

XXX. KONFERENCE MLADÝCH MIKROBIOLOGŮ

TOMÁŠKOVY DNY 2021



MASARYKOVA UNIVERZITA

XXX. KONFERENCE MLADÝCH MIKROBIOLOGŮ

TOMÁŠKOVY DNY 2021



**MASARYKOVA UNIVERZITA
BRNO 2021**

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

Československá společnost mikrobiologická

Společnost pro mikrobiologii a epidemiologii ČLS JEP

Společnost pro lékařskou mikrobiologii ČLS JEP

In co-operation with American Society for Microbiology.

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

© 2021 Masarykova univerzita

ISBN 978-80-210-9882-4

<https://doi.org/10.5817/CZ.MUNI.P210-9882-2021>





Objevte modularitu nového systému BD Phoenix™ M50

Poznejte, jak může být kombinován systém BD Phoenix M50 s dalšími BD řešeními mikrobiologických modulů za účelem zlepšení:

- přesné detekce přirozené a získané rezistence,
- adaptace na různé organizační systémy a na změny v činnosti laboratoře,
- urychlení reportovaných výsledků identifikace / ATB citlivosti,
- zvýšení efektivity laboratoře.



Při zvýšení počtu vyšetřovaných vzorků může být testovací kapacita snadno rozšířena z 50 na 100 panelů.

Systém BD Phoenix M50 v kombinaci s hemokultivačním systémem BD BACTEC FX™ představuje účinné a dostupné řešení pro hemokultury a testování

identifikace / ATB citlivosti pro mikrobiologické laboratoře.

Integrace systému BD Bruker™ MALDI Biotyper™ s přístrojem BD Phoenix M50 pomocí rozhraní BD EpiCenter™ pro rychlou a přesnou identifikaci a detekci rezistence.

Becton Dickinson Czechia, s.r.o.
Křenova 438/1, 162 00 Praha 6, Česká republika

bd.com

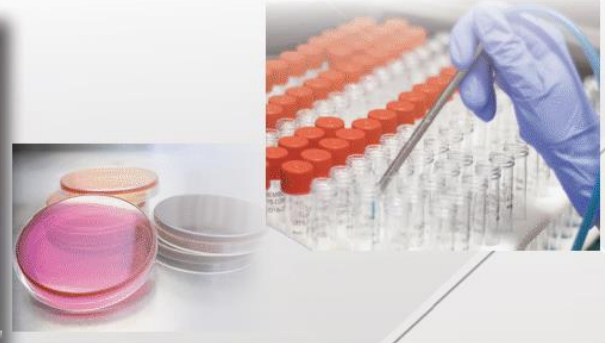
© 2019 BD. BD and the BD Logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company.



Řešení pro Vaši mikrobiologickou laboratoř

Analytický systém (MALDI-TOF) SMART MS 5020

Inteligentní systém řízení vakua
Možnost vytvoření vlastní mikrobiální
databáze
V základní sestavě obsáhá knihovna,
která podporuje cloudovou databázi



Modulární hemokultivační systém

Moderní a kompaktní design, možnost
individuální sestavy modulů, dle
požadované kapacity (24, 48, 60, 120,
80, 240, ...)

Frekvence detekce: 10 minut, nezávislým
detektorem pro každou kulturační pozici



Microbiální ID/AST systém

Identifikuje více než 500 druhů
mikroorganismů a 200 druhů antibiotik
v souladu s CLSI / EUCAST.

Kombinovaná testovací karta:
identifikace a testování citlivosti
společně



Tomáškovy dny 2021 – ústní sdělení

01. *Pseudomonas sp.* as a producer of maltohexaose producing amylases

M. Bláhová, H. Hronská, M. Rosenberg

02. Jak uchovat audiovizuální materiály pro další generace?

T. Branyšová, M. Kračmarová, M. Ďurovič, K. Demnerová, H. Stiborová

03. Charakterizácia bakteriálnych izolátov rezistentných voči antibiotikám zo stolice domácich zvierat a ich majiteľov

K. Cverenkárová, M. Krahulcová, A. Dobiašová, L. Bírošová

04. Study of the influence of native acyltransferases of *Yarrowia lipolytica* on its ability to accumulate 3-acetyl-1,2-diacylglycerols

J. Hambalko, K. Kováčsová, M. Čarnecký, P. Gajdoš, M. Čertík

05. *Yarrowia lipolytica*: a miraculous oil-degrading yeast

N. Hanišáková, M. Vítězová

06. Construction of a simple synthetic bacterial consortium with division of labour

S. Juračka, P. Dvořák

07. Polyklonová protilátka anti-CR3-RP znižuje hydrofobicitu bunkového povrchu patogénnej kvasinky *Candida albicans* a inhibuje tvorbu biofilmu

S. Kendra, J. Dekkerová, H. Bujdáková

08. *Methanothermobacter* – prastarý mikroorganizmus v moderní biotechnologii

A. Kohoutová, N. Hanišáková, M. Vítězová

09. Posouzení účinků antimikrobiálních enzymů na biofilm klinicky významných druhů mikroorganismů

M. Kouřilová, L. Vacek, L. Janda

10. Výskyt a identifikácia baktérií rezistentných voči antibiotikám v črevnej mikrobiote domácich zvierat a ich majiteľov

M. Krahulcová, K. Cverenkárová, A. Dobiašová, L. Bírošová

11. Antimicrobial activity of nanofibers enriched by essential oils against *Cutibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*

D. Langová, R. Pavelková, I. Márová

12. Mikrobiologické benefity polyamidových nanovláknenných materiálů v medicínských aplikacích

S. Lencová, K. Zdeňková, H. Stiborová, K. Demnerová

13. Využití Ramanovy spektroskopie pro identifikaci mikroorganismů způsobujících infekce krevního řečiště

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

14. Modeling sorption isotherm of a dry yogurt dairy product, qurut

K. Nayab, L. Valík

15. Screening of potential hexosaminidases producers

E. Ondřejková, H. Hronská, M. Bláhová, M. Rosenberg

16. Původci zoonotických onemocnění v ZOO Brno

P. Pittermannová, L. Černíková, A. Žákovská, P. Váňa, E. Bártová

17. Fágová rezistencia druhu *Staphylococcus aureus*

A. Siváková, F. Růžička, R. Pantůček, K. Oremová, M. Dvořáčková

18. Degradation pathways of D-limonene in bacteria *Rhodococcus sp.*

D. Šilhárová, H. Hronská, K. Kaniaková, M. Rosenberg

19. Modulácia efluxných transportérov *Candida albicans* a *Candida auris* po použití fotodynamickéj inaktívácie

M. Štefánek, L. Černáková, J. Dekkerová, H. Bujdáková

20. Infekcia spôsobená *Clostridioides difficile* v čase pandémie COVID-19

A. Toporová, K. Čurová, M. Krůtová, L. Ambro, A. Kamárová, M. Novotný, L. Siegfried

21. Metabolic redesign of the yeast *Yarrowia lipolytica* for effective production of erucic acid

V. Urbaníková, M. Vicenová, P. Gajdoš, M. Čertík

22. Dlouhodobé antimikrobiální působení enzybiotika LYSSTAPH-S na methicilin rezistentní kmeny *Staphylococcus aureus* způsobujících chronické ranné infekce

L. Vacek, Š. Kobzová, R. Čmelík, R. Pantůček, L. Janda

23. Potential use of non-*Saccharomyces* yeasts for production of beers with reduced ethanol content

P. Vašítek, I. Kadlečík, V. Kafková, P. Sulo, K. Furdíková, I. Špánik, D. Šmogrovičová

24. *Neurospora crassa* – the relationship between plasma membrane composition and the ability to tolerate stress conditions

J. Víglaš, P. Olejníková

Tomáškovy dny 2021 – postery

P 01. Cryptic plasmids of the *Lactiplantibacillus plantarum* LS/07 probiotic co-determine its membrane-associated proteome and secreted proteome

Ľ. Ambro, V. Lukáčová, D. Hadžega, R. Link, Ľ. Kľučár, M. Danchenko, P. Baráth

P 02. Production of polyhydroxyalkanoates and alginate by plant growth promoting rhizobacteria *Azotobacter vinelandii*

D. Černayová, E. Slaninová, P. Sedláček, S. Obruča

P 03. Produkcia mutovanej rekombinantnej Taq DNA polymerázy

J. Dlapová, E. Struhárňanská, K. Hriňová, Z. Levarski, S. Stuchlík, J. Turňa

P 04. První případ infekce popálené plochy patogenem *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*

M. Hladík, B. Lipový, Y. Kaloudová, M. Hanslianová, I. Vítková, T. Deissová, T. Svoboda, Z. Kala, P. Brychta, P. Bořilová Linhartová

P 05. Testovanie účinku bioaktívnych látok asociovaných s myším gamaherpesvírusom na proliferáciu vybraných bunkových línii v podmienkach statickej a dynamickej kultivácie.

R. Hodoši, I. Romerová Ortizová, E. Nováková, M. Šupolíková

P 06. Porphyrins and metalloporphyrins as potent inhibitors of the entry process of tick-borne encephalitis virus

J. Holoubek, L. Eyer, I. Huvarová, D. Růžek

P 07. Konštrukcia vektorov na heterologickú expresiu mutovanej M-MuLV v expresnom systéme *E. coli*

K. Hriňová, J. Dlapová, E. Struhárňanská, Z. Levarski, S. Stuchlík, J. Turňa

P 08. Využití lignocelulózových materiálů k produkci polyhydroxyalkanoátů

V. Chatrná, X. Kouřilová, I. Pernicová, I. Nováčková, J. Pořízka, S. Obruča

P 09. Systém indukcie kryptických génových klastrov v chromozóme *Streptomyces* kódujúcich sekundárne metabolity

R. Javorová, R. Nováková, J. Kormanec

P 10. Analýza bakteriálneho zloženia orálneho mikrobiómu psov s periodontálnym ochorením metódou sekvenovania amplikónov

J. Kačírová, M. Sondorová, A. Mađari, L. K. Fecskeová, I. Mujakic, R. Nemcová, M. Mađar

P 11. Asymmetric cell division during *Bacillus subtilis* sporulation

E. Kalocsaiová, K. Muchová, I. Barák

P 12. Changes in ulcerative colitis microbiota following fecal microbiota transplantation – *in vitro* study

A. Kamlárová, R. Link, V. Benetinová, Ľ. Ambro

P 13. Antibiofilm activity of poly(ϵ -caprolactone) nanocapsules loaded with essential oils

M. Kapustová, A. Puškárová, Mária Bučková, G. Granata, E. Napoli, D. Pangallo, C. Geraci

P 14. Ticks from wildlife animals in South Africa: molecular detection of *Rickettsia* sp.

N. Kašpárková, E. Bártová, A. Halajian, A. Žáková

P 15. Charakterizácia rastu *Geotrichum candidum* s aplikačným potenciálom pre výrobu mliečnych produktov

M. Koňuchová, V. Čipkar, Ľ. Valík

P 16. New insight to immunomodulatory potential of viral glycoprotein UL144 (encoded by Human and Rhesus CMV) and its binding to human cell receptor CD160

S. Lenhartová, M. Nemčovič, I. Nemčovičová, M. Benko

P 17. Infekcie spôsobené meticilín rezistentnými kmeňmi *Staphylococcus aureus* vo vybraných centrách starostlivosti o seniorov

K. Melnikov, A. Hojová, A. Kaiglová

P 18. Rekombinantný endolyzín EN534-C ako potenciálny bioagens s exolytickou aktivitou voči vaginálnym streptokokom

K. Pápayová, L. Bocánová, M. Pšenko, G. Bukovská

P 19. Antimicrobial effect of isothiocyanates formed by enzymatic hydrolysis of glucosinolates as their precursors

Z. Polozsányi, H. Galádová, M. Kaliňák, M. Šimkovič

P 20. Infekce dermální náhrady způsobená *Trichoderma longibrachiatum* a *Aspergillus fischeri* u pacienta s rozsáhlým termickým traumatem

F. Raška, B. Lipový, M. Hladík, J. Holoubek, I. Kocmanová, M. Hanslianová, M. Bezdíček, C. Macháček

P 21. Detection of pathogens in human body fluids by Raman spectroscopy

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

P 22. Střevní nosičství enterobakterií nesoucích gen *mcr-9* s inducibilní kolistinovou rezistencí

E. Směliková, M. Brajerová, P. Dřevínek, O. Nyč, M. Krůtová, J. Tkadlec

P 23. Pyocin production by urinary catheter-related *Pseudomonas aeruginosa*

K. Snopková, K. Dufková, P. Klimešová, V. Holá

P 24. Molekulárna detekcia periodontopatických baktérií *Treponema denticola* a *Porphyromonas gulae* v dentálnom biofilme psov

M. Sondorová, J. Kačírová, M. Josaiová, A. Mađari, M. Mađar

P 25. Detekcia *Tannerella forsythia* vo vzorkách dentálnych biofilmov ľudí a psov pomocou PCR

M. Sondorová, M. Mađar, J. Kačírová, Z. Nagyová, J. Kučera

P 26. Možnosti zvýšení produkce PHA u cyanobakterií

Z. Šedrlová, E. Slaninová, I. Fritz, C. Daffert, S. Obruča

P 27. Nové možnosti ochrany proti klíšťatům

S. Ševelová, H. Nejezchlebová, D. Novák, A. Žákovská

P 28. Látky inhibující virus SARS-CoV-2

M. Štefanik, P. Strakova, J. Haviernik, D. Ruzek, L. Eyer

P 29. Rozdiel účinku rifampicínu na staticky a dynamicky kultivovaný biofilm

M. Valtrová, D. Kleknerová, Z. Kelar Tučeková, F. Růžička

01. *Pseudomonas* sp. as a producer of maltohexaose producing amylases

M. Bláhová (1), H. Hronská (1), M. Rosenberg (1)

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

Maltohexaose producing amylases (G6 – amylases) are responsible for cleaving starch and other related α -1,4 glucans into maltohexaose. Maltohexaose is a maltooligosaccharide and together with other types of maltooligosaccharides are considered as functional oligosaccharides consisting of 3 to 10 α -D-glucose monomers linked by α -1,4-glycosidic linkages. In recent years they have attracted a lot of attention thanks to their unique properties and wide range of applications e.g., in food industry, pharmaceutical or cosmetic. To reduce the cost and increase the availability of maltooligosaccharides, it is effective to perform enzymatic synthesis instead of the classical chemical approach, involving maltooligosaccharide producing amylases MPAses. For this purpose, it is necessary to know the detailed properties of these enzymes. Although genetic engineering is nowadays the main approach to obtain industrially suitable enzymes, searching for novel wild-type producers and their natural genes is still an indispensable strategy to obtain new MPAses with powerful properties.

The aim of this study was the screening of novel potential producers of MPAses within the genus *Pseudomonas* sp. with consecutive optimization of the cultivation conditions of the selected strain on the production of MPAses. The optimization was performed under the different submerged cultivation conditions. The selection was performed by the evaluation of the content of maltooligosaccharides in the reaction mixture of the enzyme reaction, which was triggered by a crude enzyme preparation of MPAses obtained from the culture medium. The content of maltooligosaccharides in the reaction mixture was determined by HPLC. As a result of this work, one tested strain of the genus *Pseudomonas* sp. showed higher G6-amylase activity, giving 27% of maltohexaose after 48 hours of maltodextrine hydrolysis under our experimental conditions with no significant production of other maltooligosaccharides. Further experiments are still needed for more detailed characterization.

Acknowledgement: This study was supported by grant APVV-16-0314.

02. Jak uchovat audiovizuální materiály pro další generace?

T. Branyšová (1), M. Kračmarová (1), M. Ďurovič (2), K. Demnerová (1), H. Stiborová (1)

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

(2) Ústav chemické technologie restaurování památek, Fakulta chemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha, CZ

Kulturní památky včetně audiovizuálních materiálů běžně podléhají biodeterioraci, a to především působením mikromycet. Jedním z faktorů, který významně ovlivňuje biodeterioraci materiálů, je výskyt mikroorganismů v ovzduší. V naší studii jsme proto identifikovali mikroskopické houby přítomné jak na audiovizuálních materiálech, tak i v ovzduší. Pro naše účely bylo provedeno vzorkování ve čtyřech depozitářích České republiky. Z materiálů byly odebrány stěry polyuretanovými stěrovými houbičkami a vzduch byl odebrán aeroskopem. Z odebraných vzorků byla izolována metagenomická DNA a pomocí specifických primerů pro ITS gen a dvou krokové PCR byly připraveny amplikony pro sekvenování metodou Illumina MiSeq. Sekvenování bylo provedeno na Univerzitě Fairbanks, Aljaška. Obdržené sekvence byly následně zpracovány pomocí balíčku DADA2 v programovacím jazyce R. Nejprve byly odstraněny primery a poté bylo přiřazeno taxonomické zařazení. Následné statistické analýzy byly také provedeny v R. Byl zjištěn signifikantní vliv lokalit a typu archiválie, tedy zda se jedná o filmovou pásku, fotografický pozitiv či negativ, na složení mikrobiálních populací. Dále bylo zjištěno, že téměř polovina druhů identifikovaných v ovzduší se nachází také na materiálech. Ve všech lokalitách převládal kmen Ascomycota a jeho třídy Eurotiomycetes a Dothideomycetes, a to jak v ovzduší, tak i na materiálech. Dalším krokem bude vzorkování v dalších archivech České republiky a zároveň rozsáhlejší analýza vzduchu, která bude zahrnovat nejen vyhodnocení kontaminace z metagenomické DNA, ale také z RNA, aby byla zjištěna přítomnost metabolicky aktivních mikroorganismů. Navíc budeme porovnávat tyto dvě molekulárně-biologické metody s tradičními kultivačními metodami, kde se budeme snažit zachytit co nejširší spektrum mikroorganismů s využitím několika různých médií. Tato analýza by měla pomoci k vývoji vhodné dezinfekční metody, která tak bude specificky cílená.

Tato práce vznikla za finanční podpory Ministerstva kultury České republiky grant č. DG18P02OVV062.

03. Charakterizácia bakteriálnych izolátov rezistentných voči antibiotikám zo stolice domácich zvierat a ich majiteľov

K. Cverenkárová (1), M. Krahulcová (1), A. Dobiašová (1), L. Bírošová (1)

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

Úvod: Črevná mikrobiota je dôležitou súčasťou ľudského aj živočíšneho črevného traktu. Okrem prospešných mikroorganizmov sa v nej môžu vyskytovať mikroorganizmy odolné voči antibiotikám. Cieľom príspevku bolo charakterizovať 141 izolátov koliformných baktérií rezistentných voči antibiotikám zo stolice psov, mačiek a majiteľov z hľadiska citlivosti na vybrané antibiotiká, tvorby biofilmu a produkcie efluxných púmp. Ďalej bola analyzovaná prítomnosť génov rezistencie *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}* a *bla_{OXA}*.

Metodika: Citlivosť izolátov koliformných baktérií na vybrané antibiotiká sme stanovili makrodilučnou metódou. Tvorbu biofilmu sme sledovali pomocou kolorimetrickej metódy s kryštálovou violeťou. Nadmerná expresia efluxných púmp bola detegovaná cartwheelovou metódou s etídiom bromidom. Gény rezistencie boli amplifikované PCR a detegované gélovou elektroforézou.

Výsledky: Všetky izoláty koliformných baktérií boli rezistentné voči ampicilínu, pričom u 130 izolátov *Escherichia coli* sa jedná o získaný typ rezistencie. Druhý najvyšší počet rezistentných izolátov bol voči tetracyklínu (32,6 %), izoláty patrili hlavne k druhu *E. coli* a *Klebsiella pneumoniae*. Všetky izoláty boli citlivé na meropenem. Nadmerná expresia efluxných púmp môže byť príčinou multirezistencie baktérií voči viacerým antibiotikám. Prítomnosť tohto mechanizmu rezistencie sa nepotvrdila u žiadneho izolátu. Tvorba biofilmu poskytuje baktériám ochranu pred nežiadúcimi vplyvmi z prostredia. Najviac izolátov patrilo k stredným (55,3 %) a silným producentom biofilmu (41,1 %). Z vybraných génov rezistencie sa prítomnosť génu *bla_{TEM}* potvrdila u 2 izolátov *K. pneumoniae*. Gén *bla_{SHV}* sa vyskytoval u 4 izolátov *K. pneumoniae*. Izoláty s génmi rezistencie pochádzali zo vzorky stolice 52 ročnej ženy diagnostikovanej s diabetom 2. typu, u ktorej sa preukázala prítomnosť koliformov rezistentných voči viacerým antibiotikám.

Záver: Miera rezistencie skúmaných izolátov voči antibiotikám sa pohybovala od 100 % u ampicilínu po 2,1 % u ciprofloxacínu. Multirezistencia voči min. 3 antibiotikám z rôznych tried sa vyskytovala u 19,2 % izolátov, ktoré pochádzali od 2 osôb. Vzhľadom na pôvod izolátov z črevnej mikrobioty sa u nich potvrdila silná schopnosť tvoriť biofilm. Prítomnosť génov kódujúcich betalaktamázy bola zriedkavá, u 2,91 % testovaných izolátov.

04. Study of the influence of native acyltransferases of *Yarrowia lipolytica* on its ability to accumulate 3-acetyl-1,2-diacylglycerols

J. Hambalko (1), K. Kováčsová (1), M. Čarnecký (1), P. Gajdoš (1), M. Čertík (1)

(1) Institute of Biotechnology, Faculty of Chemical and Food Technology STU, Bratislava, Slovakia

3-acetyl-1,2-diacylglycerols (AcDAG) are unique group of storage lipids which contain acetate on the *sn*-3 position of glycerol instead of long-chain fatty acyl. These molecules were found in several plant and animal species. They are formed from diacylglycerols by the action of diacylglycerol acetyltransferase (DAcT). Since AcDAG have special physical and biological properties compared to common triacylglycerols (TAG), their potential applications are very wide. They could be used as emulsifiers, lubricants and plasticizers as well as food supplements. The most appealing use of AcDAG is for direct application as biofuel without prior derivatization.

Yarrowia lipolytica is an oleaginous yeast of great interest due to availability of genetic engineering tools which permits production of “tailor-made” lipids by engineered yeast cells. In this work 3 new recombinant strains of *Y. lipolytica* with different native acyltransferases (LRO1, DGA1 and DGA2) were constructed. Strains JMY1882 (*Q4 pTEF-LRO1-URA3ex*), JMY1884 (*Q4 pTEF-DGA2-URA3ex*) and JMY1892 (*Q4 pTEF-DGA1-URA3ex*) were used as the hosts. All host strains were transformed with *8UAS-pTEF-EeDAcT-LEU2ex* expression cassette (*EeDAcT* gene coding DAcT in *Euonymus europeaus*) to study influence of each individual TAG producing acyltransferase on AcDAG accumulation. Recombinant strains of *Y. lipolytica* were grown on media with two different carbon sources. Intracellular lipids were extracted, purified and analyzed using GC-/FID/MS and TLC methods.

Comparisons of the effect of individual acyltransferases synthesizing TAG on AcDAG production showed a competitive relationship between acyltransferases and acetyltransferase *EeDAcT* with respect to enzyme localization and substrate availability. Regardless of the growth conditions, YL55 (*JMY1882 pTEF-EeDAcT-LEU2ex*) accumulated maximal levels of AcDAG in intracellular lipids (14,3% on glucose medium and 19,3% on waste oil medium). LRO1 has lower activity towards TAG formation compared to DGA1 and DGA2. Moreover, LRO1 is not strictly localized on the endoplasmic reticulum while *EeDAcT* is. Thus, LRO1 is the most promising acyltransferase for redirection of metabolism to AcDAG production instead of TAG in *Y. lipolytica*.

The work was supported by grants APVV-17-0262 and VEGA 1-0323-19.

05. *Yarrowia lipolytica*: a miraculous oil-degrading yeast

N. Hanišáková (1), M. Vítězová (1)

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

The overproduction of food in these days is connected with one major problem we have to face. And that is food waste. According to statistic, it is produced over 88 million of tons of kitchen and restaurant waste in EU. It is about 173 kg per person. The most food waste is produced in households, about 53 % of produced food waste, another 19 % origins in food processing. The remaining part is composed of food waste from restaurants facilities, primary food production and retail shops and markets. One of the options of food waste processing is to use it in biogas reactors. But the food waste is always combined with different input substrates, as it contains high lipid content and low pH, which can inhibit the microorganisms responsible for the fermentation processes, so it is demanded to look for alternative solutions.

The yeast *Yarrowia lipolytica* is eukaryotic microorganism, which is recognised for its lipid-degrading abilities. Its potential application for fat-waste wastewater from olive mill was already explored. However, for the purpose of investigation degradation of fats present in the cooking food-waste, better understanding of degradation of individual fats is required to determine the versatility of this yeast.

Using OxiTop Control device to measure biological oxygen demand, respiration of the yeast during degradation was measured with different types of substrate. In the experiments were applied not only different oils, but also oils with different level of heat processing.

The *Yarrowia lipolytica* was capable of degradation of all used oils, without noticeable influence of degradation level. With higher fat concentration, the inhibition did not occur until 21 % v/v (rapeseed and sunflower oil) and it only led to prolongation of lag phase. *Yarrowia lipolytica* proved as potential microorganism usable in the waste management as lipid degrader.

06. Construction of a simple synthetic bacterial consortium with division of labour

S. Juračka (1), P. Dvořák (1)

(1) Laboratoř bioinženýrství mikroorganismů, Ústav experimentální biologie (Oddělení mikrobiologie), Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno, CZ

A microbial consortium is a coexistence of two and more microorganisms, which are somehow interacting together. This life strategy is common in nature. Living in the community, organisms can leave an energetically demanding life of generalist and specialize. This is marked as a division of labour. In recent years, there is a rapidly growing interest in microbial consortia in biotechnology and synthetic biology, because the division of labour often provides higher yields of target bioproducts and cells are more stress-resistant compared to single cell approach.

The aim of this study is to create a simple microbial consortium consisting of two recombinant strains of the biotechnologically attractive bacterium *Pseudomonas putida*. Through the division of labour, the consortium will be able to use polymeric carboxymethyl cellulose (CMC), which simulates waste plant cellulose, as a carbon source to generate a target product. The first strain will produce cellulolytic enzymes that will be released into its environment through induced programmed cell lysis. The second strain will grow on monomeric and oligomeric sugars released from the hydrolysed CMC and form a desired product.

To prevent basal expression of the lytic protein gene, the activity of its promoter will be controlled by an innovative digitization module. This module will ensure the expression of the gene for a toxic lytic protein only in the presence of a specific inducer.

The assembly of recombinant strains is mainly achieved by a conjugation-based method called triparental mating and by heterologous expression of genes from standardized SEVA plasmids. The genome editing of the *P. putida* chassis strains is performed by the Tn7 transposon system. Cell cultures are analysed by using a plate reader and flow cytometry.

After the consortium construction, we plan to compare the efficiency of the synthetic community in formation of a bioproduct from CMC with a genetically engineered generalist strain that will combine all the necessary functions. Such a comparison will prove or disprove the benefit of the division of labour in our model system.

Project is sponsored by Grant Agency of Masaryk University (MUNI/C/1811/2020)

07. Polyklonová protilátka anti-CR3-RP znižuje hydrofobicitu bunkového povrchu patogénnej kvasinky *Candida albicans* a inhibuje tvorbu biofilmu

S. Kendra (1), J. Dekkerová (1), H. Bujdáková (1)

(1) Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra mikrobiológie a virológie, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 84215 Bratislava, SK

Z dôvodu zvyšujúcej sa antifungálnej rezistencie v klinickej praxi sa pozornosť vedcov v súčasnosti upiera na hľadanie alternatívnych spôsobov liečby kvasinkových infekcií. Polyklonová protilátka (Ab) anti-CR3-RP sa viaže na povrchový kvasinkový antigén CR3-RP, čím bráni adherencii kvasinkových buniek s hostiteľskými bunkami a zamedzuje tvorbe biofilmu. Predložený výskum bol zameraný na schopnosť Ab ovplyvňovať hydrofóbne vlastnosti buniek a inhibovať tvorbu biofilmu kvasinky *Candida albicans* rezistentnej voči konvenčným antifungálnym látkam (ATF).

Schopnosť kvasiniek tvoriť biofilm v prítomnosti vybraných ATF a anti-CR3-RP Ab (pridanej počas adherentnej fázy) bola stanovená pomocou XTT redukčnej metódy. Štruktúra kvasinkového biofilmu s/bez Ab bola pozorovaná technikami svetelnej a fluorescenčnej mikroskopie. Celková hydrofobicita bunkového povrchu (CSH) bola meraná pre planktonické bunky pomocou dvojfázovej separačnej metódy (n-oktánový test) a prepočítaná na percentuálny podiel hydrofóbných buniek v planktonickej kultúre po ošetrovaní/bez ošetrenia Ab. Zmeny v expresii génov asociovaných s CSH (*CSH1*) a tvorbou biofilmu (*ALS1*, *ALS3*, *ALS9*, *BCR1*) v 48 hodinovom biofilme vytvorenom s/bez prítomnosti Ab boli determinované metódou kvantitatívnej Real-Time PCR.

Protilátka anti-CR3-RP inhibovala tvorbu biofilmu štandardného kmeňa *C. albicans* SC5314 o 45 % a klinického izolátu *C. albicans* CCY29-3-164 rezistentného na flukonazol a kaspofungín o 34 % oproti kontrole. Znížená schopnosť kvasinky tvoriť biofilm po inkubácii s Ab bola následne potvrdená aj snímkami svetelnej a fluorescenčnej mikroskopie. N-oktánovým testom bol preukázaný aj vplyv Ab na CSH (pokles hydrofóbných buniek v planktonickej populácii *C. albicans* SC5314 o 45 % a *C. albicans* CCY29-3-164 o 39 %). Napokon, pomocou metódy Real-Time PCR bolo potvrdené zníženie relatívnej expresie všetkých piatich sledovaných génov v biofilme po ošetrovaní Ab v porovnaní s kontrolou bez Ab, kým účinok Ab na gén *CSH1* sa preukázal ako najvýraznejší (100násobné zníženie expresie).

Schopnosť anti-CR3-RP Ab ovplyvňovať hydrofóbne vlastnosti buniek, a tým prispievať k inhibícii tvorby biofilmu sa javí ako veľmi sľubná. Pre detailnejšie pochopenie mechanizmu pôsobenia Ab je však nevyhnutný ďalší výskum.

Táto práca bola podporená projektom VEGA 1/0537/19 a Slovenskou agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-15-0347.

08. *Methanothermobacter* – prastarý mikroorganismus v moderní biotechnologii

A. Kohoutová (1), N. Hanišáková (1), M. Vítězová (1)

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

V současnosti naše společnost čelí mnoha ekologickým i socioekonomickým problémům. U řady z nich se jedná o důsledky každodenní antropogenní aktivity. Zvyšování podílu skleníkových plynů v atmosféře nebo snižující se zásoby fosilních paliv mezi ně bezpochyby patří. Tato tíživá situace si žádá vývoj nových a k životnímu prostředí šetrných způsobů získávání energie.

Technologie Power-to-Methane je navržena k transformaci přebytků elektřiny z obnovitelných zdrojů elektrolýzou vody za vzniku vodíku. Ten je spolu s oxidem uhličitým z antropogenních zdrojů využit k produkci metanu. Kritickým bodem technologie je proces metanizace zprostředkovaný metanogenními mikroorganismy. Ty jsou nezbytné pro správný chod celé technologie a zároveň silně náchylné ke změnám vnějšího prostředí. Cílem práce je proto detailní popis člena této skupiny mikroorganismů, zástupce domény *Archaea*, *Methanothermobacter* sp.

Již na začátku výzkumu jsme provedli sekvenaci DNA izolátu z podzemního zásobníku plynu následně identifikovaného jako *Methanothermobacter thermoautotrophicus*. Fyziologickou charakterizaci izolátu provádíme za pomoci řady nekonvenčních metod. Z těchto dat získáváme základní mikrobiologické konstanty, jako je specifická rychlost růstu (μ) nebo konstanty vázané k produkci metanu (MER, methane evolution rate) a vody (WER, water evolution rate). Krom fyziologické charakteristiky bude mikroorganismus posuzován i z pohledu biotechnologického využití. Práce zahrnuje také morfoloickou charakterizaci.

Na základě dosavadních experimentů se podařilo zjistit, že specifická růstová rychlost tohoto mikroorganismu dosahuje nejvyšších hodnot při kultivační teplotě 65 °C, avšak z hlediska produkce metanu a hodnot MER je pro něj výhodnější růst při teplotách nižších, kolem 50 °C.

Tato prezentace má za úkol uvést posluchače do problematiky propojení metanogenů a moderní biotechnologie, nastínit koncept a cíle výzkumu, představit novou nekonvenční techniku pro nepřímé stanovení metabolické aktivity metanogenů a interpretovat dosavadní výsledky.

09. Posouzení účinků antimikrobiálních enzymů na biofilm klinicky významných druhů mikroorganismů

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

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

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

Se stále narůstající mírou antimikrobiální rezistence patogenních mikroorganismů se zvyšuje potřeba rozšířit spektrum látek s antimikrobiálním účinkem využitelných v terapii závažných infekcí. Jedním z možných přístupů, je využití antimikrobiálních enzymů (enzybiotik). Výhodou těchto proteinů s antibakteriálním účinkem je jejich vysoká specifita a aktivita i proti rezistentním druhům patogenů. Patogeny se často, zvláště v případě chronických infekcí, nachází ve formě biofilmu, což je společenství mikroorganismů chráněných před vnějšími vlivy vrstvou extracelulární hmoty. Tato forma existence patogenů představuje závažnou komplikaci při léčbě. Cílem této práce je příprava a testování vybraných antimikrobiálních enzymů (endolysin a ESP proteáza).

Z dosavadních výsledků je zřejmé, že zavedení mutací má stabilizující efekt na strukturu endolysinu, která byla potvrzena kontinuálním měřením růstových parametrů bakteriální kultury na kmenech *Staphylococcus aureus*. Zavedení již jedné mutace prodloužilo dobu účinku rekombinantního endolysinu přibližně třikrát, a to ze čtyř hodin na dvanáct. Tato data tedy naznačují, že by se takovýto enzym mohl uplatnit v léčbě infekcí *S. aureus*, který je jedním z nejčastějších humánních patogenů.

Tato práce byla podpořena grantem Ministerstva zdravotnictví ČR (NV19-05-00214).

10. Výskyt a identifikácia baktérií rezistentných voči antibiotikám v črevnej mikrobiote domácich zvierat a ich majiteľov

M. Krahulcová (1), K. Cverenkárová (1), A. Dobiašová (1), L. Bírošová (1)

(1) Ústav potravinárstva a výživy, Slovenská Technická Univerzita v Bratislave, SK

Úvod: Rozširujúca sa rezistencia voči antibiotikám sa považuje za jednu z najväčších hrozieb súčasnosti. Antibiotiká, ktoré sú využívané v humánnej medicíne, sú blízke triedam antibiotík aplikovaných vo veterinárnej praxe. Baktérie prebývajúce v črevnom trakte môžu predstavovať rezervoár génov rezistencie. Cieľom tejto práce bolo zistiť a porovnať výskyt koliformných baktérií rezistentných voči vybraným antibiotikám v črevnej mikrobiote domácich zvierat a ich majiteľov, s ohľadom na ich prirodzenú prítomnosť v črevnom prostredí.

Metodika: Monitoring bol vykonaný na 18 vzorkách stolice (majiteľ; pes; mačka). Prítomnosť celkových a rezistentných koliformných baktérií sa zisťovala pomocou Chromocalt Coliform agaru (37 ° C, 24 hod). Koncentrácie antibiotík aplikovaných pri monitoringu zodpovedali európskym normám (EUCAST, 2020). Antibiotiká vybrané na detekciu rezistentných izolátov boli ampicilín; gentamicín; ciprofloxacín; chloramfenikol; tetracyklín. V prípade tetracyklínu bola použitá koncentrácia zodpovedajúca americkým štandardom (CLSI, 2020). Baktérie vyrastené na miskách s prídavkom antibiotika boli následne identifikované pomocou MALDI-TOF hmotnostnej spektrometrie. Ako matrica bola použitá kyselina α -kyano-4-hydroxyškoricová.

Výsledky: Počet celkových koliformných baktérií sa pohyboval od 4,74 do 7,48 log KTJ/g vo vzorkách odobratých od majiteľov a v rozmedzí 3,60 - 7,77 log KTJ/g u vzoriek odobratých od psov a mačiek. Vyššia prevalencia týchto baktérií bola pozorovaná u stolice majiteľov. Najvyššia miera rezistencie bola zaznamenaná v prípade ampicilínu a gentamicínu, pričom výskyt rezistencie voči jednotlivým antibiotikám väčšinou koreloval medzi majiteľom a zvierateľom. Pomocou hmotnostnej spektrometrie sme identifikovali 141 kmeňov koliformných baktérií rezistentných voči antibiotikám: *Escherichia coli* (92,2 %), *Klebsiella pneumoniae* (4,3 %), *Enterobacter aerogenes* (2,1 %), *Enterobacter cloacae* (1,4 %).

Záver: Výsledky poukazujú na vzťah medzi výskytom baktérií rezistentných na antibiotiká u domácich zvierat a ich majiteľov, ako aj na možnosť šírenia rezistentných baktérií medzi domácimi zvieratami a ich majiteľmi.

11. Antimicrobial activity of nanofibers enriched by essential oils against *Cutibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*

D. Langová (1), R. Pavelková (1), I. Márová (1)

(1) Faculty of Chemistry, Brno University of Technology, Brno, CZ.

Cutibacterium acnes and *Staphylococcus epidermidis* have been recognized as inflammation bacteria triggering acne. There are many cosmetics products containing lavender and mint substances available on market, promising anti-inflammatory skin effect. The present study was conducted to assess antimicrobial activity of functionalized nanofibers against pus-forming bacteria causing acne. Nanofibers are promising material in wound healing with property of releasing of active compounds to the wound. The same approach could be used in acne treatment. In this work, nanofibers enriched by *Mentha piperita* and *Lavandula angustifolia* essential oils were prepared to find the most suitable combination to maintain the antimicrobial activity of essential oils.

Enriched nanofibers and chosen essential oils were tested for antimicrobial activity by broth dilution method and method of agar diffusion. The results of both methods showed the inhibitory effect of essential oils against both microorganisms tested. PHB and gelatine nanofibers were prepared with different amount of essential oils added. The PHB nanofibers were found not suitable for this purpose. In the case of the gelatine nanofibers antimicrobial activity was observed with both chosen essential oils.

Our results showed that the gelatine is the most suitable material for preparing the nanofibers enriched by essential oils as a potential product for acne treatment.

This work was supported by the project Nr. FCH-S-21-7483 of the Faculty of Chemistry BUT.

12. Mikrobiologické benefity polyamidových nanovláknenných materiálů v medicínských aplikacích

S. Lencová (1), K. Zdeňková (1), H. Stiborová (1), K. Demnerová (1)

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

Nanovláknenné materiály jsou pro své unikátní vlastnosti využívány v mnoha odvětvích, medicínu nevyjímaje. Polyamid (PA) je díky své mechanické a biologické odolnosti vhodným polymerem pro výrobu takových nanomateriálů. Pro jejich medicínské aplikace, jako jsou trvalé náhrady tkání a orgánů nebo krytí kožních poranění, je stěžejní mikrobiologická bezpečnost.

Interakce mezi PA nanomateriály a klinicky významnými mikroorganismy ale dosud nebyly detailně studovány. Cílem práce proto bylo zhodnocení vlivu PA nanomateriálů lišících se morfologií a funkcionalizací na i) zádržnost bakteriálních buněk, ii) inhibici růstu bakterií a iii) tvorbu biofilmu. Byly testovány jak nefunkcionalizované, tak i funkcionalizované nanomateriály s chlorhexidinem (CHX) a dusičnanem stříbrným (AgNO_3). Jako modelový mikroorganismus byl zvolen *Staphylococcus aureus* CCM 4517. Při filtraci bakteriální suspenze došlo k záchytu buněk ($3,3\text{--}6,8 \log_{10}\text{KTJ/ml} \sim 96,7\text{--}100,0\%$) všemi testovanými PA nanomateriály; plošná hustota byla vyhodnocena jako hlavní morfologický parametr ovlivňující retenci ($p \leq 0,01$). Nefunkcionalizovaný PA nevykazoval antibakteriální vlastnosti; všechny funkcionalizované PA růst bakteriálních buněk potlačily ($p \leq 0,05$); PA CHX 4 hm% byl vyhodnocen jako nejúčinnější z testovaných nanomateriálů. Na závěr byl sledován vliv PA nanomateriálů na tvorbu bakteriálního biofilmu. Průměr vláken byl stanoven jako klíčový parametr ovlivňující tvorbu biofilmu na nefunkcionalizovaných nanomateriálech ($p \leq 0,01$); dále byly potvrzeny korelace mezi průchodností vzduchu, průměrem vláken a plošnou hustotou ($p \leq 0,05$). Všechny funkcionalizované PA snížily nebo zcela potlačily tvorbu biofilmu ($p \leq 0,01$). PA 0,1 hm% AgNO_3 poskytoval obdobné výsledky jako nefunkcionalizovaný PA 8% 2 g/m^2 , z čehož lze usuzovat, že při vhodné kombinaci morfologických parametrů nanomateriálů může být dosaženo stejné inhibice tvorby biofilmu jako při využití nízkých koncentrací antimikrobiálních látek. PA nanomateriály, především funkcionalizované, tak byly vyhodnoceny jako vhodné pro medicínské aplikace.

Do budoucna by bylo vhodné dále studovat vliv morfologie na interakce s mikroorganismy a umožnit tak výrobu nanomateriálů snižujících rizika nálezů z kontaminovaných zdravotnických pomůcek.

13. Využití Ramanovy spektroskopie pro identifikaci mikroorganismů způsobujících infekce krevního řečiště

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

(1) Mikrobiologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u svaté Anny v Brně, Pekařská 53, Brno, ČR

(2) Ústav přístrojové techniky, Akademie věd České republiky, Královopolská 147, Brno, ČR

Ramanova spektroskopie je metoda vibrační spektroskopie, založená na neelastickém rozptylu monochromatického světelného paprsku při průchodu zkoumanou látkou. Získané spektrum poskytuje neinvazivně informace o molekulární skladbě zkoumaných látek. V této práci byly zkoumány možnosti využití této metody na vykultivovaných koloniích mikroorganismů způsobujících infekce krevního řečiště.

Testováno bylo 124 kmenů mikroorganismů náležících do 10 rodů. Po kultivaci 24 hodin při 37 °C na Muller-Hinton agaru byla získána charakteristická ramanovská spektra, takzvaný „fingerprint“. Měření probíhalo na komerčním spektrometru (Renishaw inVia Raman Spectrometer, Renishaw plc., Wotton-under-Edge, UK) s vlnovou délkou laseru 785 nm a dobou měření spektra 10 sekund. Pro odfiltrování pozadí byla použita metoda Rolling-Circle Filter (RCF), pro analýzu se bylo využito metod strojového učení Nearest Neighbour Classification (kNN) a Support Vector Machine (SVM).

Celková přesnost klasifikace byla s použitím RCF 88,89 %, s využitím kNN 88,71 %. Objevily se problematické kmeny, zejména produkce některých pigmentů mohla zhoršit kvalitu dat kvůli fluorescenčním vlastnostem. U některých druhů mohl hrát roli i nižší počet naměřených kmenů či větší vnitrodruhová variabilita.

Ramanova spektroskopie skýtá potenciál být významnou technikou v diagnostice infekcí krevního řečiště. Získáním dostatečně velké knihovny spekter a optimalizací metody se může jednat o rychlou a spolehlivou metodu se širokým využitím v rámci mikrobiologie.

Práce byla podpořena granty MUNI/IGA/1093/2020, MUNI/A/1486/2020 a NU21-05-0034.

14. Modeling sorption isotherm of a dry yogurt dairy product, qurut

K. Nayab (1), Ľ. Valík (1)

(1) Department of Nutrition and Food Quality Assessment, Institute of Food Science and Nutrition, Faculty of Chemical and Food Technology, the Slovak University of Technology in Bratislava, Radlinského 9, 812 37, Bratislava, Slovakia

Abstract

Sorption isotherm of various foods has been studied widely and used to predict and improve the shelf life of food products. Milk and dairy products are some of the essential food matrices globally. Qurut, a regional dairy product made by air drying of concentrated salted yogurt, is primarily used in the Central Asia and the Middle East regions but is relatively new to the Western World. The current research aims to study the moisture sorption behavior of this product.

A static gravimetric method was used to determine adsorption and desorption isotherms of the qurut at laboratory temperature of 25 °C. Samples were put on the top of various saturated solutions (with water activity levels of 0.11 to 0.97) in closed jars. After reaching the equilibrium conditions, their moisture content levels were analyzed using a moisture analyzer and plotted in an x-y diagram against water activity levels of the saturated solutions. Later, experimental data were fitted to various mathematical models using the least square method.

Obtained results show that the moisture content of the studied sample, qurut, is correlated exponentially to the water activity level. The Hailwood model fitted the experimental data the best, while Peleg and GAB models also fitted the experimental data satisfactorily. On the other hand, the hysteresis effect was also observed between adsorption and desorption isotherms for qurut samples.

Keywords: dairy product, qurut, sorption isotherm, GAB, Hailwood, hysteresis.

15. Screening of potential hexosaminidases producers

E. Ondrejková (1), H. Hronská (1), M. Bláhová (1), M. Rosenberg (1)

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

β -N-acetylhexosaminidases occur in almost every living organism and they play key roles in lot of essential life processes. Study of hexosaminidases is important mainly due to their function in human body, such as cell signalization, cancer development, inflammatory processes and many others, where their malfunction can cause serious disorders. Apart from that, β -N-acetylhexosaminidases can be used as an effective tool to produce different types of glycosides. Among of all microbial sources, fungal β -N-acetylhexosaminidases possess the biggest biosynthetic potential.

We focused on screening of various fungi from our collection to discover new potential producers of β -N-acetylhexosaminidases, that may have interesting properties. We tested several strains from genera *Penicillium*, *Talaromyces* and *Aspergillus* for hexosaminidase activity. The strains with the highest activity were selected and cultivated. Secretion of hexosaminidases into media is typically a biphasic process. The highest level of specific activity was achieved after 8-13 days of cultivation which strongly depends on the genus and species of fungi. After the cultivation, extracellular hexosaminidases were isolated and purified, so we were able to determine and compare their substrate specificity towards chromogenic and fluorogenic glycosides.

In this lecture, examples will be presented which illustrate how the substrate specificity and other properties of hexosaminidases depend on the microbial source of these enzymes.

Acknowledgement: This work was supported by grant APVV-16-0314.

16. Původci zoonotických onemocnění v ZOO Brno

P. Pittermannová (1), L. Černíková (2), A. Žáková (3, 4), P. Váňa (3), E. Bártová (1)

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

(2) Oddělení virologie a serologie, Státní veterinární ústav Praha, CZ

(3) Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

(4) Katedra biologie, Pedagogická fakulta, Masarykova univerzita, Brno

Volně žijící savci a klíšťata hrají důležitou roli při udržování a šíření zoonóz v přírodě, ale i u zvířat žijících v zajetí. Cílem práce bylo zjistit seroprevalenci *Borrelia burgdorferi s.l.*, *Coxiella burnetii* a *Francisella tularensis* u volně žijících hlodavců odchycených v areálu ZOO Brno a zároveň u posbíraných klíšťat detekovat *B. burgdorferi s.l.* a *Rickettsia sp.* V roce 2018 bylo v ZOO Brno odchyceno 58 hlodavců a posbíráno 166 klíšťat. Výplachy srdcí hlodavců byly použity k serologickému vyšetření pomocí enzymové imunoanalýzy (ELISA). Z klíšťat byla izolována DNA s následnou detekcí patogenů pomocí PCR. Protilátky proti *B. burgdorferi s.l.* byly detekovány u 6 (4,9 %) jedinců, protilátky proti *C. burnetii* u 5 (4,1 %) jedinců; protilátky proti *F. tularensis* nebyly detekovány. V případě klíšťat byla *Rickettsia sp.* detekována u 5 (7,1 %) vzorků a *B. burgdorferi s.l.* u 11 (15,7 %) vzorků. Výsledky této studie ukazují, že je třeba počítat s tím, že ZOO může představovat rizikové prostředí pro přenos zoonotických infekcí.

Kontakt: Telefon: +420 721188335, E-mail: pittermannovap@vfu.cz, (P. Pittermannová)

17. Fágová rezistence druhu *Staphylococcus aureus*

A. Siváková (1), F. Růžička (1), R. Pantůček (2), K. Oremová (2), M. Dvořáčková (1)

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

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

Bakterie *Staphylococcus aureus* patří mezi časté patogeny způsobující hnisavé a respirační infekce. Jejich terapii komplikuje narůstající antibiotická rezistence proti běžně používaným preparátům. Jako terapie stafylokokových infekcí se proto kromě antibiotik nabízí i fágová terapie. Tato léčba má výhodu v tom, že bakteriofágy specificky napadají pouze daný bakteriální druh, takže nemají nežádoucí účinky na lidské buňky ani neničí přirozenou mikroflóru. Laboratorně se navíc snadno množí, takže je lze získat ve velkém množství. Mezi bakteriofágy napadající stafylokoky patří 3 čeledi řádu *Caudovirales*: *Podoviridae*, *Siphoviridae* a *Myoviridae*. Jejich užití v klinické praxi je však zatím omezené. Stejně jako lidské buňky si i buňky bakteriální vyvinuly za léta své koexistence mechanismy virové rezistence. Opakované nebo dlouhodobé terapeutické využití fágů může vést ke vzniku bakteriálních variant odolných vůči fágům, což by mohlo bránit příznivým výsledkům léčby.

Infekce bakterií bakteriofágy probíhá v 5 fázích: adsorpce, penetrace do buňky, replikace, kompletace nových virionů a lýza buňky. Mechanismy rezistence byly popsány pouze pro fáze adsorpce, replikace a kompletace nových virionů. Jsou to především mutace povrchových molekul bakterií, např. delece genů pro receptory fágů. Dále restrikčně-modifikační systémy a CRISPR/Cas systémy, které štěpením virové DNA před fází replikace brání pomnožení bakteriofága. Nakonec jsou to mechanismy abortivní infekce, které vedou ke smrti infikované buňky před dokončením reprodukčního cyklu fága. Preparáty využívané k léčbě stafylokokových onemocnění se snaží předejít vzniku rezistence tvorbou koktejlů složených z více druhů bakteriofágů.

V našem pokusu jsme vystavili kultury v exponenciální fázi růstu kmenů *S. aureus* z ran působení bakteriofága 812K1-420 a sledovali vývoj růstové křivky po 20 hod nepřetržité kultivace. Některé z kmenů po počáteční fázi, kdy byly vůči fágu citlivé obnovily po cca 13 hodinách kultivace svůj růst. Při vyočkování z média kolonie těchto kmenů ztratily své hemolytické vlastnosti a zvýšila se mukozita jejich kolonií. Při MALDI-TOF identifikaci se pak snížilo skóre identifikace těchto kmenů. V současné době provádíme celogenomové sekvenování kmenů za účelem detekce typu rezistence.

Poděkování: Práce byla podpořena grantem Ministerstva zdravotnictví ČR (NU21J-05-00035).

18. Degradation pathways of D-limonene in bacteria *Rhodococcus sp.*

D. Šilhárová (1), H. Hronská (1), K. Kaniaková (1), M. Rosenberg (1)

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

Limonene is one of the most common terpenes in the nature. This cyclic monoterpene is the main constituent of citrus oil, an agro-industrial by-product of citric fruit juice processing. Its safety profile and unique structure make this monoterpene an attractive substrate for preparation of old and new bioactive compounds. The advantages related to this bioprocess include the high regio- and stereoselectivity of microbial enzymes, mild reaction conditions, zero toxic waste and the generation of “natural” products with synthetic potential in cosmetic, agricultural, pharmaceutical and food industries.

In this study we investigated microbial enzymes produced by bacteria of the genus *Rhodococcus* which are involved in biotransformations of some essential terpenes. The first investigated reaction was the biotransformation of D-limonene to trans-carveol catalysed by cumene dioxygenase. This can be used in cascade reactions for production of attractive carvolactones with subsequent use in pharmacy or thermoplastics technology. The second investigated pathway is biotransformation of limonene-1,2-epoxide to limonene-1,2-diol by limonene-1,2-epoxidhydrolase.

In our lecture, we focused on screening of bacterial strains from our collection to discover new potential producers of enzymes, that could catalyze biotransformation of limonene or metabolites from degradation pathways of limonene.

Acknowledgement: This work was supported by the Scientific Grant Agency of the Ministry of Education of the Slovak Republic and the Academy of Sciences, registration number 2/0130/20.

19. Modulácia efluxných transportérov *Candida albicans* a *Candida auris* po použití fotodynamickej inaktívácie

M. Štefánek (1), L. Černáková (1), J. Dekkerová (1), H. Bujdáková (1)

(1) Katedra mikrobiológie a virológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

Biofilmy tvorené kvasinkami predstavujú závažný problém pre zdravotnú starostlivosť a zdravie pacientov, keďže sú často asociované s použitím implantátov či rôznych protetických náhrad. V posledných rokoch predstavuje zvýšený výskyt kvasinky *Candida auris* výzvu v liečbe tohto vysoko rezistentného, častokrát multirezistentného patogénu. *Candida albicans* je podobne významná kvasinka predstavujúca problém pri liečbe, najmä ak manifestuje zvýšenú odolnosť voči antifungálnym látkam. Na liečbu takýchto problémových infekcií a infekcií asociovaných s biofilmom je možné použiť fotodynamickú inaktíváciu (PDI). PDI efektívne inhibuje širokú škálu mikroorganizmov od baktérií, cez kvasinky až po protozoa a rezistencia voči antimikrobiálnym látkam, zdá sa, nemá žiadny vplyv na jej účinnosť.

PDI v kombinácii s metylénovou modrou (MB) bola použitá v eradikácii 24 h biofilmov tvorených tromi klinickými izolátmi *C. auris in vitro*; jedným štandardným kmeňom a jedným klinickým izolátom *C. albicans*. Použité koncentrácie MB (250 μ M, 1mM) boli kombinované s červeným laserom ($\lambda=660$ nm, 190 mW/cm²) v rôznych dĺžkach ožarovania. Na confirmáciu a vizualizáciu účinku PDI sa použila konfokálna laserová skenová mikroskopia (CLSM) a skenová elektrónová mikroskopia (SEM). Zmeny v expresii génov kódujúcich významné efluxné transportéry (*CDR1*, *CDR2*, *MDR1*) po PDI boli zisťované pomocou izolácie RNA a následnej real-time qPCR.

Inhibičný účinok PDI bol dosiahnutý vo všetkých testovaných kmeňoch, s najvýraznejším účinkom v skupine ožarovanej 300 sekúnd. V tejto skupine bol dosiahnutý inhibičný účinok viac ako 90 % (*C. auris*) a 70 % (*C. albicans*) oproti kontrole, ktorú predstavoval 24 h neožiarený biofilm bez MB. CLSM a SEM ďalej vizuálne potvrdili deštruktívny účinok PDI na bunky biofilmu. Použitím qPCR sme taktiež odhalili výrazné zmeny v expresii génov efluxných transportérov, hlavne *MDR1*, po aplikácii PDI u *C. auris*, kde v jednej skupine došlo k 71krát zvýšenej expresii oproti kontrolnej vzorke. Podobné zmeny však neboli pri *C. albicans* pozorované.

PDI sa javí ako účinná technika v boji proti biofilmom tvorených rezistentnými kmeňmi *C. auris* aj *C. albicans* v kombinácii s MB. qPCR odhadila zmeny v génovej expresii, avšak k výrazným zmenám došlo iba pri *C. auris*. Objasnenie tohto javu bude predmetom ďalšieho skúmania.

20. Infekcia spôsobená *Clostridioides difficile* v čase pandémie COVID-19

A. Toporová (1), K. Čurová (1), M. Krúťová (4), Ľ. Ambro (2), A. Kamlárová (2), M. Novotný (3), L. Siegfried (1)

(1) Ústav lekárskej a klinickej mikrobiológie, Lekárska fakulta UPJŠ v Košiciach, Košice, SK

(2) Ústav lekárskej mikrobiologie, Fakultná nemocnica v Motole, Praha, CZ

(3) Ústav experimentálnej medicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Košice, SK

(4) Klinika infektológie a cestovnej medicíny, Univerzitná nemocnica Louisa Pasteura v Košiciach, Košice, SK

Takmer všetky aspekty medicíny boli zmenené v dôsledku mimoriadnej situácie v súvislosti s pandemiou ochorenia COVID-19 spôsobeného koronavírusom SARS-CoV-2. V dôsledku zmien mikrobiómov v súvislosti s COVID-19 a častej expozície antibiotikami môže ochorenie skomplikovať infekcia *Clostridioides difficile* (CDI). Etiologický agens CDI je anaeróbná sporujúca baktéria *C. difficile* (CD). Príčinou vysokej incidence a závažných foriem CDI je výskyt rýchlo šíriacich sa hypervirulentných kmeňov RT 027, 176, 106, 078, 017, ktoré produkujú toxíny (toxín A, toxín B, prípadne aj binárny toxín).

Cieľom našej práce bolo potvrdiť prítomnosť CD od pacientov, ktorí boli hospitalizovaní v UNLP v Košiciach v období prebiehajúcej pandémie COVID-19, počas mesiacov december 2020 až február 2021. U pacientov bola CDI diagnostikovaná na základe vyšetrenia stolice rýchlotestom CD pre enzým GDH a toxín A/B. Do štúdie boli zahrnuté GDH pozitívne a toxín pozitívne/negatívne stolice. Pozitívny výsledok kultivácie bol zaznamenaný pri 28 pacientoch (12 s ochorením COVID-19 a 16 bez etiológie COVID-19). Molekulárnou analýzou kmeňov sme stanovili gény pre produkciu toxínov a ribotypy CD. Multiplexnou PCR boli u izolátov CD detekované 3 toxíny (toxín A, toxín B a binárny toxín). Toxín A a toxín B boli potvrdené pri 27 izolátoch (12 COVID-19 a 15 non-COVID-19) a binárny toxín pri 13 izolátoch CD (5 COVID-19 a 8 non-COVID-19). Kapilárnou elektroforézou boli určené ribotypy (RT). V našom analyzovanom súbore pacientov s potvrdením ochorením COVID-19 a CDI dominoval RT 176 (n=6), ktorý patrí medzi hypervirulentné RT. Ďalšími potvrdenými ribotypmi boli RT 001 (n=6), RT 010 (n=1). V súbore pacientov bez etiológie COVID-19 dominoval takisto RT 176 (n=8). Potvrdené boli aj RT 001 (n=4), RT 020 (n=1), RT 014 (n=2). Výsledky tejto práce sú veľmi cenné, nakoľko poukazujú na potrebu zavedenia špecifických protiepidemických opatrení v UNLP v Košiciach s cieľom zabrániť šíreniu hypervirulentných ribotypov CD na jednotlivých oddeleniach. U pacientov i s COVID-19 je vzhľadom na hospitalizáciu a antimikrobiálnu liečbu riziko infekcie hypervirulentnými kmeňmi CD veľmi vysoké, preto je dôležité pokračovať v zbere a analýze CD a zároveň účinnými opatreniami predchádzať vzniku ďalších infekcií.

Tento výskum bol realizovaný s podporou projektov TRANSFEC 2019/34-UPJŠ-6 a VVGS-2019-1300.

21. Metabolic redesign of the yeast *Yarrowia lipolytica* for effective production of erucic acid

V. Urbaníková (1), M. Vicenová (1), P. Gajdoš (1), M. Čertík (1)

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

Erucic acid (*cis*-docosa-13-enoic acid; C22:1 Δ 13, EA) is an important renewable feedstock in plastic, cosmetic, nylon and lubricant industries. *Yarrowia lipolytica*, a model oleaginous yeast with a wide range of biotechnological uses, is being established as promising platform for EA production.

Two strains of *Yarrowia lipolytica* were constructed by insertion *FAE1* gene (responsible for EA production) from *Thlaspi arvense* under control of synthetic promoter *8UAS-pTEF*. Strains YL53 (Q4 Δ *mfe* *pTEF-DGA1-URA3ex 8UAS-pTEF-FAE1-LEU2ex*) and YL62 (Q4 *pTEF-DGA1-URA3ex 8UAS-pTEF-FAE1-LEU2ex*) were derived from strains Q4 Δ *mfe1* and Q4, respectively. The Q4 strain is not able to accumulate lipids in cells due to the deletion of all four acyltransferases. To restore lipid accumulation, the *DGA1* gene was reintroduced into these strains under control of *TEF1* promoter. These strains were cultivated 72 hours in MedA+ medium together with YL15 strain (Q4 *pTEF-DGA1-URA3ex pTEF-FAE1-LEU2ex*). After isolation, purification and transesterification of fatty acids, the samples were analyzed by GC.

The aim of this experiment was to study the effect of different promoters and deletion of the gene *MFE1* on production of EA. The *MFE1* gene catalyzes the second and third step of β -oxidation and thus, the cells are not able to complete β -oxidation. Monitoring the effect of *MFE1* gene deletion revealed that the yields of EA in YL53 (45.0 mg/g DCW (dry cell weight), 13.0 % of TFA (total fatty acids)) and YL62 (45.3 mg/g DCW, 10.4 % of TFA) were almost the same. However, YL53 strain with 9.0 g DCW/L and 34.6 % TFA/DCW differed from YL62 (12.2 g DCW/L, 42.9 % TFA/DCW) by poorer growth and lower lipid accumulation. It was confirmed that YL62 strain with the *FAE1* gene under control of the stronger *8UAS-pTEF* produced significantly higher amount of EA compared to YL15 with the EA yield of 6.2 mg/g DCW (1.4 % of TFA). In general, the YL62 strain was proved to be the most efficient producer of EA.

The work was supported by grant APVV-17-0262.

22. Dlouhodobé antimikrobiální působení enzybiotika LYSSTAPH-S na methicilin rezistentní kmeny *Staphylococcus aureus* způsobujících chronické ranné infekce

L. Vacek (1,2), Š. Kobzová (1), R. Čmelík (3), R. Pantůček (4), L. Janda (1)

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

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

(3) Ústav analytické chemie, Akademie věd České republiky, v.v.i., Brno, CZ

(4) Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova Univerzita, Brno, CZ

Antimikrobiální terapie hraje důležitou roli z léčbě infekčních onemocnění důležitou roli již téměř celé století. Stále se zvyšující antimikrobiální rezistence patogenních bakterií vede k hledání cest, jak tento znepokojivý trend zvrátit. V této práci byl zkoumán rekombinantně připravený a modifikovaný protistafylokokový enzym odvozený od lysostaphinu (LYSSTAPH-S), jehož cílové místo antimikrobiálního působení leží v bakteriální buněčné stěně. Všechny testované kmeny methicilin rezistentních kmenů *Staphylococcus aureus* vykazovaly citlivost k tomuto enzymu, a to i v koncentracích menších než 1 µg/ml. Dále byla ověřena jeho dlouhodobá stabilita, kdy se tento enzym ukázal efektivní v průběhu tří dní kontinuálního měření. Naše data tedy naznačují, že by se takovýto enzym mohl uplatnit v léčbě chronických ranných infekcí, kde je *S. aureus* jedním z nejčastějších patogenů.

Tato práce byla podpořena grantem Ministerstva zdravotnictví ČR (NV19-05-00214).

Klíčová slova: enzymová terapie, enzybiotika, lysostaphin, LYSSTAPH-S, MRSA

23. Potential use of non-*Saccharomyces* yeasts for production of beers with reduced ethanol content

P. Vašík (1), I. Kadlečík (1), V. Kafková (1), P. Sulo (2), K. Furdíková (1), I. Špánik (1), D. Šmogrovičová (1)

(1) Slovak University of Technology in Bratislava, Faculty of Chemical and Food Technology, Bratislava Slovakia

(2) Comenius University in Bratislava, Faculty of Natural Sciences, Bratislava, Slovakia

Non-*Saccharomyces* yeasts have long been considered responsible for microbial-related problems during beer production. Thanks to numerous reports describing the potential of so-called non-conventional yeasts which introduce desirable flavours to beer during fermentation, their role in the brewing has been revised.

The aim of this work was to study application of several non-*Saccharomyces* yeasts potentially suitable for production of beer with reduced ethanol content (<1.2 % (v/v)). Production of such beer is driven by the increasing demand for non/low alcoholic products by consumers, but it is challenging due to insufficient sensory profile and decreased microbiological stability of the final product. Strains of *Schizosaccharomyces pombe*, *Lachancea fermentati*, *Pichia angusta* and *Saccharomyces ludwigii* were characterized in terms of their ability to ferment different sources of saccharides (glucose, sucrose, maltose) by carbohydrate fermentation tests in glass tubes with inverted Durham tubes. Wort (10.42 °P) was inoculated with studied yeast strains (1×10^6 cells/ml); fermentation proceeded in 500 ml banks closed with Müller trap for 7 days at 12 °C. After fermentation, young beers were matured for 21 days at 4 °C. Beer samples were then analysed using DMA 4500M density meter with AlcoLyzer, Haze QC Turbidity and pH beverage measuring modules. Organic acids, glycerol, glucose, and maltose were analysed by high performance liquid chromatography with diode array and refractive index detectors (HPLC-DAD-RID). Volatile organic compounds were analysed by two-dimensional gas chromatography connected to high resolution time of flight mass spectrometry with previous solid phase microextraction of volatiles from headspace (HS-SPME-GC×GC-HRTOF-MS). Results of analyses confirmed the suitability of all used yeast strains to produce non/low-alcoholic beers. The main parameter of interest was ethanol concentration, which ranged in prepared beers from 0.14 % (v/v) (beer fermented with *P. angusta*) to 0.76% (v/v) (beer fermented with *L. fermentati*). It is necessary to perform pilot plant scale-ups of the most interesting yeasts and evaluate sensory and organoleptic quality of beers using a trained taste panel.

Work was supported by VEGA 1/0063/18, APVV-15-0333 and ITMS 26240220084.

24. *Neurospora crassa* – the relationship between plasma membrane composition and the ability to tolerate stress conditions

J. Víglaš (1), P. Olejníková (1)

(1) Institute of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava, SVK

Corresponding author: Ján Víglaš, jan.viglas@stuba.sk

The fungi-specific sterol, ergosterol, is an essential constituent of the fungal plasma membrane. It maintains physical properties of the membrane and is a part of lipid rafts, where integral membrane proteins are located. This made ergosterol/its biosynthetic enzymes target for antifungal drugs.

In this study, we compared the phenotype of knockout mutants of filamentous fungus *Neurospora crassa* in ergosterol biosynthesis enzymes ERG4, ERG5, ABC transporter CDR4 and transcription factors CCG8, ACU15 (possible regulators of ergosterol biosynthesis) to the wild type in the presence of agents (plate diffusion) causing osmotic stress – NaCl, KCl, LiCl, sorbitol; oxidative stress – H₂O₂, menadione; plasma membrane stress – SDS, Tween 80, Triton X-100; cell wall stress – congo red, caspofungin; endoplasmic reticulum stress – tunicamycin and chemical stress – 4-NQO – mutagen, amphotericin B – binds to ergosterol; fluconazole, voriconazole, prochloraz, ravuconazole – inhibit ergosterol biosynthesis. To determine convergence or divergence of stress response to same class of antifungals at molecular level we analysed transcription levels of corresponding genes in wild type *N. crassa* under azole stress by RT-qPCR.

Stress agents affected mainly the growth of *erg5* deletion mutant. The pronounced effect was observed by chemical and plasma membrane stressors. Similar trend was also detected in *erg4* knockout mutant. The absence of efflux pump CDR4 strongly impacted the susceptibility of *N. crassa* to azoles, which is also the case of *ccg8* deletion. CCG8 seem to be involved in stress response more generally as its deletion showed impaired growth in the presence of most stressors. Deletion of *acu15* slightly affected the susceptibility to azoles. At the molecular level, the response to azoles had common features such as increased expression of gene encoding azole target CYP51, but the expression of *cdr4*, *ccg8* and *acu15* differed between imidazole (prochloraz) and triazoles.

Plasma membrane composition can impact susceptibility to stress agents. However, the same group of stressors such as azole compounds may not equate the same response at the molecular level.

This work was supported by the Scientific Grant Agency VEGA, research project No. VEGA-1/0697/18.

P 01. Cryptic plasmids of the *Lactiplantibacillus plantarum* LS/07 probiotic co-determine its membrane-associated proteome and secreted proteome

L. Ambro (1), V. Lukáčová (2), D. Hadžega (3), R. Link (1), L. Kľučár (3), M. Danchenko (4), P. Baráth (2,4)

lubos.ambro@upjs.sk

(1) Institute of Experimental Medicine, Faculty of Medicine, Pavol Jozef Šafárik University in Košice, Košice, SK

(2) MEDIREX GROUP ACADEMY, Trnava, SK

(3) Institute of Molecular Biology, Slovak academy of Sciences, Bratislava, SK

(4) Institute of Chemistry, Slovak academy of Sciences, Bratislava, SK

Lactiplantibacillus plantarum is a versatile Gram-positive bacterial species that is found in environment, gut microbiome and fermented food. Apart from that, *L. plantarum* is generally recognized as safe and often used in multi-strain probiotic preparations and functional food. According to the current knowledge, various strains of *L. plantarum* harbor low-copy plasmids that are thought to be cryptic (they do not contribute to the strain's phenotype). Our isolate *Lactiplantibacillus plantarum* LS/07 has been proven to possess various beneficial effects in preclinical testing. Recently, its genome and plasmids have been sequenced and fully annotated. We have shown that plasmids encode several proteins that could potentially influence strain's phenotype. Aim of this study was to evaluate, whether these genes are expressed, and corresponding proteins delivered to the membrane or found in extracellular fraction of the bacterial culture. We have developed defined cultivation medium to effectively study surface and secreted proteomics. After overnight cultivation, medium containing secreted proteins and extracellular vesicles was precipitated using trichloroacetic acid. Precipitated proteins were solubilized and digested by trypsin. Resulting peptides were purified on custom-made microtip C18 SPE. For LC-MS analysis, the peptides were vacuum dried and analyzed by nanoseparation C18 column attached to UltiMate 3000 RSLCnano system. Spectral datasets were collected by Orbitrap Elite mass spectrometer. Obtained data were processed by MaxQuant with built-in Andromeda search engine. Our results confirmed that strain's plasmid-encoded KxYKxGKxW signal peptide domain-containing protein, S8 family serine peptidase, isopeptide-forming domain-containing fimbrial protein and S41 family serine peptidase genes are expressed, and proteins are delivered to the membrane or secreted. Based on our findings we propose that cryptic plasmids may still be determinants of the various probiotic effects among different strains of *L. plantarum*.

This work was created with the support of the VEGA 1/0519/18 grant and the Operational Program Integrated Infrastructure for the project: Center for Biomedical Research - BIOMEDIRES - II. stage, ITMS: 313011W428, co-financed by the European Regional Development Fund.

P 02. Production of polyhydroxyalkanoates and alginate by plant growth promoting rhizobacteria *Azotobacter vinelandii*

D. Černayová (xccernayova@vutbr.cz) (1), E. Slaninová (1), P. Sedláček (1), S. Obruča (1)

(1) Faculty of Chemistry, Brno University of Technology, Brno, CZ

The genus *Azotobacter* belongs to the group of nitrifying PGPR (plant-growth promoting rhizobacteria), which can improve the quality of the soil without the use of conventional fertilizers by its nitrification, production of precursors for plant's hormones, siderophores etc. Regularly, PGPR applicated into the soil, may have a short-time effect, so it should be applicated several times. However, the encapsulation of the bacteria into the gel carriers (such as alginate gel) can solve the problems and leads to long-term effect, when bacteria is slowly released from the gel into the soil.

Azotobacter vinelandii belongs to the PGPR group and produces alginate as an extracellular polysaccharide, which can be modified and used for its own encapsulation. Apart from the production of gel-forming polymers, *Azotobacter* is able to produce polyhydroxyalkanoates (PHA). These storage polymers are accumulated by some bacteria in the form of intracellular granules to provide the bacteria not only energy and carbon source, but also protection against diverse stress factors. We suppose that enhanced stress robustness will improve the survival of PGPR in the soil for a longer period.

We had studied five strains of *Azotobacter vinelandii* (DSM 85, 87, 576, 720, 13 529) and compared them in the level of PHA and alginate production for 7 days of cultivation. As the biosynthesis of both polymers compete for a carbon source, the production of PHB starts in the first days of cultivation, whereas the amount of alginate (on which we are mainly focused) increases in the cultivation process later. The highest amount of produced alginate is on the fifth day of cultivation by strains 87, 576 and 720. Each strain has differences in the alginate quality according to the results of their molecular weight by SEC-MALS and gelation experiments with CaCl₂ (5% w/v). Strain 720 has the highest PHA accumulation in the fifth day of cultivation as determined by GC-FID.

P 03. Produkcia mutovanej rekombinantnej Taq DNA polymerázy

J. Dlapová (1), E. Struhárňanská (1), K. Hriňová (1), Z. Levarski (2), S. Stuchlík (1), J. Turňa (2)

(1)Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, SK; dlapova2@uniba.sk

(2)Vedecký park, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, SK

DNA polymerázy sú schopné amplifikovať akékoľvek špecifické, primermi ohraničené, úseky DNA v polymerázovej reťazovej reakcii (PCR). Našli využitie v základnom výskume, priemysle a biotechnológii. DNA polymerázy sú taktiež súčasťou laboratórnej diagnostiky, ktorá využíva kvantitatívnu RT-PCR. V práci sme sa zamerali na produkciu Taq DNA polymerázy. Vysoká termostabilita Taq polymerázy zabezpečuje jej robustné využitie v technikách molekulárnej biológie, biotechnológii ako aj v klinickej diagnostike a sekvenovaní. Pri transformácii do buniek *E. coli* bol použitý vektor pTZ18R, do ktorého bol vložený syntetický gén pre Taq DNA polymerázu, obsahujúci navrhnuté cold-sensitive mutácie a mutácie pre toleranciu inhibítorov.

Naším cieľom bola produkcia a optimalizácia expresie rekombinantnej Taq DNA polymerázy v *E. coli*. Expresia v Erlenmayerových bankách v expresných systémoch *E. coli* BL21(DE3), BL21(DE3)pLysS, C43(DE3), C41(DE3) a Lemo21(DE3) s plazmidom pTZ18R nesúcim mutovanú Taq DNA polymerázu neprebíhala ani pri rôznych podmienkach expresie. Preto ďalším cieľom bola príprava nového konštruktú vo vektore pJexpres404. Amplifikáciu cieľových génov sme uskutočnili pomocou In-Fusion®HD Cloning Kit (Takara) PCR s cieľom vytvoriť dva konštruktú líšiace sa umiestnením His-tagu na N a C konci mutovanej Taq DNA polymerázy. V prvom kroku sme optimalizovali amplifikáciu cieľového génu a vektora v dostatočnom množstve a kvalite pre využitie pri homologickej rekombinácii. Zhotoveným konštruktú sme úspešne transformovali bunkové kmene *E. coli* 10G a Stellar™ a identifikovali cieľový transformant z narastajúcich kolónií. Ďalším krokom bude transformácia konštruktú do produkčných kmeňov *E. coli*, a produkcia mutovanej Taq DNA polymerázy.

P 04. První případ infekce popálené plochy patogenem *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*

M. Hladík (1), B. Lipový (1,2), Y. Kaloudová (1), M. Hanslianová (3), I. Vítková (3), T. Deissová (4), T. Svoboda (5), Z. Kala (5), P. Brychta (5), P. Bořilová Linhartová (4)

(1) Klinika popálenin a plastické chirurgie Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy Univerzity, Brno, CZ

(2) CEITEC, Vysoké učení technické v Brně, Brno, CZ

(3) Oddělení klinické mikrobiologie, Nemocnice Vyškov, Brno, CZ

(4) RECETOX, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno, CZ

(5) Chirurgická klinika Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy Univerzity, Brno, CZ

Management infekčních komplikací je jedním z klíčových aspektů terapie pacientů s popálením. Stále častěji se objevují nové patogeny způsobující infekce, což vede ke komplikované volbě antimikrobiální strategie s limitovanými terapeutickými možnostmi. Prezentujeme unikátní případ světově první izolace *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica* z popálené plochy spojené s myiázou u bezdomovce s minoritním popálením.

Nález gramnegativní bakterie *W. chitiniclastica* byly reportovány nejčastěji u pacientů ze subtropické nebo tropické oblasti, a to u celé řady infekčních komplikací. Tato aerobní bakterie byla mj. nalezena u parazitických much, jejich larvy u lidí jsou příčinou nekontrolované myiázy, je obvyklejné asociována s nízkým životním standardem a chronickými rány.

Vzhledem k tomu, že se jedná o velmi vzácnou infekci, která navíc u pacienta nebyla izolovaná, není etablován standardizovaný antimikrobiální protokol. Kmen *W. chitiniclastica* izolovaný z rány byl dobře citlivý ke všem 10 testovaným antibiotikům, včetně v terapii užitého amoxicillin/klavulanátu.

Klíčová slova: *Wohlfahrtiimonas chitiniclastica*, burn-wound infection, myiasis

P 05. Testovanie účinku bioaktívnych látok asociovaných s myším gamaherpesvírusom na proliferáciu vybraných bunkových línií v podmienkach statickej a dynamickej kultivácie.

R. Hodoši (1), I. Romerová Ortizová (1), E. Nováková (1,2), M. Šupolíková (1)

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

(2) Biomedicínske centrum, Virologický ústav, Slovenská akadémia vied, Bratislava, SR;

Bioaktívne látky MHGF-68, podobné rastovým faktorom asociované s myším herpetickým vírusom 68 (MHV-68), boli objavené v rámci experimentálneho výskumu na našom pracovisku. MHGF-68 boli pripravené infikovaním buniek BHK-21 o multiplicité infekcie MI 0,01 za nepermissívnych podmienok pre replikáciu vírusu MHV-68 (pri teplote 41 °C). Ich biologická aktivita sa prejavuje zmenou morfológie buniek – navodením transformovaného fenotypu u nenádorových buniek, resp. potlačením fenotypu nádorových buniek. Pomocou FPLC chromatografie s náplňou Sephadex G-15 boli MHGF-68 separované na jednotlivé frakcie s biologickými aktivitami. Cieľom našich experimentov bolo testovanie účinku frakcií MHGF-68/1 a MHGF-68/4 na proliferáciu nenádorových buniek NIH 3T3 a nádorových buniek H2 kultivovaných v statickom prostredí a v dynamickom prostredí zariadenia LiveFlow (In-vitro Technologies). LiveFlow je pokročilý modulárny systém, ktorý je vhodný na testovanie liečiv a bioaktívnych látok na bunkových kultúrach. Zariadenie využíva na kultiváciu buniek odnímateľné komôrky (tzv. LiveBox), ktoré sú svojimi vnútornými rozmermi porovnateľné s kultivačnými platničkami. Tento systém je schopný simulovať podmienky in vivo zabezpečením kontinuálneho toku kultivačného média s možnosťou presnej kontroly dávkovania študovanej látky. Bunky sme kultivovali v statickom aj dynamickom prostredí v kultivačnom médiu DMEM so 7 % obsahom fetálneho boviného séra pri teplote 37 °C s 5 % CO₂ v časových intervaloch 24, 48 a 72 hodín. Účinok frakcií MHGF-68 na proliferáciu buniek sme vyhodnocovali pomocou MTT testu. V prípade frakcie MHGF-68/1 sme zaznamenali pokles proliferácie po statickej kultivácii u oboch bunkových línií. Po kultivácii buniek v prístroji LiveFlow s frakciou MHGF-68/1 sme v porovnaní s kontrolou nezaznamenali výrazné zmeny. V prípade frakcie MHGF-68/4 sme nepozorovali zmeny v proliferácii buniek kultivovaných staticky a bunky kultivované v dynamickom prostredí vykazovali signifikantne zníženie proliferácie v časovom intervale 48 hodín. Získané výsledky naznačili, že typ prostredia, v ktorom prebieha kultivácia buniek, má vplyv na aktivitu jednotlivých frakcií MHGF-68. Tieto výsledky boli potvrdené aj kvalitatívnymi zmenami na úrovni bunkového cytoskeletu použitím konfokálnej mikroskopie.

P 06. Porphyrins and metalloporphyrins as potent inhibitors of the entry process of tick-borne encephalitis virus

J. Holoubek (1,2), L. Eyer (1,3), I. Huvarová (1), D. Růžek (1,3)

(1) Laboratory of Emerging Viral Infections, Veterinary Research Institute, Brno, CZ

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

(3) Laboratory of Arbovirology, Institute of Parasitology, The Czech Academy of Sciences, Ceske Budejovice, CZ

Tick-borne encephalitis virus (TBEV) is an emerging human pathogen that causes potentially fatal disease with no specific treatment. Although TBEV vaccines are available, immunity requires boosting, and vaccination is less effective in the young and elderly. Upwards of 10,000 TBEV cases per year worldwide are reported, with an increasing trend in recent years.

Porphyryns are a large class of natural and synthetic organic heterocyclic molecules that can bear a metal atom in the centre of their tetrapyrrole structure. It is known that some of these molecules are potent inhibitors of viral infection due to multiple mechanisms of antiviral action.

As evident from our *in vitro* results, porphyryns show different degrees of antiviral potency and cytotoxicity profiles based on their chemical structures, particularly on the presence of various side chains attached to the structurally conserved planar tetrapyrrole ring. The most active compounds showed EC50 values in low nanomolar concentrations with low cytotoxicities for the tested cell lines.

To elucidate the mechanisms of action against TBEV, we performed a series of virological assays. Based on our results, the main mechanism is blocking the adsorption of the virus to the membrane of the host cell through incorporating in between viral membrane lipid molecules. Although, a decrease in temperature and the associated increase of membrane rigidity can eliminate the inhibition activity of some porphyryns. On the other hand, we have found that porphyryns can also inhibit viral infection after virus entry to the host cell. The first possibility is interacting with viral RNA because some porphyryns are able to bind and stabilize guanine quadruplexes (G4). Another mechanism would be the formation of intracellular vesicles trapping assembled viral particles to make the cell unable to release the virions, which we observed in higher doses of some tested compounds. Further molecular and biophysical analysis will be required.

Thus, porphyryns are very promising molecules with multiple mechanisms of action. Exploration of these mechanisms is essential to deeper understand their antiviral actions to lead to the future development of novel, well-characterized antivirals.

Research project No. 20-20229S of the Czech Science Foundation is greatly acknowledged.

P 07. Konštrukcia vektorov na heterologickú expresiu mutovanej M-MuLV v expresnom systéme *E. coli*

K. Hriňová (1), J. Dlapová (1), E. Struhárňanská (1), Z. Levarski (2), S. Stuchlík (1), J. Turňa (1,2)

(1) Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra molekulárnej biológie, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 84215 Bratislava, Slovenská republika;

(2) Univerzita Komenského v Bratislave, Vedecký park, Ilkovičova 8, 841 04 Bratislava, Slovenská republika

hrinova10@uniba.sk

Reverzné transkriptázy sú dôležité enzýmy retrovírusov, ktoré konvertujú jednovláknovú RNA do dvojvláknovej DNA. V molekulárnej biológii a biotechnológii sa používajú na kvantitatívnu RT-polymerázovú reťazovú reakciu, microarray analýzy, generovanie cDNA knižníc na klonovanie a mnohé ďalšie. M-MuLV (Moloney Murine Leukemia Virus) reverzná transkriptáza obsahovala navrhnuté bodové mutácie, ktoré zabezpečujú vysokú termostabilitu, procesivitu, fidelitu a substrátovú afinitu. Cieľom našej práce bolo produkovať mutovanú rekombinantnú M-MuLV reverznú transkriptázu v expresnom systéme *E. coli* a vytvoriť nové konštrukty vhodné na expresiu. V prvej fáze sme sa zamerali na amplifikáciu génu pomocou PCR pre mutovanú M-MuLV reverznú transkriptázu z pôvodného komerčne dodaného pUC57 plazmidu. Keďže sme neboli schopní vybrať také dve restriktázy, ktorými by sa nám podarilo vyštiepiť M-MuLV z pUC57 a vložiť v dobrej orientácii do vektorov pET21a/ pJexpress404 (neobsahujú sekvencie pre využitie dvojice rovnakých restriktáz), museli sme takéto sekvencie vložiť pomocou primerov na oba konce génu záujmu. Navrhli sme viacero sád primerov tak, aby His-Tag bol na C- alebo N-terminálnom konci. Týmto by sme zistili, kde je v našom prípade vhodnejšie použitie tagu, či už kvôli jednoduchšej purifikácii alebo neovplyvňovaniu aktivity. Po amplifikácii M-MuLV sme tento inzert ligovali s vektorom pJexpress404 a transformovali do buniek *E. coli* 10G. Transformanty sme si overili izoláciou, štiepením a PCR. Podarilo sa nám vytvoriť cieľový konštrukt vektora pJexpress404 s M-MuLV reverznou transkriptázou a s his-tagom na C-konci. V ďalšej časti práce sa zameriame na tvorbu zvyšných konštruktov a ich následnú produkciu v expresnom systéme *E. coli*.

P 08. Využití lignocelulózových materiálů k produkci polyhydroxyalkanoátů

V. Chatrná* (1,2), X. Kouřilová (1,2), I. Pernicová (1,2), I. Nováčková (1,2), J. Pořízka (1,2), S. Obruča (1,2)

(1) Potravinářská chemie a biotechnologie, Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně, CZ;

(2) Centrum materiálového výzkumu, Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně, CZ

*Vendula.Chatrna @vut.cz

Hromadění vedlejších produktů potravinářského průmyslu představuje čím dál větší ekologickou zátěž. Proto se neustále hledají různá uplatnění pro lignocelulózové materiály, které představují vedlejší produkty, od výroby biopaliv, přes tvorbu různých typů chemikálií, až po produkci polyhydroxyalkanoátů (PHA). PHA zastupují biokompatibilní a biodegradabilní plasty produkované ve formě intracelulárních granulí řadou prokaryotických mikroorganismů. Lignocelulózový materiál se skládá z celulózy, hemicelulózy a ligninu. Pomocí chemických a biochemických postupů lze tento materiál rozrušit a získat z něj frakce, které jsou dále využitelné pro syntézu látek s vysokou přidanou hodnotou. Chemickou a následně enzymatickou hydrolyzou lze dosáhnout rozložení celulózy a hemicelulózy na monosacharidy, jež následně slouží jako zdroj uhlíku pro bakterie, které jsou schopny tyto monosacharidy využít k produkci PHA. Využití lignocelulózy jako substrátu pro tvorbu PHA je jedna z možností, díky které lze snížit náklady na produkci tohoto bioplastu.

Zabývali jsme se analýzou složení pšeničných otrub a pivovarnického mláta. Spektrofotometricky s pomocí činidla DNS (dinitrosalicylové kyseliny) a vysokoúčinné kapalinové chromatografie s refraktometrických detektorem (HPLC-RI) byla stanovena koncentrace redukujících sacharidů v hydrolyzátech z otrub a mláta. Na těchto hydrolyzátech jsme následně kultivovali 6 vybraných bakteriálních kmenů (*Schlegelella thermodepolymerans* DSM 15344, *Schlegelella thermodepolymerans* DSM 15264, *Tepidimonas taiwanensis* LMG 22826, *Halomonas halophila* CCM 3662, *Halomonas organivorans* CCM 7142T a *Burkholderia sacchari* DSM 17165), a pomocí plynové chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem jsme stanovili obsah PHA. Nejlepšími producenty PHA byly bakterie rodu *Halomonas*, které produkovaly PHA až do 68 % suché hmoty buňky.

P 09. Systém indukcie kryptických génových klastrov v chromozóme *Streptomyces* kódujúcich sekundárne metabolity

R. Javorová* (1), R. Nováková (1), J. Kormanec (1)

(1) Oddelenie genomiky a biotechnológií, Ústav molekulárnej biológie Slovenskej akadémie vied, Bratislava, SK;

*rachel.javorova@savba.sk

Z hľadiska využitia v humánnej medicíne baktérie z rodu *Streptomyces* produkujú veľké množstvo biologicky aktívnych látok. Pomocou moderných technológií založených na princípoch molekulárnej a syntetickej biológie môžeme aktivovať novo objavené kryptické gény v genómoch baktérií *Streptomyces* a zvýšiť produkciu ich sekundárnych metabolitov. Cieľom predloženej práce bola aktivácia silentného aktinorodínového génového klastra (*act*) u kmeňa *Streptomyces lividans* TK24 pomocou integrácie jedného z najsilnejších promótorov *kasOp** pred regulačný gén *actIII-4* *act* klastra.

Homologickou rekombináciou pripraveného plazmidu pAMR24A- \square *actIII* s chromozómom streptomycét *S. lividans* TK24 a *Streptomyces coelicolor* M145 a metódou bezmarkerovej delécie génu a stabilnej integrácie konštraktu do chromozómu *Streptomyces* sa selektovali mutantné kolónie s vloženým *kasOp** promótorom pred gén *actIII-4*.

Na overenie stratégie aktivácie silentného aktinorodínového génového klastra sa úspešnosť prípravy mutantných kmeňov *S. lividans*, *kasOp::actIII-4* a *S. coelicolor*, *kasOp::actIII-4* potvrdila PCR metódou a sekvenáciou. Fenotypovou analýzou mutantných kmeňov sa identifikovala produkcia červeného pigmentu, ktorý zodpovedá antibiotiku undecylprodigiozínu. Z predchádzajúcich štúdií vyplýva, že nadprodukcia antibiotika aktinorodínu vyvoláva produkciu iného antibiotika undecylprodigiozínu.

V tejto práci sa úspešne verifikovala integrácia promótoru *kasOp** do genómu *S. lividans* TK24, zatiaľ čo nadprodukcia antibiotika aktinorodínu sa nepreukázala. Jedna z možností je orientácia génu *actIII* v opačnom smere voči génu pre apramycínovú rezistenciu, kedy sa RNA polymeráza pri transkripcii nezastaví a tým sa vytvorí antisense RNA blokujúca transláciu mRNA biosyntetického génu *actIII*. Ďalším postupom bude príprava plazmidového vektora so silným terminátorom, ktorý zabráni vytvoreniu novej antisense RNA.

Predložená práca bola finančne podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja (APVV-19-0009).

P 10. Analýza bakteriálneho zloženia orálneho mikrobiómu psov s periodontálnym ochorením metódou sekvenovania amplikónov

J. Kačírová (1) *, M. Sondorová (1), A. Maďari (2), L. K. Fecskeová (3), I. Mujakic (3), R. Nemcová (1), M. Maďar (1)

(1) Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Košice, SK;

(2) Univerzitná veterinárna nemocnica, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Košice, SK;

(3) Laboratórium anoxygénnych fototrofov, Centrum Algatech, Mikrobiologický ústav Českej akadémie vied, Třeboň, CZ

kacirova.jana@gmail.com

Úvod: Prvé odhady biodiverzity v ústnej dutine psov sa spoliehali na použitie tradičných kultivačných metód. V súčasnosti sú na presnejšie určenie zloženia mikrobiómov k dispozícii sofistikované technológie ako sekvenovanie novej generácie. Mikrobióm zubného plaku je spájaný s periodontálnym ochorením a má najvyššiu bakteriálnu diverzitu v rámci ústnej dutiny. Vzhľadom na to sme sa v tejto štúdií zamerali na analýzu mikrobiómu zubného plaku psov.

Metodika: Vzorky supragingiválneho zubného plaku boli odobrané od piatich psov s klinickými príznakmi periodontálnych ochorení. Po extrakcii DNA z každej vzorky sa oblasť V3-V4 génu 16S rRNA amplifikovala a sekvenovala prostredníctvom platformy Illumina MiSeq.

Výsledky: Vo vzorkách boli identifikované baktérie patriace do 10 bakteriálnych kmeňov, konkrétne Actinobacteria, Bacteroidetes, Elusimicrobia, Epsilonbacteraeota, Firmicutes, Fusobacteria, Chloroflexi, Patescibacteria, Proteobacteria a Synergistetes. Vo všetkých vzorkách dominoval kmeň Bacteroidetes, pričom najvyššie zastúpenie mal rod *Porphyromonas*. Kmeň Actinobacteria predstavoval podstatnú časť mikrobiómu vo vzorke číslo 2, zatiaľ čo vo všetkých ostatných vzorkách tvoril tento kmeň iba malú časť. Reprezentatívnym zástupcom kmeňa Actinobacteria bol rod *Corynebacterium*.

Záver: Sekvenovaním novej generácie bolo v zubných plakoch psov odhalené rozmanité bakteriálne spoločenstvo, vrátane ťažko kultivovateľných baktérií. Amplikónové sekvenovanie nám poskytlo aj informácie o relatívnom zložení bakteriálnych biofilmov. Vo vyšetovaných vzorkách bol najviac zastúpený rod *Porphyromonas*, ktorý je spájaný s periodontálnym ochorením ľudí aj psov. Vo všetkých vzorkách boli prítomné aj rody *Campylobacter*, *Fusobacterium* a *Fretibacterium* spájané s periodontálnym ochorením ľudí. Ich úloha pri periodontálnom ochorení psov však nie je presne definovaná.

Podakovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore vedeckej grantovej agentúry VEGA č. 1/0788/19.

P 11. Asymmetric cell division during *Bacillus subtilis* sporulation

E. Kalocsaiová (1), K. Muchová (1), I. Barák (1)

(1) Institute of Molecular Biology, Slovak Academy of Science, Bratislava, SK
e-mail: evelina.kalocsaiova88@gmail.com

Introduction. Bacterial cell division is studied mostly in two model organisms, the gram-positive *Bacillus subtilis* and the gram-negative *Escherichia coli*. In these model organisms during binary fission, the division takes place in the mid-cell of the parent cell, resulting in formation of two genetically identical daughter cells. The major bacterial cell division protein FtsZ forms an annular shape, called the Z-ring. This ring acts as a scaffold for assembly of other division proteins, with which it forms a functional protein complex – the divisome. This complex is responsible for the invagination and constriction of inner and outer cytoplasmic membranes and for the synthesis of peptidoglycan at the division site. In poor living conditions, some bacteria, like *B. subtilis*, employ effective protective mechanism for survival, the formation of endospores. During sporulation, the dividing septum does not form in the middle of the cell but asymmetrically, close to one of the cell poles. Asymmetric division gives rise to two daughter cells of unequal size and distinct developmental fates. In addition to division proteins which are involved in formation of vegetative septum, formation of asymmetric septum also requires sporulation specific protein SpoIIE. Our task is to characterize particular division proteins taking part in this process, analyze their mutual interactions, and accordingly deduce their function in asymmetric septum formation.

Methods. We have used various methods to identify and verify interactions between selected division proteins. For the detection of protein-protein interactions we initially used bacterial two hybrid analysis (BACTH). Bacterial two-hybrid system requires the co-expression of the proteins of interest as fusions with the T25 and T18 fragments of adenylate cyclase in an *E. coli* BTH101 strain. After plasmid co-transformation, colonies were spotted onto selective plates containing IPTG and X-Gal. A blue color indicates a positive interaction between each pair of fusion proteins. To verify the identified BACTH interactions, we used pull down assay. Proteins to be tested for interaction were fused to His-tag and S-tag, expressed in *E. coli* strain BL21 (D3), and extracts were applied onto a Ni Sepharose HP column. This allows His-tagged proteins to be affinity purified on a Ni²⁺ column and an interacting S-tagged protein can then be pulled down. Eluted proteins were probed with antibodies against S-tag and His-tag. In case of interaction, S-tagged protein was detected in elution fraction together with the His-tagged protein.

Results. We searched for protein-protein interactions between proteins taking part in the formation of sporulation septum. We focused on main player of asymmetric division, sporulation specific protein SpoIIE. In BACTH system we detected its interactions with sporulation specific DNA binding protein RefZ and division proteins EzrA and MinJ. We also identified their mutual interactions. We verified some of these interactions by pull down method.

Conclusion. The results obtained will be used in further studies of asymmetric cell division, specifically in elucidation of mechanisms ensuring the correct localization of sporulation septum.

P 12. Changes in ulcerative colitis microbiota following fecal microbiota transplantation – *in vitro* study

A. Kamlárová (1), R. Link (1), V. Benetinová (1), Ľ. Ambro (1)

(1) Institute of Experimental Medicine, Faculty of Medicine, Pavol Jozef Šafárik University in Košice, Košice, SK

anna.kamlarova@upjs.sk

Fecal microbiota transplant (FMT) is the process of transplantation of fecal bacteria from a healthy individual into a recipient. FMT helps restoration and recolonization of the dysbiotic gut microbiota by introducing healthy microbiota. Disruption and dysbiosis of the gut microbiota are associated with the occurrence of many diseases (obesity, diabetes, IBD). FMT is successfully used to treatment *Clostridioides difficile* infection and also seems to could be one of the option for the treatment or maintenance of remission in chronic diseases as ulcerative colitis (UC). UC is characterized by chronic and recurrent inflammatory condition of the colonic mucosa manifested by long-lasting inflammation and ulcerative lesions on mucosa leading to bleeding in colon and rectum. The aim of our experiment was to research the effect of fresh FMT from healthy man to changes of the gut microbiota of colitis patient using *in vitro* model SHIME[®]. We compared and detected differences in composition of the SHIME-stabilized colitic microbiota before and after FMT (two dose). Four sample from SHIME reactors were collected – before FMT, and three after FMT application. Total microbial DNA was extracted from SHIME and FMT samples and analyzed using quantitative and qualitative molecular analyses by real-time qPCR, PCR-DGGE and 16S metagenomic sequencing NGS (Illumina MiSeq). We observed significant increase in abundance of total bacteria and bacteria phylum Bacteroidetes in all samples after FMT application compared to sample before FMT by qPCR analyse. Results of DGGE and NGS analyses showed changes in Firmicutes – Bacteroidetes ratio, acquirement of new species after FMT and increased amounts of bacteria from families *Lachnospiraceae*, *Oscillospiraceae* (*Ruminococcaceae*), *Bifidobacteriaceae*. Our results confirm that FMT caused both qualitative and quantitative changes in colitic microbiota simulated *in vitro*.

This work was supported by grants APVV-16-0176 and VVGS- 2020-1506.

P 13. Antibiofilm activity of poly(ϵ -caprolactone) nanocapsules loaded with essential oils

M. Kapustová (1), A. Puškárová (1), Mária Bučková (1), G. Granata (2), E. Napoli (2), D. Pangallo (1), C. Geraci (2)

(1) Institute of Molecular Biology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, SK

(2) Istituto Chimica Biomolecolare – Consiglio Nazionale delle Ricerche, Catania, IT

Correspondent author: Magdaléna Kapustová; magdalena.kapustova@savba.sk

Biofilm provides the barrier to even small molecule antimicrobial agents affording suitable support for colonization and development of highly organized communities. Essential oils (EOs) are volatile phytochemicals extracted from aromatic plants. Due to their multi-component nature, the antimicrobial mechanism of EOs is multitarget and up to now, there is no evidence of the occurrence of EOs resistance. Nanoencapsulation of EOs represents efficient approach to increase their physical stability, water-solubility and improving bioavailability. Poly(ϵ -caprolactone) (PCL) is biodegradable and biocompatible polymer for the development of nanocapsules (NCs).

The overnight cultures (*S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*) were diluted to final concentration on 2×10^6 CFU/mL. 100 μ L of microbial suspension was added to the microtiter plate. This plate was incubated for 90 minutes at 37 °C. After incubation, the supernatant was removed and the well was rinsed 2 times with sterile PBS. Subsequently, the media and concentration of EO or EO-NCs were added. The final volume of each well was 200 μ L. This plate was incubated for 24 h at 37 °C. After incubation, the supernatant was removed and the well was rinsed 2 times with sterile PBS. For measurement of the optical density was used MTT assay and optical density was measured at 540 nm.

The data of antibiofilm activity against *S. aureus*, *E. coli*, and *C. albicans* revealed the antibiofilm inhibiting potential Th-NCs, Or-NCs. The results show that Th-NCs and Or-NCs had the antibiofilm effect already at a low concentration of 0.03 mg/mL.

Th-NCs and Or-NCs were more effective against all tested strains than pure EOs. This study demonstrates the ability of PCL nanocapsules loaded with thyme and oregano EOs to reduce microbial and biofilm growth and could be an ecological alternative in the development of new antimicrobial strategies.

P 14. Ticks from wildlife animals in South Africa: molecular detection of *Rickettsia* sp.

N. Kašpárková (1), E. Bártová (1), A. Halajian (2), A. Žáková (3, 4)

(1) Department of Biology and Wildlife Diseases, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary Sciences Brno, CZ

(2) Department of Biodiversity, University of Limpopo, Sovenga, South Africa

(3) Department of Comparative Animal Physiology and General Zoology, Faculty of Science, Masaryk University Brno, CZ

(4) Department of Biology, Faculty of Education, Masaryk University Brno CZ

Members of the genus *Rickettsia* are small, obligate intracellular, Gram-negative bacteria that are distributed throughout the world. The infection can be transmitted through arthropod bites and can cause health problems to the animals and humans, because it is widespread „tick-borne diseases“ zoonoses. The aim of the study was to detect *Rickettsia* sp. in ticks from South Africa. Ticks were collected during the years 2012-2019 in six provinces of South Africa including Limpopo, Mpumalanga, Free State, Northern Cape, North West, and Gauteng Province. Ticks were taken from dead animals (most often because of a collision with a car). In total, 2003 ticks (154 females, 778 males, 454 nymphs, and 617 larvae) were collected and divided into 854 samples. The DNA from ticks was isolated by NucleoSpin Tissue kit to detect *Rickettsia* sp. by single PCR.

The DNA of *Rickettsia* sp. was detected in 144 samples (17 %) including 18% females, 13% males, 26 % nymphs (26%), and 18% larvae. The highest prevalence of *Rickettsia* sp. was in Free state Province (50%) and in ticks collected in spring (22%) and autumn (19%). Positive samples will be sent for sequencing for accurate identification.

The results of this study bring new knowledge about the prevalence of this pathogen in ticks in six provinces of South Africa and will be the basis for more extensive research in South Africa.

Contact address: Phone: +420 608 728 070, E-mail: kasparkova.nicola@seznam.cz, (N. Kašpárková)

P 15. Charakterizácia rastu *Geotrichum candidum* s aplikačným potenciálom pre výrobu mliečnych produktov

M. Koňuchová (1), V. Čipkar (1), Ľ. Valík (1)

martina.konuchova@stuba.sk

(1) Oddelenie výživy a hodnotenia kvality potravín, Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, SR

Úvod: *Geotrichum candidum* (GC) je mikroskopická huba, ktorá ma veľký potenciál pre využitie v mliekarenskom priemysle a môže sa zúčastňovať zrenia rôznych syrov. Vďaka svojej proteolytickej a lipolytickej aktivite môže prispievať k tvorbe zlúčenín, ktoré môžu pozitívne ovplyvniť senzorickú kvalitu syrov. Význam a potenciál použitia určitého druhu alebo kmeňa pri produkcii syrov závisí od špecifických vlastností tejto mikrobiálnej kultúry a od konkrétnych požiadaviek na konečný produkt.

Metodika: V práci boli použité tri izoláty druhu GC a zbierkový kmeň CBS 557.83. Sledovali sme ich rast pri teplotách od 6 do 25 °C na syntetickom syrovom agare, ktoré malo priemernú hodnotu $a_v = 0,960 \pm 0,002$. Rastové odozvy boli z prediktívno-mikrobiologického hľadiska vyhodnotené pomocou primárneho Baranyiho modelu a sekundárneho kardinálneho modelu.

Výsledky: Údaje z primárneho modelu poukázali na to, že pri postupnom zvyšovaní teploty na 25 °C, sa zvyšovala aj rastová rýchlosť GC, a taktiež sa skracovala aj lag fáza. Vypočítané hodnoty optimálnej teploty sekundárnym kardinálnym modelom sa pohybovali od 21,2 do 24,9 °C a optimálna radiálna rastová rýchlosť od 0,127 do 0,268 mm/h, v závislosti od jednotlivých skúmaných kultúr GC. Z hodnôt vypočítaných štatistických validačných parametrov môžeme konštatovať, že kardinálny model bol schopný spoľahlivo opísať odozvy GC aj na dynamicky meniacu sa teplotu prostredia. V súvislosti so znehodnotením potravín mikroskopickými hubami sú dôležité údaje o čase, ktorý je potrebný na dosiahnutie viditeľnej (zvyčajne 3 mm) kolónie vzhľadom na špecifické podmienky prostredia. Vzhľadom na priemerný čas, kedy by kultúry GC dokázali vytvoriť viditeľnú kolóniu pri 6 °C ($16,8 \pm 1,7$ d), možno usúdiť, že kontaminácia produktov počas výroby, v ktorých sa prítomnosť GC považuje za nežiaducu (napr. tvaroh, cottage cheese) by viedla k ich znehodnoteniu ešte pred uplynutím doby určenej na ich spotrebu, a to aj napriek požadovanému chladeniu. Tieto výsledky potvrdzujú význam indikátorovej funkcie tejto hygienicky relevantnej mikroskopickej huby.

Záver: Kvantitatívny opis rastu rôznych izolátov a kmeňov druhu GC je pre mliekarenský prax mimoriadne dôležitý a to najmä z hľadiska nastavenia správnych podmienok počas výrobného procesu, počas procesu zrenia syrov, a taktiež pre zabezpečenie kvality a hygienickej bezpečnosti finálnych výrobkov.

Podakovanie: Práca bola podporená grantom VEGA 1/0532/18 a APVV-19-0031.

P 16. New insight to immunomodulatory potential of viral glycoprotein UL144 (encoded by Human and Rhesus CMV) and its binding to human cell receptor CD160

S. Lenhartová (1), M. Nemčovič (2), I. Nemčovičová (1), M. Benko (1)

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

(2) Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, SK

simona.lenhartova@savba.sk

Human cytomegalovirus (HCMV, HHV-5) is the leading viral cause of congenital birth defects, is responsible for morbidity and mortality in immunosuppressed individuals, compared to any other herpes viruses, encodes viral proteins, mainly at the right end of the long genome component (ULb'), that may modulate the host immune response, including a tumour necrosis factor receptor homologue - UL144. The HCMV UL144 shows the highest amino acid sequence homology to HVEM (TNFRSF14), followed by other members of the TNFR superfamily. However, the engagement of human receptor CD160 by UL144 has not been determined in NK cells. The relationship of CD160 to HVEM and its viral ortholog UL144 (encoded by HCMV or RhCMV) are nowadays being extensively studied because of their specific properties in immune modulation.

In our study, we focused on biological preparation and characterization of human CD160 and UL144 protein (encoded by Human and Rhesus CMV) expressed by using the BV-*Sf9* suspension expression system. Recombinant protein isolations were followed by purification strategies, primarily, affinity and size-exclusion chromatography methods. HCMV UL144, the viral mimic of HVEM, does not bind CD160, which is most probably due to altered N-linked or O-linked glycosylation or other posttranslational changes. Mutant of UL144, lacking several glycosylation sites, was generated and we have determined whether its binding to CD160 was impacted. We have measured the binding kinetics (by using Biacore SPR assay) for the dgUL144-CD160 (K_D 217 μ M) and HVEM-CD160 (K_D 166 μ M) molecular complexes. Additionally, we have performed the crystallization condition screening for UL144 (native/deglyco/RhCMV construct) alone or in complex with human CD160. The preliminary crystallization conditions were found and will be further optimized and tested for X-ray diffraction.

This study was supported by the Slovak Research and Development Agency (APVV-19-0376).

P 17. Infekcie spôsobené meticilín rezistentnými kmeňmi *Staphylococcus aureus* vo vybraných centrách starostlivosti o seniorov

K. Melnikov (1), A. Hojová (1), A. Kaiglová (1)

(1) Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Trnavská univerzita v Trnave, Trnava, SK

Meticilín rezistentný *Staphylococcus aureus* (MRSA) predstavuje globálnu hrozbu pre verejné zdravie v dôsledku jeho rezistencie na takmer všetky β -laktámové antibiotiká. Nakoľko sú starší ľudia vystavení väčšiemu riziku infekcie, spôsobuje MRSA v domovoch dôchodcov závažné problémy.

Hlavným cieľom bolo zistiť mieru výskytu MRSA v skupine seniorov trvalo umiestnených vo vybraných centrách sociálnych služieb (CSS) v Žilinskom kraji a následné porovnanie výsledkov s predošlou štúdiou zameranou na sledovanie výskytu MRSA v skupine seniorov v Trnavskom kraji.

Testovaný súbor tvorilo 150 klientov z troch CSS pre seniorov v Žilinskom kraji (49 mužov a 101 žien) a 92 klientov zo štyroch CSS pre seniorov v Trnavskom kraji (70 žien a 22 mužov). Výsledky štúdie sme porovnávali s kontrolnou skupinou, ktorú predstavovali študenti FZaSP Trnavskej univerzity (10 mužov a 122 žien). Všetky odobraté vzorky boli spracované pomocou štandardných metód určených na izoláciu a identifikáciu *S. aureus* (kultivácia, mikroskopický a biochemický dôkaz). Pri dôkaze MRSA sme ako fenotypovú metódu použili diskový difúzny test s cefoxitínom. Genotypovou metódou sme zisťovali prítomnosť špecifického úseku *mecA* génu pomocou PCR.

V Žilinskom kraji sme *S. aureus* identifikovali v 66 (44 %) prípadoch z celkového počtu 150, z toho bolo 14 (21,21 %) pozitívnych nosičov MRSA a zvyšných 52 (78,79 %) vzoriek bolo vyhodnotených ako MSSA. V Trnavskom kraji sa *S. aureus* vyskytoval v 57 (62 %) prípadoch z celkového počtu 92, z toho bolo identifikovaných 15 (26,32 %) pozitívnych nosičov kmeňa MRSA, zvyšných 42 vzoriek (73,68 %) bolo vyhodnotených ako MSSA. V kontrolnej skupine boli ako MRSA identifikované len 2 izoláty (4,4 %), pričom v skupine seniorov ich bolo 29 (23,58 %). V skupine seniorov bola šanca výskytu MRSA 6,63 x vyššia v porovnaní s kontrolnou skupinou (23,58 % vs. 4,4 %; OR- 6,63, CI 95 %).

Pri porovnaní výskytu MRSA medzi skupinami seniorov sme nezistili štatisticky významný rozdiel. Pri porovnaní výskytu MRSA medzi kontrolnou skupinou a skupinou seniorov sme zistili štatisticky významný rozdiel vo výskyte MRSA ($p = 0,0024$). Na základe preukázaných výsledkov považujeme preventívne opatrenia spojené s monitorovaním výskytu MRSA, dekolonizáciu a izoláciu pozitívnych nosičov za mimoriadne významné v boji proti šíreniu MRSA infekcií.

P 18. Rekombinantný endolyzín EN534-C ako potenciálny bioagens s exolytickou aktivitou voči vaginálnym streptokokom.

K. Pápayová (1), L. Bocánová (1), M. Pšenko (1), G. Bukovská (1)

(1) Ústav molekulárnej biológie, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 21, 845 51 Bratislava, Slovenská republika; kristina.papayova@savba.sk

Bakteriálny kmeň *Streptococcus agalactiae* skupiny B (GBS) patrí medzi fakultatívne anaeróbne baktérie schopné pri premnožení spôsobiť závažné ochorenia u detí, seniorov, imunodeficientných jedincov a tehotných žien. Pre zvyšujúcu sa prevalenciu bakteriálnej rezistencie voči antibiotikám sa v súčasnosti hľadajú nové antimikrobiálne systémy, účinné pri liečbe bakteriálnych infekcií. Možným riešením tohto problému je práve aplikácia endolyzínov z bakteriofágov v humánnej a veterinárnej terapii. V práci sme sa zamerali na prípravu a charakterizáciu rekombinantného endolyzínu EN534-C. Gén peg 1392 pre endolyzín EN534 bol izolovaný z profága humánneho izolátu *S. agalactiae* KMB-534. *In silico* prístupmi sme identifikovali modulárnu štruktúru endolyzínu, pozostávajúcu z dvoch katalyticky aktívnych domén (MurNAc-LAA a CHAP) a jednej väzbovej domény (LysM). Pomocou bioinformatických softvérov sme pripravili 3D model EN534 a predikovali väzbové miesta pre dvojmocné katióny (Ca^{2+} , Zn^{2+}). Endolyzín EN534-C sme nadprodukovali v expresnom systéme *Escherichia coli* a pomocou afinitnej chromatografie sme získali lytický aktívny rekombinantný endolyzín EN534-C. Pomocou difúznej a optickej metódy sme potvrdili jeho vysokú exolytickú aktivitu voči vybraným zástupcom streptokokov GBS v prítomnosti dvojmocných katiónov vápnika. Naše dosiahnuté výsledky predurčujú použitie EN534-C ako potenciálny bioagens pre praktické využitie v humánnej a veterinárnej terapii.

Predložená práca bola financovaná z projektov VEGA 2/0139/18 Štúdium replikačných proteínov modelových bakteriofágov v systéme bakteriofág – hositeľ a APVV-16-0168 Príprava bakteriofágov na terapiu vaginálnych a močových infekcií.

P 19. Antimicrobial effect of isothiocyanates formed by enzymatic hydrolysis of glucosinolates as their precursors

Z. Polozsányi* (1), H. Galádová (1), M. Kaliňák (2), M. Šimkovič (1)

(1) Institute of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava, SK

(2) Central Laboratories, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava, SK

*Corresponding author: zoltan.polozsanyi@stuba.sk

Isothiocyanates (ITCs) are highly reactive electrophiles formed after hydrolysis of their glucosinolate precursors by myrosinase. Glucosinolates (GLSs) are S-glucosides characterised by high structural variability. Together with myrosinase (thioglucosidase) they form the glucosinolate-myrosinase system. This system is characteristic for the *Brassicaceae* family, which is used mainly for generating biologically active defence compounds after cell and tissue damage, caused by aphids, herbivory insects or pathogen microorganisms. The spectrum of the defence compounds is determined by the conditions during the hydrolysis (e.g., presence of Fe²⁺ ions, pH) and the variability of the glucosinolate aglycone. The main interest is focused on ITCs, which has antimicrobial properties, anticancerogenic effects and promotes chemoprotective effects.

The work consists of several goals. One of the key points was isolation of GLSs, glucoraphanin and sinalbin, from plant *Cardaria draba*, using various chromatographic techniques simultaneously with analytical methods (Zic-HILIC and 1H-NMR spectroscopy) for identification and quantification. Another essential step was the preparation of active myrosinase from the swollen seeds of *Lepidium sativum*.

The main goal was the monitoring of the antimicrobial effect of ITCs formed *in situ* by myrosinase hydrolysis of GLSs, on bacterial and yeast models using microdilution method. We estimated the IC₅₀ for the commercially available ITCs, which enabled us to design the reaction condition for generation the ITCs. It turned out, that ITC sulforaphane (derived from glucoraphanin) showed similar inhibition of bacterial and yeast growth against control (IC₅₀ ≈ 0,2 mmol/L), however bacterial cells were more sensitive compared to yeasts. Unlike sulforaphane, allyl-ITC (derived from sinigrin) did not affect the growth of the tested microbial models in concentration range to 1 mmol/L. We also found, that despite that sinalbin undergoes hydrolysis, the resulting ITC is unstable, and releases the thiocyanate ion to form corresponding alcohol.

Funding

This study was supported by the Slovak Research and Development Agency grant APVV-16-0439 and by project ITMS 26230120006.

P 20. Infekce dermální náhrady způsobená *Trichoderma longibrachiatum* a *Aspergillus fischeri* u pacienta s rozsáhlým termickým traumatem

F. Raška (1,2), B. Lipový (1,2), M. Hladík (1,2), J. Holoubek (1,2), I. Kocmanová (3), M. Hanslianová (3), M. Bezdíček (4,2), C. Macháček (5,2)

- (1) Klinika popálenin a plastické chirurgie, Fakultní nemocnice Brno, CZ
- (2) Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, CZ
- (3) Oddělení klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Brno, CZ
- (4) Centrum molekulární biologie a genové terapie Interní hematologické a onkologické kliniky, Fakultní nemocnice Brno, CZ
- (5) Ústav patologie, Fakultní nemocnice Brno, CZ

MUDr. Filip Raška, raska.filip123@gmail.com

Pacienti s termickým traumatem reprezentují vysoce rizikovou skupinu z pohledu rozvoje infekčních komplikací včetně infekcí způsobených oportunními patogeny. Každodenní konfrontace s celou řadou patogenů způsobuje, že infekční komplikace dnes představují dominantní podíl na mortalitě těchto pacientů. Infekční komplikace se mohou u popálených pacientů projevit prakticky v jakémkoliv kompartmentu, přesto jde nejčastěji o ranné infekce. Obecně způsobují houby infekční komplikace u popálených pacientů ve 20-44 % případů v závislosti na typu a geografické lokalizaci popáleninového centra. Skutečná incidence fungálních infekčních komplikací však může být daleko vyšší. Za touto skutečností stojí fakt, že řada z infekcí není správně diagnostikována, chybí jednoznačná klinická symptomatologie pro mykotickou rannou infekci či kolonizaci.

V kazuistice prezentujeme případ 20letého muže, který během autonehody utrpěl hluboké popáleniny v rozsahu 88 % TBSA (celkového rozsahu těla). Anamnesticky u pacienta významná ortotopická transplantace jater pro primární biliární cirhózu. Z tohoto důvodu byl pacient na chronické imunopresivní terapii inhibitory kalcineurinu a glukokortikoidy. Vzhledem k hloubce popálení na předloktích bilaterálně, kde významně obnaženy a částečně zničeny důležité skupiny předloketních svalů rozhodnuto o použití dvouvrstevné dermální náhrady. Cílem bylo minimalizovat funkční poškození horních končetin a zachovat co největší hybnost. V druhé době dermální náhrada kryta tenkými dermo-epidermálními autotransplantáty. Na pravém předloktí nicméně záhy dochází k postupnému odhojování kožního štěpu. To bylo způsobeno kombinovanou mykotickou kolonizací kmeny *Trichoderma longibrachiatum* a *Aspergillus fischeri* (první hlášený případ). Po nasazení systémové antifungální terapie a opakovaném mechanickém a hydrochirurgickém debridementu již dermální náhrada úspěšně ztransplantována kožním autotransplantátem, který se připojuje v plném rozsahu.

V etiologii mykotických infekcí u pacientů s termickým traumatem jasně dominuje *Candida albicans*. Infekční komplikace způsobené vláknitými houbami nejsou tak časté, nicméně svým invazivním potenciálem mohou způsobit závažné komplikace. Nejčastěji se setkáváme s případy *Aspergillus* spp. a *Fusarium* spp., naopak výskyt zygomycet je poměrně raritní. *Trichoderma* spp. reprezentuje skupinu celosvětově rozšířených vláknitých hub, které způsobují infekce u člověka jen velmi vzácně. Donedávna byly zástupci *Trichoderma* spp. považovány za nepatogenní pro člověka, nicméně *T. longibrachiatum* a *T. citrinoviride* se dnes stávají emergentní patogeny zejména u imunokompromitovaných jedinců. U popálených pacientů do této chvíle nebyly zaznamenány žádné infekční komplikace způsobené *T. longibrachiatum*.

P 21. Detection of pathogens in human body fluids by Raman spectroscopy

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

(1) Department of Microbiology, Faculty of Medicine and St. Anne's Faculty Hospital, Brno, CZ;

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

Keywords: Raman spectroscopy, body fluids diagnostics

Introduction: Raman spectroscopy is a method of molecular vibrational spectroscopy based on inelastic scattering of monochromatic light (Raman scattering). It allows non-destructive analyses of various substances from simple molecules to characterization of molecular composition of complex biological systems. These spectroscopic fingerprints have broad spectrum of applications including identification and characterization of microbial cells. The aim of this study was to explore the possibility to detect pathogens in human bodily fluids by Raman spectroscopy.

Materials and methods: Characteristic Raman fingerprints were obtained from human body fluids (urine, serum and cerebrospinal fluid) and spiked bacteria in body fluids using a Raman spectrophotometer (Renishaw Invia Raman Spectrometer Renishaw plc., Wotton-under-Edge, United Kingdom, laser wavelength set to 785 nm, exposure time used for spectral acquisition was 15 seconds). Furthermore, we employed Raman tweezers to acquire Raman spectra directly from microorganisms spiked into human urine and serum.

Results: Our measurements suggest that Raman spectroscopy may allow detection of microbes directly in human body fluids and differentiate among various microbes in body fluids. This is enhanced by Raman tweezers. This pilot study suggests that there are differences among bacterial species in Raman spectra of single cells, which may allow their direct identification from a clinical sample in the future.

Conclusions: Raman spectroscopy is a powerful tool, which can have numerous applications in microbiology. It has a potential to become a reliable diagnostic tool in the future. Plus, Raman tweezers—allowing single cell analyses—might significantly accelerate the diagnostic process by means of direct identification of microorganisms present in liquid human samples.

The work was supported by grants MUNI/IGA/1093/2020, MUNI/A/1486/2020 (Grant Agency of Masaryk University) and AZV NU20-05-00166 (Czech Health Research Council).

P 22. Střevní nosičství enterobakterií nesoucích gen *mcr-9* s inducibilní kolistinovou rezistencí

E. Směliková (1), M. Brajerová (1), P. Dřevínek (1), O. Nyč (1), M. Krůtová (1), J. Tkadlec (1)

(1) Ústav lékařské mikrobiologie, 2. lékařská fakulta Karlovy Univerzity a Fakultní nemocnice v Motole

Úvod: Výskyt genů *mcr* kódujících rezistenci ke kolistinu představuje globální riziko pro jejich potenciál horizontálního šíření. Izoláty nesoucí gen *mcr-9* jsou většinou ke kolistinu citlivé, ale nebezpečí spočívá v možné inducibilitě kolistinové rezistence. Cílem studie bylo stanovit prevalenci střevního nosičství enterobakterií nesoucích gen *mcr-9* u hospitalizovaných pacientů a získané izoláty podrobně charakterizovat.

Metodika: Rektální výtěry od pacientů hospitalizovaných ve Fakultní nemocnici v Motole mezi lety 2019 až 2020 byly kultivovány v pomnožovacím médiu EE broth (Mossel, Oxoid). Pomnožené kultury byly testovány na přítomnost genu *mcr-9* pomocí qPCR a pozitivní pomnožené kultury byly inokulovány na chromogenní Brilliance UTI Clarity agar (Oxoid). U izolátů spadajících mezi Enterobacteriaceae s ověřeným nosičstvím genu *mcr-9* byla stanovena minimální inhibiční koncentrace (MIC) kolistinu a jiných antimikrobiálních látek pomocí mikrodiluční metody. Inducibilita kolistinové rezistence byla testována u izolátů nesoucích gen *mcr-9* ke kolistinu citlivých pomocí kultivace při nízkých dávkách kolistinu následovaná stanovením MIC. Izoláty nesoucí gen *mcr-9* byly charakterizovány celogenomovou sekvenací (WGS).

Výsledky: Celkem bylo vyšetřeno 854 rektálních výtěrů, z nichž 24 (2,8 %) bylo pozitivních na přítomnost genu *mcr-9*. Kultivačně bylo zachyceno devět bakteriálních izolátů (*Enterobacter* spp., n=6; *Citrobacter freundii*, n=2; *Escherichia coli*, n=1), z nichž osm bylo ke kolistinu citlivých (≤ 1 mg/l) a jeden rezistentní (≥ 16 mg/l). Pět izolátů citlivých ke kolistinu (62,5 %) vykazovalo inducibilitu kolistinové rezistence. Získané izoláty byly citlivé k většině rutinně používaných antibiotik kromě některých beta-laktamů. WGS analýza ukázala u dvou izolátů stejný sekvenční typ a několik druhů plazmidů.

Závěr: Prevalence enterobakterií nesoucích gen *mcr-9* u hospitalizovaných pacientů není zanedbatelná (2,8 %). Ačkoliv většina izolátů byla citlivá ke kolistinu, riziko může představovat inducibilní kolistinová rezistence pozorovaná u více než poloviny izolátů.

Poděkování: Tato studie byla podpořena grantem Ministerstva zdravotnictví č. NV 18-09-00254.

P 23. Pyocin production by urinary catheter-related *Pseudomonas aeruginosa*

K. Snopková (1), K. Dufková (1), P. Klimešová (1), V. Holá (1)

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

Urinary tract infections belong to the common nosocomial infections. Bacteriocin production is considered as a putative virulence factor in these infections but studies focusing on *Pseudomonas aeruginosa* are not available. In this study, we detected bacteriocin genes and their co-association with virulence factors in a set of 135 *P. aeruginosa* strains originated from catheter-associated urinary tract infections. The bacteriocinogeny reached 96.3 % with an average of 3.6 genes per strain. The most frequently detected pyocin genes were those encoded pyocins S4 (76.3 %), R (69.6 %), and S2 (67.4 %). A statistically significant co-occurrence and a negative relationship were observed between several pyocin types. Additionally, several pyocins exhibited associations with biofilm formation, production of pyochelin, pyocyanin, antibiotic-degrading enzymes, overall strain susceptibility and resistance, and motility of the strain. Co-occurrence of the pyocins S2 and S4 ($p < 0.0001$; $Z = 13.15$), both utilizing the ferripyoverdine receptor FpvAI, was found but no relation to pyoverdine production was detected. A negative association ($p = 0.0047$; $Z = -2.83$) was observed between pyochelin and pyocin S5 utilizing the ferripyochelin receptor FptA. Inhibition assays resulted in 52.1 % inhibition which was equally distributed between soluble and particle types of antimicrobials. In conclusion, pyocin determinants appear to be important characteristics of CAUTI-related *P. aeruginosa* isolates and could contribute to their urovirulence.

P 24. Molekulárna detekcia periodontopatických baktérií *Treponema denticola* a *Porphyromonas gulae* v dentálnom biofilme psov

M. Sondorová (1) *, J. Kačírová (1), M. Josaiová (1), A. Maďari (2), M. Maďar (1)

(1) Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Košice, SK;

(2) Univerzitná veterinárna nemocnica, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Košice, SK

miriam.sondorova@gmail.com

Úvod: Periodontálne ochorenie sa manifestuje od intenzívnej bolestivosti až po stratu zubov. U psov má vysokú prevalenciu a jeho výskyt významne stúpa s vekom. Povrch zubov poskytuje priestor pre adhérenciu a tvorbu dentálneho plaku označovaného aj ako dentálny biofilm. Akumulácia dentálneho biofilmu a hlavne baktérie nachádzajúce sa v dentálnom biofilme sú uplatňované v rozvoji periodontálneho ochorenia.

Metodika: Vzorky dentálneho biofilmu sa odoberali od 7mich psov s periodontálnym ochorením. Pomocou PCR a špecifických primerov, konkrétne *flaB2* gén pre druhy *Treponema* vrátane *Treponema denticola* a 16 S rRNA gén pre *Porphyromonas gulae*, boli vzorky podrobené analýze na prítomnosť periodontopatických baktérií. Metódou Sangerovho sekvenovania sa získali sekvencie sledovaných baktérií a potvrdili sa genotypizáciou.

Výsledky: *Treponema* spp. bola prítomná v 5 vzorkách psieho dentálneho biofilmu. Medzi identifikované druhy *Treponema* patrili *Treponema putidum* a *Treponema denticola*. *Treponema putidum* sa vyskytovala v 3 vzorkách a *Treponema denticola* v 2 vzorkách. *Porphyromonas gulae* bol prítomný vo všetkých vzorkách dentálnych biofilmov.

Záver: Periodontopatické baktérie v psom dentálnom biofilme ako *Treponema denticola* a *Porphyromonas gulae* sú patogénne baktérie so zoonotickým potenciálom. *Treponema putidum* a *Treponema denticola* sú spájané s periodontálnymi ochoreniami ľudí, pričom majú podobné faktory virulencie. Na základe zaznamenaného výskytu *Treponema putidum* u psov s periodontálnym ochorením v tejto štúdii predpokladáme, že môže podobne ako u ľudí, hrať významnú úlohu pri rozvoji ochorenia. Včasná diagnostika týchto periodontopatických baktérií pomocou PCR metódy môže predísť k progresívnemu rozvoju tohto ochorenia a to nie len u psov, ale aj u ich majiteľov, keďže je tu potenciálna možnosť prenosu týchto baktérií.

Podakovanie: Táto práca bola podporená grantom VEGA 1/0788/19.

P 25. Detekcia *Tannerella forsythia* vo vzorkách dentálnych biofilmov ľudí a psov pomocou PCR

M. Sondorová (1) *, M. Maďar (1), J. Kačírová (1), Z. Nagyová (2), J. Kučera (3),

(1) Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Košice, SK;

(2) Klinika stomatológie a maxilofaciálnej chirurgie, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach a Univerzitná nemocnica Louisa Pasteura Košice, Košice, SK;

(3) Stomatologická klinika, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach a Univerzitná nemocnica Louisa Pasteura Košice, Košice, SK

miriam.sondorova@gmail.com

Úvod: *Tannerella forsythia* (predtým *Bacteroides forsythus*) patrí medzi baktérie červeného komplexu, ktorý zahŕňa najvýznamnejšie patogény periodontálnych ochorení ľudí. *Tannerella forsythia* sa často vyskytuje u ľudí s periodontitídou. Môže byť prítomná aj v orálnej dutine spoločenských zvierat, pričom častejšie sa vyskytuje u psov a mačiek s periodontálnym ochorením.

Metodika: Pre účel detekcie *Tannerella forsythia* bol subgingiválny dentálny biofilm získaný od 7 psov a 3 ľudí s klinickými príznakmi periodontálneho ochorenia. Celková DNA bola izolovaná fenol-chloroformovou extrakciou. Prítomnosť *Tannerella forsythia* sa sledovala pomocou PCR reakcie zameranej na špecifickú detekciu fragmentu 16S rRNA génu s využitím primerov, forward 5'-GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA-3' a reverse 5'-TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T-3'. Produkty amplifikácie boli sekvenované Sangerovou metódou a sekvencie boli analyzované za účelom overenia a identifikácie *Tannerella forsythia*.

Výsledky: *Tannerella forsythia* bola zachytená u 7/7 psov a 3/3 ľudí. Sangerovo sekvenovanie a BLASTn analýza potvrdili prítomnosť fragmentu 16S rRNA génu. Sekvencie získané od ľudí sa navzájom zhodovali, rovnako aj sekvencie získané od psov. Avšak porovnanie sekvencií *Tannerella forsythia* o veľkosti 620 bp od ľudí a od psov preukázalo odlišnosť v 10 nukleotidoch.

Záver: Podarilo sa nám preukázať, že PCR reakcia na detekciu *Tannerella forsythia* je vhodná na použitie nie len u ľudí, ale aj u psov. Sekvenovaním sa potvrdila špecifickosť PCR reakcie. Zistili sme, že sú isté odlišnosti medzi ľudskými a psími *Tannerella forsythia*, čo v ďalšom skúmaní pomocou genotypizácie môže poslúžiť na sledovanie možného prenosu zo psov na ľudí.

Podakovanie: Táto publikácia vznikla vďaka podpore vedeckej grantovej agentúry VEGA č. 1/0788/19.

P 26. Možnosti zvýšení produkce PHA u cyanobakterií

Z. Šedrllová (1), E. Slaninová (1), I. Fritz (2), C. Daffert (2), S. Obruča (1)

(1) Fakulta chemická, Vysoké učení technické, Brno Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, CZ

(2) University for Natural Resources and Life Sciences, IFA-Tulln, Konrad Lorenz Str. 20, 3430 Tulln, A

Cyanobakterie (sinice) jsou prokaryotické autotrofní organismy disponující oxýgenní fotosyntézou. Sinice produkují širokou škálu sekundárních metabolitů jako jsou různé biologicky aktivní látky, glykogen či polyhydroxyalkanoáty (PHA). Oproti heterotrofním bakteriím sinice nevyžadují organický zdroj uhlíku, jelikož pro syntézu PHA vyžadují pouze CO₂ a světlo. PHA u sinic zaujímá primárně roli zásobní látky, kdy se vyskytuje v podobě intracelulárních granulí. Pravděpodobně pomáhá sinicím také přežívat stresové podmínky, kdy dochází k intenzivní tvorbě polymeru. PHA, jsou mikrobiální biopolymery, které se v buňkách nachází v podobě intracelulárních granulí. Fyzikálně-chemické vlastnosti PHA jsou srovnatelné s petrochemickými plasty, na rozdíl od nich jsou však PHA zcela biodegradabilní. Produkce PHA je finančně náročná, ke snížení výrobní ceny přispívá využití odpadních produktů jako vstupního materiálu, který slouží jako zdroj energie a uhlíku pro heterotrofní bakterie. Tato práce představuje stresové podmínky, které vedly k nejvyšším získaným výnosům PHA v cyanobakteriální kultuře dvou zástupců rodu *Synechocystis*. V práci byla využita kultivace v trubicovém multikultivátoru společně s kultivací v Erlenmayerových baňkách. Za přítomnosti stejných prekurzorů PHA o stejné koncentraci bylo kultivací v multikultivátoru dosaženo 1,6x vyššího výnosu PHA v porovnání s kultivací v baňkách. Nejvyšší hodnota tak dosáhla 25 % obsahu PHA v cyanobakteriální biomase. Při kultivaci PCC 6803 s prekurzorem pro 4HB byl získán kopolymer 3HB:4HB složený z 56 % 4HB a 44 % 3HB. Celkový obsah PHA v kultuře byl výrazně nižší a stejně tak i množství biomasy, jelikož samotný prekurzor γ -butyrolakton je mírně toxický.

Tato práce byla finančně podpořena projekty GA19- 19-29651L České grantové agentury (GAČR) a Austrian Science Fund (FWF), project I 4082-B25. Zuzana Šedrllová je Stipendista programu Brno Ph.D. Talent – financuje statutární město Brno.

P 27. Nové možnosti ochrany proti klíšťatům

S. Ševelová (1), H. Nejezchlebová (1), D. Novák (2), A. Žáková (1)

(1) Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta MU, Brno, CZ;

(2) Ústav lékařské chemie a biochemie, Lékařská fakulta UP, Olomouc, CZ;

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

Úvod: Mezi hematofágními členovci, kteří ohrožují zdraví obyvatel v ČR, zaujímá klíště obecné (*Ixodes ricinus* L.) první místo. Podle dat z r. 2019 je ČR zemí s nejvyšším absolutním počtem hlášených případů klíšťové encefalitidy v EU. Kromě toho, že k. obecné je hlavním přenašečem virového původce této encefalitidy u nás, je také hlavním přenašečem bakterií *Borrelia burgdorferi* sensu lato – původců lymeské borreliózy. Průměrně je hlášeno 781 případů klíšťové encefalitidy v ČR za rok, v případě borreliózy je to 4179 případů (statistika za poslední 3 roky dle údajů Státního zdravotního ústavu). Dále klíšťata přenášejí i jiné medicínsky významné mikroorganismy. Je tedy třeba se před klíšťaty chránit, např. s využitím repelentů.

Metodika: Byly provedeny *in vitro* testy repelentní účinnosti esenciálních olejů z rostlin kurkuma dlouhá a kurkuma žlutokořená (zázvorovitě). Testy byly provedeny na nymfách klíštěte obecného. Ty byly pro účely experimentu odchyceny ve volné přírodě. Nymfy jsou stádiem klíštěte, které je v přírodě nejhojnější. *In vitro* testy byly provedeny v čase 120-150 minut od aplikace olejů na testovací aparaturu.

Výsledky: Při použití koncentrace 0,5 mg/cm² jsme prokázali vyšší repelentní účinek u k. žlutokořenné (repelentní účinek > 80 %), při koncentraci 0,8 mg/cm² u k. dlouhé (repelentní účinek > 80 %). Koncentrace produktu tedy signifikantně působí na počty odpuzených klíšťat rozdílně u k. dlouhé a k. žlutokořenné (Anova, p=0,005).

Závěr: Naše dřívější experimenty ukázaly, že repelentní účinnost testovaných druhů kurkumy při koncentracích 0,005 a 0,01 mg/cm² není optimální, i když testy byly provedeny bezprostředně po nanesení testovaných látek. Proto byla testovaná koncentrace navýšena na 0,5 a 0,8 mg/cm² a test proběhl až v čase 120-150 min. po nanesení produktu, neboť u repelentů je požadován dlouhodobější repelentní účinek. Při daných koncentracích je lze považovat za nadějně kandidáty na repelenty. Jedná se o další studii, která mapuje možnosti využití přírodních látek jako odpuzovačů klíšťat a přináší naději pro jejich praktické uplatnění.

Podpořeno ze Specifického výzkumu MUNI/A/1403/2020.

P 28. Látky inhibujúce vírus SARS-CoV-2

M. Štefanik (1,2*), P. Strakova (1,3), J. Haviernik (1,3), D. Ruzek (1,3), L. Eyer (1,3)

(1) Oddělení infekčních chorob a preventivní medicíny Výskumný ústav veterinárního lékařství, Brno, CZ

(2) Ústav chemie a biochemie, Mendelova univerzita v Brně, CZ

(3) Parazitologický ústav, Biologické centrum AV ČR, v. v. i., České Budejovice, CZ

(*) Korešpondenčný autor

Úvod: Vírus SARS-CoV-2 (ťažký akútny respiračný syndróm) spôsobujúci ochorenie Covid-19 bol potvrdený u viac ako 160 miliónov ľudí a spôsobil úmrtie u viac ako 3 300 000 z nich. Tento nový koronavírus bol po prvý krát identifikovaný v decembri 2019 vo Wuhane v Číne, pandémie bola vyhlásená 11 marca 2020. V súčasnosti prebiehajú snahy o identifikáciu možných inhibítorov voči Sars-Cov-2. Tieto snahy je možné rozdeliť na 2 okruhy: 1, látky, ktoré sú už v klinickej praxi a využívajú sa na liečbu iných ochorení a 2, experimentálne látky, ktoré sú využívané vo výskume. Aktuálne sa v liečbe využívajú hlavne protilátkové terapie (monoklonálne protilátky, hyperimúnne séra) a remdesivir.

Metodika: Na Vero bunecnej kultúre sme potvrdili inhibičný účinok diphyllinu, cleistanthinu B, efavirenu, tipranaviru a dasabuviru pomocou plakovej titrácie vírusu a fluorescenčnej mikroskopie. Cytotoxický účinok látok na bunecnú kultúru bol charakterizované pomocou Cell Counting Kit-8 (CCK-8).

Výsledky: Antivírusová aktivita dasabuviru, tipranaviru a efavirenu bola preukazná v 50 μM koncentrácii in vitro na Vero bunecnej kultúre. S konfirmáciou za použitia fluorescenčnej mikroskopie. Najslabší inhibičný účinok bol pozorovaný v prípade tipranaviru, naopak najsilnejší inhibičný účinok sme pozorovali u dasabuviru. V prípade diphyllinu a cleistanthinu B sme pozorovali robustnejšiu inhibičnú aktivitu, preto boli tieto látky detailnejšie charakterizované za použitia EC_{50} (polovičná maximálna efektívna koncentrácia) 1,92 a 6,51 μM . Dasabuvir, tipranavir, diphyllin a cleistanthin B neboli toxické do 100 μM koncentrácie, efavirenz v 100 μM vykazoval toxický účinok na bunecnú kultúru.

Záver: Úspešne sme identifikovali 5 inhibítorov SARS-CoV-2, z toho 3 sa používajú v klinickej praxi na liečbu vírusových ochorení hepatitídy typu C (HCV) a vírusu ľudskej imunodeficiencie (HIV): (dasabuvir-HCV; efavirenz a tipranavir – HIV). Mechanizmus účinku voči SARS-CoV-2 je u týchto látok neznámy. V prípade diphyllinu a cleistanthinu B sa jedná o inhibítory V-Atpázy, čo znamená inhibíciu pH-závislej fúzie vírusových proteínov s povrchom endozomálnej membrány. Tieto látky bránia okysleniu vnútorného prostredia endozómu a tým účinne inhibujú replikáciu širokého spektra vírusov.

P 29. Rozdiel účinku rifampicínu na staticky a dynamicky kultivovaný biofilm

M. Valtrová (1), D. Kleknerová (1), Z. Kellar Tučeková (2), F. Růžička (1)

(1) Mikrobiologický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u svaté Anny v Brně, Pekařská 53, Brno, ČR

(2) Ústav fyzikální elektroniky, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářska 2, Brno, ČR

Prevládajúcim spôsobom života mikroorganizmov je ich súžitie vo forme biofilmu. Ide o pomerne zložitú štruktúru buniek, ukotvených v extracelulárnej polymérnej matrix (EPM), ktorá tvorí väčšinu štruktúry a vďaka ktorej je biofilm prichytený k povrchu. Výskyt baktérií vo forme biofilmu býva prospešný, napr. ako súčasť mikrobiómu slizníc, kde slúži ako ochrana pred patogénmi alebo v prípade priemyslových aplikácií (čistenie odpadných vôd). Väčšinou však baktérie schopné tvoriť biofilm predstavujú veľký problém, najmä pri liečbe bakteriálnych infekcií. Biofilmové infekcie sú zodpovedné za najmenej dve tretiny všetkých infekcií a vykazujú silnú rezistenciu ku klasickej antibiotickej liečbe. Ďalším problémom je kolonizácia zdravotníckych pomôcok a zariadení zavedených priamo do ľudského tela, ako sú kľbové náhrady, umelé srdcové chlopne, katétre, kanyly apod.

Schopnosť tvoriť biofilm má množstvo bakteriálnych druhov. Jedným z nich je i *Staphylococcus aureus*, ktorý je pôvodcom hnisavých abscesov a spôsobuje závažné komplikácie pri infekciách krvného riečiska vedúce až k systémovým ochoreniam ako je osteomyelitída alebo endokarditída.

Pre priblíženie sa podmienkam rastu bakteriálneho biofilmu sa táto práca zamerala na porovnanie účinku rifampicínu na biofilm kultivovaný za rôznych podmienok. V rámci dynamickej kultivácie išlo o metódu prietokovej komôrky. Výhodou je možnosť priameho mikroskopického pozorovania tvorby biofilmu a ľahká kontrola a ovládanie podmienok kultivácie. U statickej kultivácie bola využitá metóda kultivácie na mikrotitračnej doštičke.

Vďaka kvantifikácii biofilmu vytvoreného na povrchu diskov mohol byť porovnaný účinok pôsobenia rifampicínu na biofilm *S. aureus* kultivovaný staticky aj dynamicky. Bolo zistené, že v prípade pôsobenia rifampicínu s koncentráciou 1,25 mg/ml je úbytok biofilmu kultivovaného v prietokovej komôrke približne vyšší než v prípade statickej kultivácie na doštičke. Pri vyššej koncentrácii rifampicínu (5 a 2,5 mg/ml) nebol zaznamenaný výraznejší rozdiel v úbytku biofilmu medzi statickou a dynamickou kultiváciou.

Podakovanie: Táto práca vznikla vďaka grantovej podpore Ministerstva zdravotníctví ČR AZV NU20-05-00166 a Grantovej agentúry Masarykovej univerzity (GAMU) MUNI/A/1486/2020.

Seznam prvních autorů:

Prezentující autor	Číslo stránky	Prezentující autor	Číslo stránky
Ambro L.	34	Lencová S.	21
Bláhová M.	10	Lenhartová S.	49
Branýšová T.	11	Mašek J.	22
Cverenkárová K.	12	Melnikov K.	50
Černayová D.	35	Nayab K.	23
Dlapová J.	36	Ondřejková E.	24
Hambalko J.	13	Pápayová K.	51
Hanišáková N.	14	Pittermannová P.	25
Hladík M.	37	Polozsányi Z.	52
Hodoši R.	38	Raška F.	53
Holoubek J.	39	Rebrošová K.	54
Hriňová K.	40	Siváková A.	26
Chatrná V.	41	Směliková E.	55
Javorová R.	42	Snopková K.	56
Juračka S.	15	Sondorová M.	57, 58
Kačířová J.	43	Šedrlová Z.	59
Kalocsaiová	44	Ševelová S.	60
Kamlárová A.	45	Šilhárová D.	27
Kapustová M.	46	Štefánek M.	28
Kašpárková N.	47	Štefánik M.	61
Kendra S.	16	Toporová A.	29
Kohoutová A.	17	Urbaníková V.	30
Koňuchová M.	48	Vacek L.	31
Kouřilová M.	18	Valtrová M.	62
Krahulcová M.	19	Vašík P.	32
Langová D.	20	Víglaš J.	33

Tomáškovy dny 2021
XXX. konference mladých mikrobiologů

Mgr. Lukáš Vacek (ed.)
Mgr. Dominika Kleknerová (ed.)

Vydala Masarykova univerzita,
Žerotínovo nám. 617/9, 601 77 Brno
1. elektronické vydání, 2021

ISBN 978-80-210-9882-4
<https://doi.org/10.5817/CZ.MUNI.P210-9882-2021>

MUNI
PRESS

MUNI
MED