiment špičiek
dávkovalce a pipetovacie nástavce
spotrebný plast Nalgene, Nunc
a Matrix
plast pre environmentálny výskum



BIOHAZARDY, IZOLÁTORY

LAMINÁRNE BOXY

biohazard boxy tr. II
laminárne boxy
biohazardy tr. III a izolátory
laminárne moduly
monitoring prostredia



BEZODŤAHOVÉ DIGESTORY

digestory a vážiace boxy
filtrčné systémy pre miestnosti
monitoring laboratórneho prostredia



DEKONTAMINAČNÉ SYSTÉMY H₂O₂

VHP generátory na dekontamináciu
aerosólové generátory
dekontaminácia priestorov a zariadení
dekontaminačné komory



INKUBÁTORY, TERMOSTATY CO₂, CO₂/O₂

inkubátory
termostaty do +100 °C, +300 °C
anaeróbne a hypoxické boxy
sušiarne do +500 °C
klimatické a rastové boxy
systémy pre monitoring teploty



MRAZIACE A CHLADIACE BOXY, KRYO BOXY

mraziace boxy do -86 °C až -180 °C
riadené zmrazovanie LN₂ -180 °C
mraziace boxy -5 °C až -65 °C
chladiace boxy 0 °C až +15 °C



CHOV LABORÁTORNYCH ZVIERAT

IVC individuálne ventilované boxy
chovné nádoby, prísľušenstvo
ochranné a prestielacie boxy
mycie a dekontaminačné
technológie
komplexné projekty

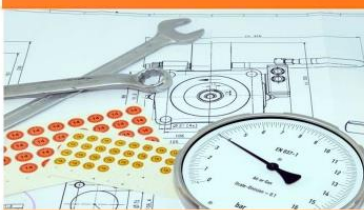


OSTATNÉ LABORÁTORNE VYBAVENIE

trepačky a veľkokapacitné
trepačky
vodné kúpele, suché bloky
homogenizátory a dilútory
peristaltické pumpy a plničky



Dodaním prístroja naša starostlivosť nekončí ...



autorizovaný servis

validácie - IQ/OQ/PQ

akreditované kalibračné laboratórium

TRIGON PLUS kalibrácia

meracích reťazcov a
indikačných teplomerov

poradenstvo / projektové riešenia

metrologické a preventívne služby

akreditované skúšobné laboratórium

TRIGON PLUS

meranie zariadení s riadenou čistotou
vzduchu

ThermoFisher
SCIENTIFIC

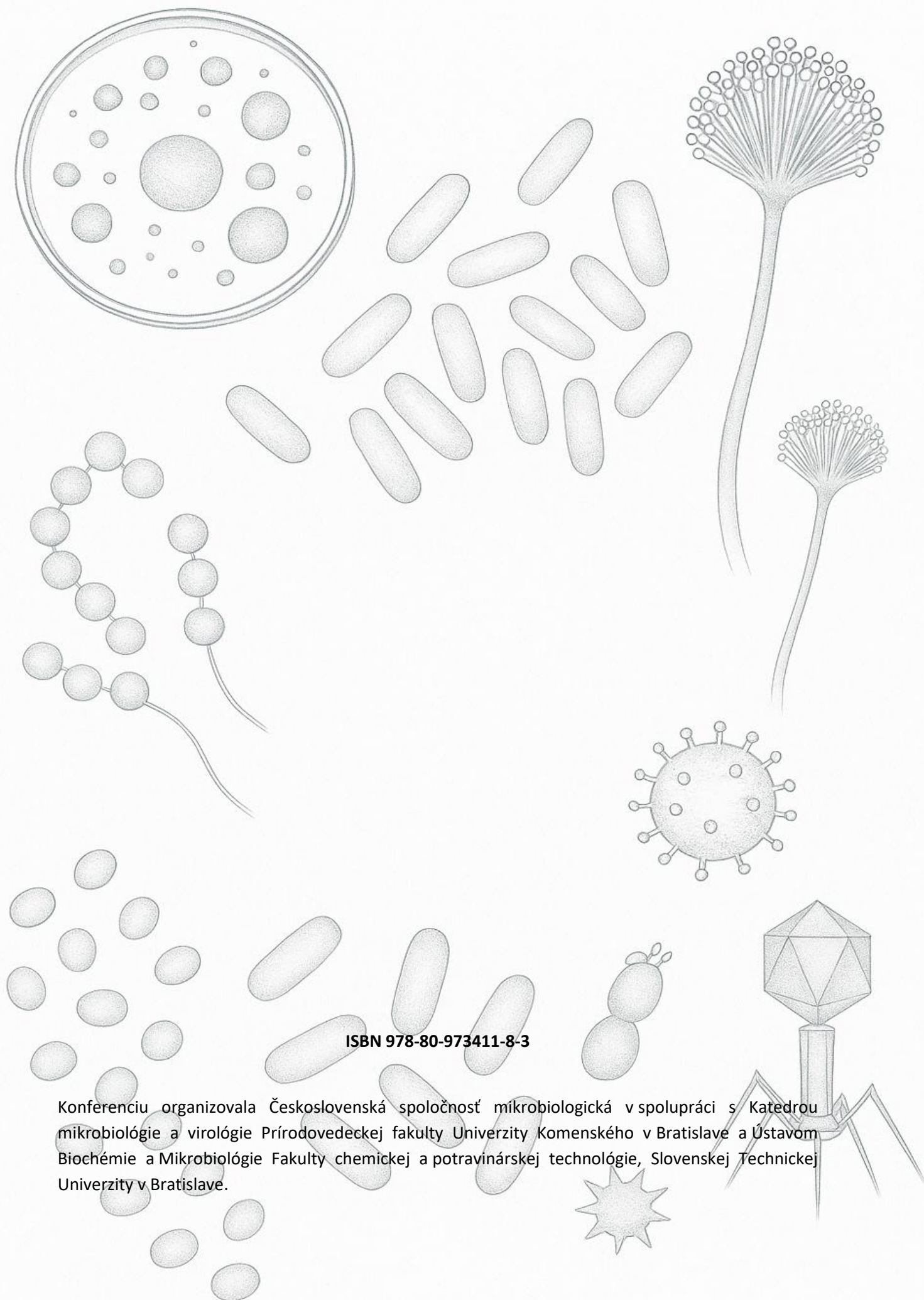
TECNIPLAST

obchodné a servisné zastúpenie firiem
THERMO Scientific, divízia laboratórnej techniky

Artiko . Bioquell . CLST . Devea . Erlab
EuroBioConcept . Evermed . HMC Europe
Geringe Lancer . Baker Ruskin . Synbiosis . Syngene . Tecniplast

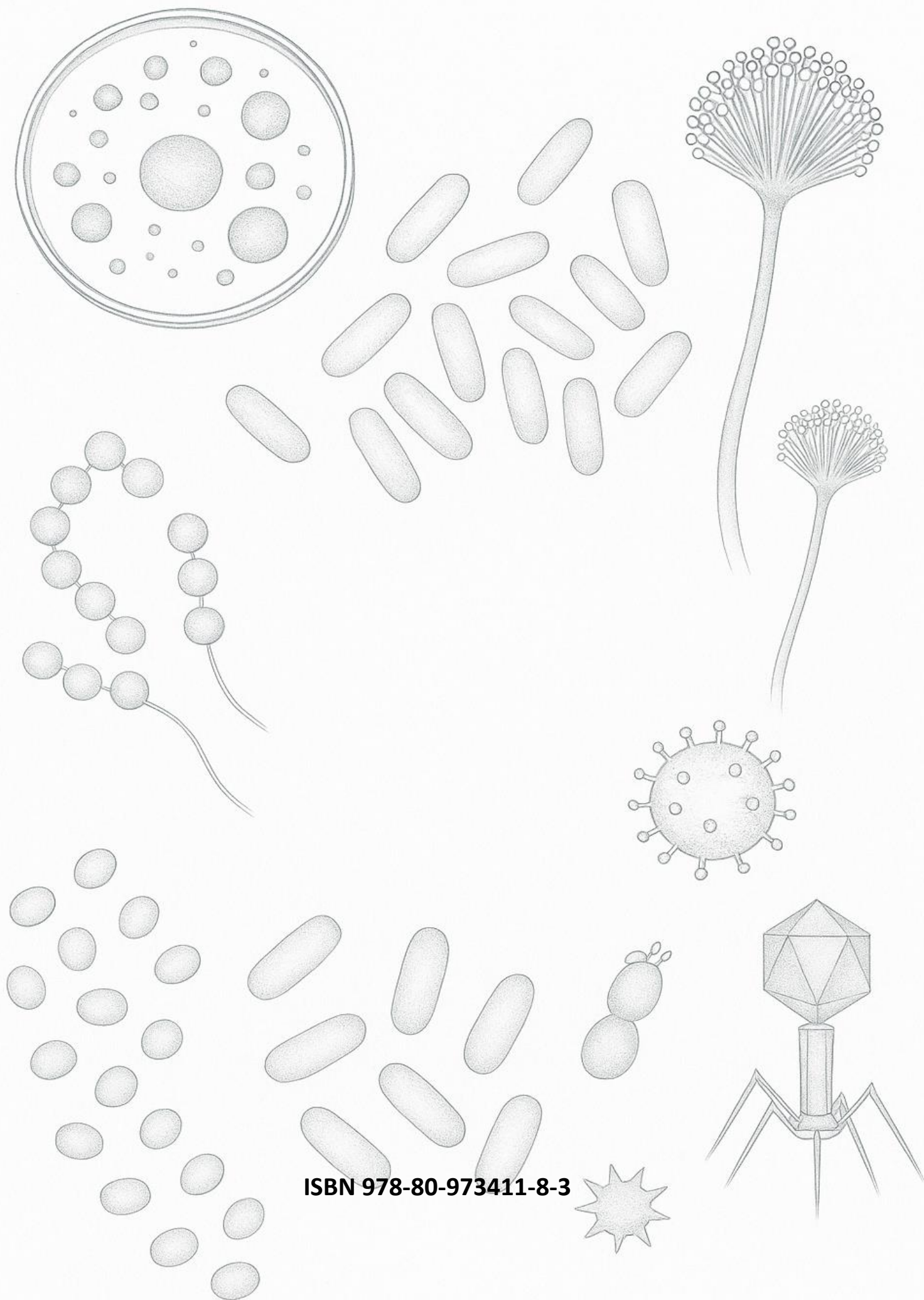
TRIGON PLUS s.r.o.

Goralská 40/2281, 851 01 Bratislava
tel.: 02 635 31 240 mail@trigon-plus.sk
www.trigon-plus.sk



ISBN 978-80-973411-8-3

Konferenciu organizovala Československá spoločnosť mikrobiologická v spolupráci s Katedrou mikrobiológie a virológie Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave a Ústavom Biochémie a Mikrobiológie Fakulty chemickej a potravinárskej technológie, Slovenskej Technickej Univerzity v Bratislave.



ISBN 978-80-973411-8-3