

Workshop: "Aspekty rezistencie prokaryotických a eukaryotických buniek"

26. – 29.6. 2024, Tatranská Lomnica



ZBORNÍK ABSTRAKTOV

Organizácia:



V spolupráci:



Tento zborník bol vytvorený v spolupráci: Helena Bujdáková, Kristína van der Ploeg, Katarína Bilská a Jarmila Czucz Varga.

Zborník abstraktov redigovali a recenzovali: doc. Renáta Karpíšková, PhD.; doc. RNDr. Katarína Šoltys, PhD. a prof. MUDr. Filip Růžička, PhD.

Zborník abstraktov neprešiel jazykovou úpravou. Vydala Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta v spolupráci s Československou mikrobiologickou spoločnosťou, Bratislava 2024 ako Zborník abstraktov z workshopu „Aspekty rezistencie prokaryotických a eukaryotických buniek“.

ISBN 978-80-973411-6-9



Organizačný výbor workshopu:

Petra Olejníková
Helena Bujdáková
Kristína van der Ploeg
Barbora Radochová
Jaroslava Dekkerová
Larysa Bugyna
Jarmila Czucz Varga
Katarína Bilská
Samuel Kendra

Obsah

PREDNÁŠKY PROJEKTOV	2
PREZENTÁCIE VÝSLEDKOV	9
TECHNICKÉ NÁLEŽITOSTI PROJEKTOV	25

*Workshop "Aspekty rezistencie prokaryotických a eukaryotických buniek"
26. – 29.6. 2024, Tatranská Lomnica*

PREDNÁŠKY PROJEKTOV

LIEKOVÁ REZISTENCIA LEUKEMICKÝCH BUNIEK AKO DÔSLEDOK ZMIEN V EXPRESII RÔZNYCH PROTEÍNOV.

Zdena Sulová¹, Albert Breier¹ a kol.

¹*Centrum biovied SAV, v.v.i., Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky, Dúbravská cesta 9,
840 05 Bratislava*

²*Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Ústav biochémie a mikrobiológie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava*

albert.breier@stuba.sk

Rezistencia na viaceré lieky je jedným z hlavných problémov pri liečbe leukémie, pretože výrazne znižuje účinnosť liečby a zhoršuje prognózu pacientov. Tento jav je často výsledkom komplexných molekulárnych mechanizmov vrátane zmien v expresii rôznych proteínov. V tejto prednáške sa zameriame na gény kódujúce proteíny zabezpečujúce I. II. a III. fázu detoxikácie, a v leukemických bunkách môžu indukovať viacliekovú rezistenciu. Tieto proteíny zahŕňajú cytochrómy P450, konjugačné enzýmy a transportéry liečiv z rodiny ABC (ATP-binding cassette).

Ďalej rozoberieme vzťah medzi rezistenciou na lieky v leukemických bunkách a ich odpoveďou na stres endoplazmatického retikula. Zaujímavé je, že rezistencia na lieky môže zahŕňať zmeny v regulácii dráhy latrofilín-1/Tim-3/galectin-9, ktorá môže leukemickým bunkám umožniť vyhnúť sa eliminácii imunitným systémom. Okrem toho bude charakterizovaná bunková rezistencia na demetylačné látky schválené na liečbu akútnej myeloidnej leukémie.

Podľa súčasných poznatkov je viaclieková rezistencia výsledkom kombinácie viacerých génových mutácií, epigenetických zmien a fenotypových reakcií na chemoterapiu. Tieto faktory spolu vytvárajú komplexnú mozaiku s prvkami jedinečnosti v jednotlivých prípadoch.

ANTIMIKROBIÁLNE POVRCHY NA BÁZE NANOKOMPOZITOV POLYMÉROV

Bujdák Juraj^{1,2}

¹*Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra fyzikálnej
a teoretickej chémie, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava*

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

juraj.bujdak@uniba.sk

Nanokompozity polymérov predstavujú široké spektrum moderných materiálov využívaných v rôznych aplikáciách. Posledné roky sa dostali do popredia kompozity s antimikrobiálnym povrchom, v ktorých vystupujú vrstevnaté nanočastice silikátov. Na základe interakcií silikátov a povrchov nanokompozitov s bunkami a okolím môže prítomnosť funkcionalizovaných nanočastíc ovplyvňovať prežívanie a rast buniek. Silikáty môžu byť efektívnymi nosičmi antimikrobiálnych molekúl, riadiť ich postupné uvoľňovanie z matrice polyméru, alebo zmeniť charakter povrchu kompozitu polyméru. Tieto faktory môžu viesť k významným antimikrobiálnym vlastnostiam materiálov. Prehľadná prednáška zosumarizuje hlavné spôsoby účinku týchto materiálov a predstaví najdôležitejšie výsledky získané v rámci minulých aj prebiehajúcich projektov. Súčasťou bude prezentácia ďalších stratégií vývoja efektívnych materiálov na základe už dosiahnutých míľnikov so zameraním na materiály s fotosenzibilizačnými vlastnosťami. Pomenujú sa jednotlivé etapy projektov zahŕňajúce vývoj funkcionalizovaných materiálov na báze vrstevnatých silikátov modifikovaných organickými fotosenzibilizátormi a ich využitie pre modifikáciu povrchov polymérov.

SMEROM K NANOTECHNOLÓGIÁM VYUŽÍVAJÚCIM BIOAKTÍVNE ČASTICE/MOLEKULY V BOJI PROTI MIKROBIÁLNYM BIOFILMOM

Bujdaková Helena¹, Bilská Katarína¹, Czucz Varga Jarmila¹, Kendra Samuel¹, Štefánek Matúš¹, Dekkerová Jaroslava¹, Walentín Tomáš¹, Bujdák Juraj^{2,3},

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

²Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra fyzikálnej a teoretickej chémie, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava

³Ústav anorganickej chémie SAV, Dúbravská cesta 9, 845 36 Bratislava

helena.bujdakova@uniba.sk

Téma projektu reflektuje súčasné vedecké výzvy a volí interdisciplinárny prístup v riešení vysokoaktuálnej problematiky mikrobiálnych biofilmov. Je zameraný na oblasti základnej a molekulárnej mikrobiológie v súvislosti so štúdiom prevencie, či eradikácie mikrobiálnych biofilmov pomocou novodizajnovaných hybridných materiálov. V projekte je biologický výskum úzko prepojený s rôznymi prístupmi z oblasti chémie nanomateriálov. Hlavným predmetom štúdia sú mnohodoruhové biofilmy, a to nielen bakteriálne, ale aj kvasinkové a ich vzájomné kombinácie, čo reálne odráža ich význam v zastúpení biofilm-asociovaných infekcií. Ide hlavne o baktérie zo skupiny ESKAPE, *Escherichia coli*, ako aj zástupcov kvasiniek z rodu *Candida*. Modernými mikrobiologickými prístupmi sa sleduje tvorba biofilmov, vzájomné medzidruhové interakcie vrátane úlohy *quorum sensing* molekúl v týchto procesoch, ale aj účinnosť bioaktívnych partikul/molekúl v prevencii a eradikácii biofilmov. Ako aktívne substancie sa testujú hybridné materiály založené na anorganických vrstevnatých nanočasticiach v úlohe nosičov aktívnych organických bioaktívnych molekúl, najmä fotosenzibilizátorov. Študujú sa účinky fotoaktívnych látok, ako metylénová modrá, floxín B a erytrozín na biofilmy zmienených mikroorganizmov. Pokračuje sa aj v štúdiu expresie génov kódujúcich faktory virulencie, ktoré sú významné počas adhérencie. V nasledujúcom období sa predpokladá aj široké zapojenie *in vivo* modelu *G. mellonella*, a to nielen z hľadiska testovania toxicity jednotlivých zložiek nanomateriálov, ale aj podrobnejšieho štúdia odpovede *G. mellonella* na infekciu zmiešanými biofilmami, prípadne aj počas terapie bioaktívnymi molekulami formou zmeny expresie génov pre antimikrobiálne peptidy a z hľadiska analýzy haemocytov. Pokračovať sa bude aj v optimalizácii navrhnutých nanomateriálov na báze saponitu a floxínu B. Na charakterizáciu materiálov sa využijú rôzne pokročilé metódy na fyzikálno-chemickú charakterizáciu povrchov, fotoaktivity, fotochemických a fotofyzikálnych vlastností.

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

Rezistencia voči echinokandínom - je mutácia v „hot spot“ regióne *fks* postačujúca?

Petra Olejníková, Terézia Vaclavíková, Ján Víglas

¹Ústav Biochémie a Mikrobiológie, FCHPT STU, Radlinského 9, 81237 Bratislava

petra.olejnikova@stuba.sk

Echinokandíny sú moderné antifungálne látky objavené v 70-tych rokoch minulého storočia. Prvým účinným echinokandínom bol echinokandín B, sekundárny metabolit zo skupiny neribozomálnych peptidov produkovaný *Aspergillus rugulosa*. Ďalší výskum a semisyntetická modifikácia umožnili pripraviť deriváty s vyššou stabilitou, účinnosťou, rozpustnosťou a lepšimi farmakologickými vlastnosťami. V súčasnosti sa v klinickej praxi využívajú tri účinné štruktúry - kaspofungín, mikafungín a anidulafungín. Aj keď sa echinokandíny používajú na liečbu kvasinkových infekcií, nie je neobvyklé, že sa využijú aj na liečbu aspergilózy najmä v prípadoch, keď sa potvrdí rezistencia *A. fumigatus* voči azolom. Veľkou devízou echinokandínov je ich nízka toxicita, pretože pôsobia ako inhibítory enzýmu β -1,3-D-glukósyntázy (FKS), ktorý je zodpovedný za syntézu dôležitej zložky bunkovej steny fungálnych buniek. Napriek zriedkavejšiemu využívaniu echinokandínov v klinickej praxi sme svedkami výskytu rezistentných kmeňov (najmä kvasiniek). Dôvodom rezistencie voči echinokandínom sa uvádzajú mutácie v tzv. "hot spot" regiónoch *fks* génu. V literatúre sa v posledných rokoch objavujú aj príklady rezistentných izolátov, ktoré nemajú potvrdenú mutáciu v *fks*, no napriek tomu vykazujú rezistenciu voči niektorým z echinokandínov. Odhalený nový mechanizmus rezistencie nás viedol k sledovaniu účinku a indukcie adaptívnej odpovede vláknitej huby *Neurospora crassa*, ktorá má potvrdenú mutáciu v *hot spot* regióne *fks* a vykazuje na echinokandíny určitý stupeň tolerancie. Naše výsledky ukázali, že napriek mutácii v *fks* vláknitá huba zapája konzervované adaptačné mechanizmy. Účinok echinokandínov sa prejaví typickým oslabením bunkovej steny rastových vrcholkov, čo vedie k poškodeniu apikálnych častí hýf. Transkriptomická analýza odhalila viacero génov indukovaných stresovými podmienkami, reprezentujúcich odpoveď vláknitej huby na prítomnosť echinokandínov.

ŠTÚDIUM FARMACEUTICKÝCH LÁTOK AKO POTENCIÁLNYCH LIEČIV S IMUNOMODULAČNÝMI VLASTNOSŤAMI

Nováková Eva^{1,2,3}, Zima Jozef², Mikušová Veronika², Šupolíková Miroslava^{1,2}

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

²Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra galenickej farmácie, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava 3

³Biomedicínske centrum SAV, v.v.i., Virologický ústav, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava

miroslava.supolikova@uniba.sk; eva.novakova@uniba.sk

Liečba imunodeficiencie a ochorení spájaných s imunodeficienciou (onkologické ochorenia, chronické bakteriálne a vírusové ochorenia) predstavuje v súčasnosti komplexný problém, na ktorom sa podieľajú viaceré medicínske odbory. Rakovina sa dá liečiť rôznymi prístupmi, chirurgicky, pomocou chemoterapie, rádioterapie, hormonálnej terapie, cielenej terapie a v poslednej dobe pomocou imunoterapie, ktorá patrí medzi najmodernejšie terapeutické prístupy. Preto sme sa v našej štúdiu zamerali na farmakologické možnosti ovplyvnenia funkčnosti imunity prostredníctvom modulácie tvorby signálnych proteínov aktivujúcich makrofágy. Viaceré imunoterapeutické prístupy podporil objav špecifického sérového Gc-globulínu, alebo tiež vitamín D transportného proteínu so schopnosťou konverzie na špecifický globulínový komponent aktivačného faktora makrofágov (GcMAF). Fyziologicky GcMAF pôsobí ako signálny glykoproteín aktivujúci makrofágy, inhibuje angiogénu a pôsobí tumoricídne [1]. Cieľom našich experimentov je štúdium účinkov liečivých látok zo skupiny glykozaminoglykánov a sulfátovaných heteropolysacharidov [2, 3]. Výskum je zameraný na antiproliferatívny, protinádorový a imunomodulačný účinok týchto látok. Pôsobenie účinkov nami študovaných liečivých látok, nízkomolekulárneho chondroitín sulfátu a fukoidanu v podmienkach *in vivo*, je vo zvýšení tvorby GcMAF prostredníctvom inhibície aktivity enzýmu N-acetyl-galaktosaminidázy (nagalázy), vytváraného nádorovými bunkami a bunkami infikovanými vírusmi. Výsledkom pôsobenia nagalázy je imunodeficit vedúci k chronickým ochoreniam. Farmakologická inhibícia aktivity nagalázy môže viesť k odstráneniu imunodeficientných stavov sprevádzajúcich onkologické a vírusové ochorenia [4].

[1] Nabeshima Y., Abe C., Kawauchi T. et al. Simple method for large-scale production of macrophage activating factor GcMAF. *Sci Rep.* 10(1):19122, 2020.

[2] Benito-Arenas R., Zárate S.G., Revuelta J. et al. Chondroitin Sulfate-Degrading Enzymes as Tools for the Development of New Pharmaceuticals. *Catalysts* 9 (4): 322, 2019.

[3] Bakunina I., Chadova O., Malyarenko O. et al. The Effect of Fucoidan from the Brown Alga *Fucus evanescence* on the Activity of α -N-Acetylgalactosaminidase of Human Colon Carcinoma Cells. *Mar Drugs* 16(5):155, 2018.

[4] Thyer L., Ward E., Smith R. et al. GC protein-derived macrophage-activating factor decreases α -N-acetylgalactosaminidase levels in advanced cancer patients. *Oncoimmunology.* 2(8):e25769, 2013.

Pod'akovanie: Tento výskum bol podporený VEGA MŠVVaM SR v projekte VEGA 1/0146/23.

MOŽNOSTI MODULÁCIE ÚČINNOSTI ANTIMYKOTÍK POUŽITÍM RASTLINNÝCH DEFENZÍN

Nora Tóth Hervay¹, Daniel Eliaš¹, Michaela Handlovská¹, Simona Mačugová¹, Yveta Gbelská¹

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

nora.toth@uniba.sk

Infekcie spôsobované patogénnymi kvasinkami predstavujú jeden z vážnych celosvetových problémov. Zvýšený výskyt kmeňov z rodu *Candida*, ktoré sú rezistentné voči azolom, sa v posledných desaťročiach značne zvýšil. Sľubnou stratégiou na zvýšenie účinnosti existujúcich antifungálnych liečiv je identifikácia nových látok, ktoré majú s liečivom synergický účinok, a tak dokážu zvýšiť účinnosť antimykotík. Katechíny sú organické zlúčeniny, ktoré sú zaradené medzi flavonoidy resp. medzi flavany. Sú to silné antioxidanty a nachádzajú sa v zelenom čaji, víne, v kakaových výrobkoch, zelenine a v mnohých iných potravinách [1]. Antioxidačné vlastnosti katechínov spočívajú v ich schopnosti vychytávať reaktívne formy kyslíka (ROS) v bunke a indukovať antioxidačné enzýmy [2].

Cieľom nášho projektu bol analyzovať účinky komerčne podávaných azolov a polyénu amfotericínu B v kombinácii s potenciálnymi rastlinnými látkami na bunky rôznych druhov patogénnych kvasiniek z rodu *Candida*. Z výsledkov sledovania rastu a prežívania kvasiniek rodu *Candida* vyplýva, že katechín už v kombinácii s nižšími koncentraciami antimykotík inhibuje rast sledovaných kmeňov. Sledovanie ustálenej anizotropie použitím fluorescenčných sond DPH a TMA-DPH preukázala, že po pôsobení katechínu dochádza k zmene vo fluidite membrán kvasiniek *C. glabrata*. Pomocou RT-PCR sme potvrdili zníženú expresiu génu pre ABC-transportnú pumpu Cdr1p. Stanovením rýchlostnej konštanty efluxu rhodamínu 6G z kvasiniek *C. glabrata* sme dokázali, že v prítomnosti katechínu dochádza k zníženej aktivite efluxných púmp. Po inkubácii buniek kvasiniek v prítomnosti katechínu sme zaznamenali zvýšenú tvorbu reaktívnych foriem kyslíka.

Získané výsledky naznačujú, že katechíny vykazujú antimikrobiálny účinok aj proti kvasinkám z rodu *Candida*.

[1] Aboody M. A Mickymaray S. Anti-Fungal Efficacy and Mechanisms of Flavonoids. *Antibiotics*, 9(2), 45, 2020

[2] Bernatoniene J. A Kopustinskiene D. M. The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress. *Molecules*. 23(4):965, 2018

Podakovanie: Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-19-0094 a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projektoch VEGA 1/0697/18 a VEGA 1/0388/22.

Workshop "Aspekty rezistencie prokaryotických a eukaryotických buniek"
26. – 29.6. 2024, Tatranská Lomnica

PREDNÁŠKY

VPLYV FOTOAKTÍVNEHO NANOMATERIÁLU NA EXPRESIU VYBRANÝCH GÉNOV *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Bilská Katarína¹, Bujdák Juraj^{2,3}, Bujdáková Helena¹

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

²Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra fyzikálnej a teoretickej chémie, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava

³Ústav anorganickej chémie SAV, Dúbravská cesta 9, 845 36 Bratislava

bilaska6@uniba.sk

Nanomateriály s hybridnými vrstvami obsahujúce fotoaktívne látky môžu byť efektívne pri eradikácii bakteriálnych biofilmov na medicínskych pomôckach. Gram-pozitívna baktéria *Staphylococcus aureus* je častým pôvodcom biofilmov, ktoré sťažujú liečbu pacientov. Problematické sú najmä meticilín-rezistentné kmene (MRSA) a kmene s aktívnym efluxným systémom, čo vedie k rezistencii k ďalším bežne používaným antibiotikám, ako sú fluorochinolóny. Cieľom tejto štúdie bolo otestovať účinnosť nanomateriálov založených na polyuretáne (PU) obsahujúcich floxín B ako fotosenzitizér na MRSA kmene s aktívnym efluxným systémom. Pri experimentoch bol použitý štandardný kmeň *S. aureus* CCM3953 a MRSA kmene *S. aureus* L12 a S61. Účinnosť materiálu na 24 h biofilm bola testovaná podľa Dadi et al. 2021 [1] a bola vyhodnotená v KTJ/ml. Ďalšia časť práce sa venovala charakterizáciou zmeny expresie génov pomocou RT-qPCR, konkrétne išlo o gény *norA* a *norB*, kódujúce efluxné pumpy zodpovedné za rezistenciu voči fluorochinolónom a gény kódujúce adhezín PIA (operón *icaADBC* a regulátor *icaR*) dôležitý pre tvorbu biofilmu *S. aureus*, na nanomateriáli pred a po ožiarení zeleným laserom. Testovaný materiál ukázal inhibíciu po ožiarení zeleným laserom viac ako 1 000-násobne pre MRSA kmeň L12 a viac ako 10 000-násobne pre kmene CCM a S61 v porovnaní s kontrolou na čistom PU. Zmena expresie génov bola pozorovaná pri kmeni S61, pričom došlo k zvýšeniu expresie génu *norA* po ožiarení takmer trojnásobne oproti kontrole na PU. Testované kmene CCM a L12 nezmenili expresiu *norA* pred ani po ožiarení. Gény *norB*, *icaA* a *icaR* nezmenili expresiu po ožiarení pri žiadnom testovanom kmeni. Materiály založené na fotoaktivite môžu byť vhodnou efektívnou cestou na vývoj nových komplexných nanomateriálov s rôznym využitím v medicíne.

[1] Dadi N. C. T., Bujdák J., Medvecká V., Páľková H., Barlog M., Bujdáková H. Surface Characterization and Anti-Biofilm Effectiveness of Hybrid Films of Polyurethane Functionalized with Saponite and Phloxine B. *Materials* (Basel). 14(24): 7583, 2021.

Podakovanie: Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-21-0302, APVV-22-0150, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0240/23 a GUKE UK/3101/2024.

ANTIMIKROBIÁLNA FOTODYNAMICKÁ INAKTIVÁCIA BAKTÉRIE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* POUŽITÍM ERYTROZÍNU B

Bugyna Larysa¹, Bilská Katarína¹, Pribus Marek², Bujdák Juraj^{2,3}, Bujdáková Helena¹

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

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

³Department of Physical and Theoretical Chemistry, Faculty of Natural Sciences, 6, Ilkovičova, Bratislava, 84215, Slovak Republic

larysa.bugyna@uniba.sk

Erytrozín B (EryB), červené xanténové farbivo, získalo pozornosť ako potenciálny fotosenzibilizátor schopný inhibovať Gram-pozitívne baktérie, ako napríklad *Staphylococcus aureus* a jeho biofilmy. Táto štúdia sa venuje fotoaktívnym vlastnostiam EryB a študuje efektivitu materiálu založeného na polyuretáne (PU) s nanokompozitom zloženým zo saponitu (SAP) modifikovanom poly (dialyldimetylamóniovými) kationmi (PDDAC) a funkcionalizovaný s EryB. Všetky experimenty boli urobené so štandardným kmeňom *S. aureus* CCM 3953 v Mueller-Hinton médiu. V preliminárnych experimentoch boli testované rôzne koncentrácie EryB (0.01 mM, 0.05 mM, 0.1 mM) na planktonických bunkách. Vzorky boli ožiarené zeleným laserom ($\lambda = 532$ nm, 100 mW; čas ožarovania 120 s, 10 min) a so zeleným LED svetlom (2.42 mW cm⁻²; čas ožarovania 1.5 h). Výsledky boli vyhodnotené výpočtom kolóniu-tvoriacich jednotiek (KTJ/ml). Na testovanie 24-h biofilmu *S. aureus* bola vybraná koncentrácia 0.05 mM EryB. Najväčší inhibičný efekt na rast planktonických buniek a buniek biofilmu mala koncentrácia 0.05 mM EryB, pričom dochádzalo k 10 000-násobnej redukcii prežívania buniek po použití zeleného LED svetla (1.5 h) aj zeleného lasera (120 s) v porovnaní s kontrolou bez EryB. Bol pozorovaný aj inhibičný efekt EryB na planktonické a biofilmové bunky bez ožiarovania, pričom prežívanie buniek bolo inhibované 100-násobne v porovnaní s kontrolou bez EryB. PU modifikovaný hybridným filmom funkcionalizovaný EryB dosiahol efekt približne 10 000- a 1 000-násobnej redukcii v biofilme po iradiácii zeleným LED svetlom a zeleným laserom. Výsledky ukázali že nanokompozity s fotoaktívnou látkou EryB vykazujú významnú inhibíciu *S. aureus*, výrazne zvýšenú po ožiarení. Tento inovatívny nanokompozit predstavuje sľubný spôsob pre ďalšie štúdie vzhľadom na potenciál polymérov pre rôzne aplikácie, najmä v zdravotníctve, vyžadujúcich špecifické povrchové vlastnosti.

Podakovanie: Tento výskum bol podporený EU's Next Generation EU cez Plán obnovy a odolnosti Slovenskej republiky s číslom projektu 09I03-03-V01-00105, Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-21-0302 a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projektoch VEGA 1/0484/24 a VEGA 1/0240/23.

VPLYV VYBRANÝCH MIKROPLASTOV NA VÝVOJ A ŠÍRENIE BAKTERIÁLNEJ REZISTENCIE VOČI ANTIBIOTIKÁM

Cverenkárová Klára¹, Olejníková Petra², Mackuľak Tomáš³, Bírošová Lucia¹

¹Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Oddelenie výživy a hodnotenia kvality potravín, Radlinského 9, 81237 Bratislava

²Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Ústav biochémie a mikrobiológie, Radlinského 9, 81237 Bratislava

³Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Oddelenie environmentálneho inžinierstva, Radlinského 9, 81237 Bratislava²

klara.cverenkarova@stuba.sk

Mikroplasty sú novodobé kontaminanty a ich výskyt bol zaznamenaný takmer všade. Ich malé rozmery im umožňujú kontakt s baktériami. V tejto práci sme skúmali mutagenitu mikroplastov a ich výluhov voči *Salmonella* Typhimurium z hľadiska genotoxicity a vzniku rezistenciu voči ciprofloxacínu. Ďalej sme sledovali toxicitu modelových mikroplastov voči larvám *Galleria mellonella*, adsorpciu plazmidovej DNA na mikroplasty a tvorbu biofilmu na mikroplastoch 5 rôznymi bakteriálnymi izolátmi. V experimentoch boli použité modelové mikroplasty z materiálov ABS, PLA, PLA/PHB, PVC, PET a papierenské trblietky z PET. U žiadneho zo sledovaných mikroplastov a výluhov sme nezaznamenali mutagénne účinky voči *S. Typhimurium* TA 98 alebo TA 100. Na vznik rezistencie voči ciprofloxacínu *S. Typhimurium* mali najvýraznejší vplyv PLA mikroplasty, ktoré zvyšovali mutačnú rýchlosť a frekvenciu mutácií 3-násobne oproti kontrole a výluhy z trblietok po 7 dňoch v odpadovej vode, ktoré 4,5-násobne zvyšovali mutačnú rýchlosť a frekvenciu mutácií. Adsorpcia plazmidovej DNA na čisté mikroplasty a mikroplasty 7 dní inkubované v odpadovej vode prebiehala v minimálnej miere. Kŕmenie zmesou krmiva a mikroplastov nespôsobovalo zvýšenú toxicitu voči larvám *Galleria mellonella*. Larvy boli schopné dokončiť svoj vývinový cyklus. Najsilnejšiu tvorbu biofilmu všetkými použitými izolátmi sme zaznamenali na PVC mikroplastoch. Výsledky ukazujú, že niektoré z nami použitých mikroplastov môžu mať vplyv na vznik mutácií voči ciprofloxacínu *S. Typhimurium* alebo môžu slúžiť ako miesto pre vytvorenie biofilmu, ktorý obsahuje aj baktérie rezistentné voči antibiotikám.

ÚČINNOSŤ FOTODYNAMICKEJ INAKTIVÁCIE V PRÍTOMNOSTI FOTOAKTÍVNEJ LÁTKY - FLOXÍNU B NA KVASINKY *CANDIDA ALBICANS*

Czucz Varga Jarmila¹, Bujdáková Helena¹

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

vargova301@uniba.sk

Kvasinka *Candida albicans* patrí medzi oportúnne patogény a je súčasťou ľudskej mikrobioty, pričom však vo forme biofilmu môže spôsobiť až život ohrozujúce infekcie. Rezistencia týchto biofilmov voči antifungálnym liečivám sa stáva celosvetovo čoraz väčším problémom, a preto sa hľadajú alternatívne metódy liečby, medzi ktoré sa zaraďuje aj fotodynamická inaktivácia (PDI – photodynamic inactivation).

Účinnosť floxínu B (PhB - phloxine B) v kombinácii s PDI bola testovaná na planktonických bunkách a 24-h biofilmoch tvorených štandardným kmeňom *C. albicans* SC 5314 a rezistentným klinickým izolátom *C. albicans* CCY 29-3-164, pričom sa použili rôzne koncentrácie PhB (1; 0,5; 0,1 a 0,05 mM), bunky sa predinkubovali s PhB 2-h a ožarovali zeleným laserom (65 mW/cm², λ 532 nm) po 2 min.

Výsledky preukázali výrazné zníženie prežívania planktonických buniek aj buniek biofilmov v prítomnosti 1 mM PhB pri štandardnom kmeni *C. albicans* SC 5314, kde po PDI preživalo 2,37 % a 16,67 % buniek. Pri klinickom izoláte *C. albicans* CCY 29-3-164 po PDI preživalo iba 26,22 % buniek biofilmu pri 0,5 mM PhB.

Z hľadiska rezistencie voči azolom sú dôležité efluxné pumpy Cdr1p a Mdr1p, pričom sa práca zamerala na sledovanie zmien expresie génov kódujúcich tieto transportéry, a to *CDR1*, *CDR2* a *MDR1* pred a po PDI. K zvýšenej expresii génov dochádzalo pri vzorkách po PDI, pričom pri *C. albicans* SC 5314 bola zvýšená expresia dosiahnutá pri géne *MDR1*, pri *C. albicans* CCY 29-3-164 pri *CDR1*, a *CDR2* pri oboch kmeňoch.

V snahe zvýšiť účinnosť PDI sa testovali antifungálne vlastnosti polyuretánového nanokompozitu opracovaného PhB, pričom sa zvýšil inhibičný účinok PDI, po ktorom preživalo pri štandardnom kmeni 11,26 % a rezistentnom klinickom izoláte 10,96% buniek. Výsledky tak potvrdili, že PDI možno považovať za atraktívnu metódu s veľkým potenciálom do budúcnosti.

PodĎakovanie:

Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-21-0302 a APVV-22-0150 a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0240/23 a grantu UK/3088/2024.

VERAPAMIL – POTENCIÁLNY INHIBÍTOR BIOFILMU A EFLUXNÝCH PÚMP KVASINIEK *CANDIDA ALBICANS*

Dekkerová Jaroslava¹, Černáková Lucia¹, Bujdáková Helena¹

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

jaroslava.dekkerova@uniba.sk

Verapamil je blokátor vápnikových kanálov a bežne sa používa v liečbe kardiovaskulárnych ochorení. Mnohé štúdie však naznačujú jeho potenciálne využitie aj v antifungálnej terapii, kde je opísaný jeho efekt v blokovaní efluxných púmp kvasiniek. Zvýšená expresia ABC efluxných transportérov je kľúčová v mechanizme rezistencie kvasiniek voči antifungálnym látkam, pričom použitie blokátorov týchto púmp samostatne alebo v kombinácii s konvenčnými antimykotikami sa zdá byť veľmi perspektívne aj v terapii biofilmov. V práci bola testovaná najskôr minimálna inhibičná koncentrácia verapamilu na planktonické bunky, ale aj na biofilm kvasiniek *Candida albicans* SC5314 a klinického izolátu *Candida albicans* CCY 29-3-164. Ďalej bol sledovaný účinok verapamilu na tvorbu biofilmu. Po pridaní verapamilu (8000 μ M) bola zistená redukcia kvantity biofilmu o približne 60% pre *C. albicans* SC5314 a 70% pre *C. albicans* CCY 23-3-164. Metabolická aktivita biofilmu bola tiež znížená o 90% pre kmeň SC 5314 a 85% pre klinický izolát CCY 29-3-164. Účinnosť verapamilu bola testovaná aj *in vivo*, použitím *Galleria mellonella* modelového organizmu. Po 72 h od infekcie lariev kvasinkami *C. albicans* SC5314 a *C. albicans* CCY 29-3-164 bolo pozorované zvýšené prežívanie lariev o približne 30% v skupine lariev, ktorým bol po infekcii podaný verapamil v prípade oboch testovaných kvasiniek. Ďalej bol testovaný efekt verapamilu na expresiu génov asociovaných s tvorbou biofilmu (*ALS3*, *HWPI*) a génov rezistencie (*CDR1*, *CDR2*). Použitím qPCR boli zistené zmeny v expresii pre obe testované kvasinky. Výsledky naznačujú potenciálny antifungálny a antibiofilmový efekt verapamilu, ktorý by mohol byť ďalej použitý v kombinovanej antifungálnej terapii alebo fotodynamickej inaktivácii klinicky významných kvasiniek rodu *Candida*.

ŠTÚDIUM FUNKCIE GABA V *NEUROSPORA CRASSA*

Kamila Ďurišová¹, Michal Kaliňák², Martin Šimkovič¹, Svetlana Kryštofová¹

¹Ústav biochémie a mikrobiológie, FCHPT, STU v Bratislave

²Centrálne laboratória, FCHPT, STU v Bratislave

kamila.durisova@stuba.sk

GABA skrat je jednou z metabolických dráh, ktorá je všadeprítomná u prokaryotov a eukaryotov. Úloha GABA skratu v hubách ostáva stále málo objasnená. Kyselina γ -aminomaslová (GABA) v hubách je potrebná pri stresových reakciách, virulencii a vývoji. Táto práca sa zameriava na štúdium biologickej funkcie GABA skratu v askomycétnej hube *Neurospora crassa*, ktorý je napojený na cyklus trikarboxylových kyselín (TCA). GABA skrat je metabolická dráha, ktorá sa skladá z troch enzýmov. Prvým je glutamátdekarboxyláza (GAD), ktorá predstavuje syntetickú dráhu GABA metabolizmu. Ďalšími enzýmami sú GABA transamináza (GTA) a sukcinyl-semialdehyd dehydrogenáza (SSADH), zahŕňajú GABA katabolizmus. Tieto enzýmy spolu katalyzujú premenu glutamátu na sukcinát, ktorý je intermediátom TCA cyklu. Počet génov kódujúcich glutamátdekarboxylázu (*gad*), GABA transaminázu (*gta*) a sukcinyl-semialdehyd dehydrogenázu (*ssadh*) sa medzi jednotlivými druhmi húb líši. Analýza celého genómu v *N. crassa* viedla k identifikácii *gta* a *ssadh*. Narušenie buď *gta* alebo *ssadh* znížilo rýchlosť dýchania a akumuláciu biomasy, znížilo rast na GABA a β -alanínu. Mutanty Δgta a $\Delta ssadh$ vykazovali aberantnú morfológiu hýf a vykazovali diferenciálnu transkripciu génov GABA skratu. V Δgta bola tvorba protoperitécií a peritécií takmer úplne potlačená v prítomnosti GABA a β -alanínu, čo naznačuje potrebu GTA na obrat týchto aminokyselín. Kmene vykazovali rozdielne metabolické dysregulácie v reakcii na rôzne zdroje dusíka. Fenotypové rozdiely medzi mutantmi Δgta a $\Delta ssadh$ by mohli byť spôsobené akumuláciou medziproduktov GABA skratu a/alebo funkciami nezávislými od GABA skratu. Naše údaje spoločne naznačujú, že GABA skrat by mohol mať úlohu ako mierny modulátor viacerých biologických procesov, vrátane dýchania, energetického metabolizmu, metabolizmu uhlíka a dusíka, rastu, ako aj sexuálneho vývoja *N. crassa*.

VPLYV NARUŠENIA BIOSYNTÉZY ERGOSTEROLU NA ÚČINNOSŤ KATECHÍNOV VOČI KVASINKE *CANDIDA GLABRATA*

Daniel Eliaš¹, Nora Tóth Hervay¹, Natália Chovancová¹, Marcela Habová¹, Yvetta Gbelská¹

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

elias25@uniba.sk

V posledných desaťročiach sa do popredia medicínskeho záujmu dostala narastajúca prevalencia kmeňov kvasiniek rodu *Candida* so zníženou citlivosťou na antifungálnu liečbu. Narastajúca rezistencia spolu s obmedzeným spektrom konvenčne dostupných antifungálnych látok často vedie ku komplikáciám v liečbe mykotických infekcií a zvýšenému množstvu úmrtí. Výskum na poli nových, resp. alternatívnych spôsobov terapie fungálnych infekcií tak predstavuje jednu z hlavných medicínskych výziev 21. storočia [1]. Biosyntetická dráha ergosterolu je cieľovým miestom konvenčných antifungálnych látok. Ergosterol predstavuje špecifický fungálny sterol, ktorý zodpovedá za fluiditu a permeabilitu plazmatickej membrány, ovplyvňuje však aj rezistenciu húb voči antifungálnym látkam a adaptáciu na stresové podmienky [2]. V predloženej práci sme sa zamerali na analýzu vplyvu synergického pôsobenia katechínov a azolov na kvasinky *Candida glabrata*. Spoločné pôsobenie katechínov a azolov vedie k zhoršenému rastu laboratórneho kmeňa ako aj klinických izolátov kvasinky *C. glabrata*. Narušenie regulácie (*Cgupc2AΔ*) a biosyntézy ergosterolu (*Cgerg6Δ*) ďalej zvýšilo účinok katechínov a viedlo k výraznejšej inhibícii rastu v porovnaní s rodičovskými kmeňmi. Ďalšie experimenty ukázali, že kombinácia azolov a katechínov vedie k zvýšenej produkcii reaktívnych foriem kyslíka a k zmenám na transkripčnej úrovni génov zodpovedných za odpoveď kvasiniek na oxidačný stres a eflux antimykotík. Na základe získaných výsledkov predpokladáme, že katechíny narúšajú redoxnú rovnováhu v kvasinkách *C. glabrata*. Fenotypová analýza preukázala zvýšenú citlivosť buniek kvasiniek *C. glabrata* s narušenou biosyntézou ergosterolu na oxidačné činidlá. Narušenie biosyntézy ergosterolu v špecifických krokoch v kombinácii so synergickým pôsobením katechínov a azolov môže prispieť k zlepšeniu liečby kandidových infekcií.

[1] Arendrup M. C., Patterson T. F. Multidrug-Resistant *Candida*: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Treatment. *J Infect Dis.* 216: 445-451, 2017

[2] Jordá T., Puig S. Regulation of Ergosterol Biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes (Basel)*. 11: 795-813, 2020

Podakovanie: Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-19-0094 a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0388/22.

BIOLOGICKÉ ÚČINKY EPIKATECHÍNU A JEHO VPLYV NA VZNIK REZISTENCIE VOČI ANTIBIOTIKÁM

Hollá Katarína¹, Bírošová Lucia¹, Olejníková Petra²

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

²Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Ústav biochémie a mikrobiológie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

katarina.holla@stuba.sk

Katechíny patria medzi prírodné flavonoidy a sú hojne zastúpené v zelenom čaji a v iných rastlinných požívatinách. V súčasnosti sú dobre známe pre svoje početné biologické účinky, vďaka ktorým sú predmetom výskumu mnohých štúdií, a zároveň sú medzi širokou verejnosťou obľúbené v podobe výživových doplnkov. Epikatechín je štvrtým najviac zastúpeným katechínom v zelenom čaji, ale jeho biologické účinky nie sú preštudované tak podrobne ako v prípade iných typov katechínov. Na modelovom organizme *Salmonella Typhimurium* a na dvoch multirezistentných kmeňoch *Escherichia coli* bol skúmaný vplyv epikatechínu na citlivosť baktérií na rôzne triedy antibiotík, za účelom hľadania možnej synergie medzi účinkom epikatechínu a antibiotikami. Potenciálna mutagénna aktivita epikatechínu bola testovaná pomocou Amesovho testu na auxotrofných kmeňoch *S. Typhimurium* TA 98 a TA 100, pričom test nepotvrdil vplyv epikatechínu na vznik bodových ani posunových mutácií. Vďaka antioxidantným účinkom katechínov existuje predpoklad, že katechíny disponujú aj antimutagénym potenciálom. Schopnosť epikatechínu brániť vzniku mutácií bola skúmaná na auxotrofných kmeňoch *S. Typhimurium* v prípade mutagénov 2-nitrofluorén a azid sodný. Intenzívna konzumácia katechínov v podobe výživových doplnkov a ich následná prítomnosť v odpadových vodách navodzuje otázku, aký je vzťah medzi katechínmi a rezistenciou baktérií voči antibiotikám. Možný vplyv epikatechínu na vznik rezistencie voči ciprofloxacínu bol testovaný na *S. Typhimurium*, ako aj na 2 auxotrofných kmeňoch *S. Typhimurium* TA 98 a TA 100. Modifikovaný Amesov test neodhalil významný efekt epikatechínu na vznik rezistencie voči ciprofloxacínu v prípade testovaných kmeňov.

STANOVENIE INHIBIČNÉHO ÚČINKU FOTODYNAMICKEJ INAKTIVÁCIE NA *CANDIDA ALBICANS* A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VYUŽITÍM MOLEKULÁRNEJ METÓDY PMA-QPCR

Kendra Samuel¹, Radochová Barbora¹, Czucz Varga Jarmila¹, Bujdáková Helena¹

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

kendra4@uniba.sk

Stanovenie inhibičného účinku kombinovanej liečby fotodynamickej inaktivácie (PDI) a farnezolu v biofilmoch je náročné. Limitácie, akými sú prítomnosť extracelulárnej matrix a eDNA či životaschopné, ale nekultivovateľné bunky po liečbe vedú k podhodnoteniu alebo nadhodnoteniu skutočného počtu buniek. Propidium-monoazid qPCR (PMA-qPCR) dokáže s vysokou presnosťou rozlíšiť medzi živými a mŕtvymi bunkami vďaka selektívnemu prieniku farbiva (PMA) cez poškodené membrány mŕtvych buniek a následnému zablokovaniu amplifikácie DNA. Predmetom práce bolo optimalizovať PMA-qPCR na kvantifikáciu živých a mŕtvych buniek v biofilmoch *Candida albicans* a *Staphylococcus aureus* ovplyvnených PDI a farnezolom. Na špecifickú identifikáciu *C. albicans* a *S. aureus* sa použili primery pre gény *ACT1* a *NUC*. Teplota topenia pre každý primer počas qPCR cyklu bola optimalizovaná na 55°C. Optimálne podmienky na oštenie buniek pomocou PMA boli koncentrácia PMA 25 µM, inkubačný čas 10 min a fotoaktivačný čas 15 min. Po prebehnutí qPCR a na základe špecifickej amplifikácie génov *ACT1* a *NUC* sériovo zriedenej DNA oboch druhov bola generovaná kalibračná krivka predstavujúca závislosť Ct hodnôt od počtu kópií. Počet kópií bol vypočítaný na základe známeho množstva DNA v qPCR reakcii a veľkosti genómu mikroorganizmu. Optimalizovaná PMA-qPCR a generované kalibračné krivky boli použité na vyhodnotenie inhibičného účinku PDI na biofilmy *C. albicans* a *S. aureus*. Analýza preliminárnych dát potvrdila inhibíciu 0,9-1,6 log₁₀ na 24-h biofilm *C. albicans* a 0,5-1,1 log₁₀ na 24-h biofilm *S. aureus* po použití PDI v kombinácii s metylénovou modrou (0,25-1 mM) a farnezolom (150-300 µM). PMA-qPCR na stanovenie počtu kópií DNA prežívajúcich buniek predstavuje vhodnú alternatívu ku konvenčným metódam vyhodnocovania životaschopnosti buniek v biofilme.

Podakovanie: Tento výskum bol podporený grantom Univerzity Komenského číslo UK/255/2023 s názvom: Stanovenie kombinovaného účinku farnezolu a fotodynamickej inaktivácie na duálny biofilm *Candida albicans*-*Staphylococcus aureus* pomocou propidium monoazid qPCR.

CHARAKTERIZÁCIA IZOLÁTOV RODU *STAPHYLOCOCCUS* Z POHLĀDU ANTIBIOTICKEJ REZISTENCIE A PRODUKCIE ENTEROTOXÍNŮV

Koreneková Júlia¹, Olejníková Petra², Vavreková Alžbeta¹, Bírošová Lucia¹

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

²Slovenská technická univerzita, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav biochémie a mikrobiológie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

julia.korenekova@stuba.sk

Stafylokokové alimentárne intoxikácie (SFP) vznikajú v dôsledku požitia potravy obsahujúcej stafylokokové enterotoxíny (SE) produkované toxinogénnymi druhmi stafylokokov, najmä druhom *S. aureus*. Ak sú takéto toxinogénne stafylokoky navyše odolné voči pôsobeniu antimikrobiálnych látok, riziko otravy sa zvyšuje, rovnako aj možnosti ich šírenia a prežitia v prostredí.

V práci sme sa zamerali na stanovenie produkcie SE typu A-E a s tým spojenej prítomnosti génov kódujúcich ich produkciu, ale aj na identifikáciu vybraných mechanizmov rezistencie voči antibiotikám u šesťdesiatich izolátov rodu *Staphylococcus* získaných z humánnych a živočíšnych vzoriek, ako aj zo vzoriek potravín. Prevažná časť izolátov (58 %) bola získaná zo vzoriek potravín. Päťdesiat percent izolátov bolo schopných produkovať ktorýkoľvek z SE, pričom 20 % týchto izolátov patrilo medzi koagulázonegatívne stafylokoky. U 75 % izolátov sme detegovali rezistentciu voči aspoň jednému testovanému antibiotiku, pričom najčastejšie bola zaznamenaná rezistencia voči klindamicínu (45 %), penicilínu (36 %) a erytromycínu (35 %). U izolátov sme sledovali nadprodukciu efluxných púmp a schopnosť tvorby biofilmu. Prevažná časť izolátov (63 %) patrila do skupiny miernych producentov biofilmu, pričom 33 % vykazovalo veľmi silnú intenzitu produkcie.

Hoci sú SE primárne produkované koagulázopozitívnym *S. aureus*, naše výsledky naznačujú, že aj koagulázonegatívne stafylokoky môžu byť enterotoxigénne a potenciálny pôvodcovia SFP. Väčšina z testovaných izolátov vykazovala rezistentciu voči aspoň jednému testovanému antibiotiku. Znepokojenie vyvoláva aj zvýšená produkcia biofilmu u sledovaných izolátov, ktorá zhoršuje možnosti eliminácie daných baktérií v prostredí potravinárskych prevádzok a môže predstavovať kontinuálny zdroj kontaminácie potravín enterotoxinogénnymi druhmi. Výsledky našej štúdie potvrdzujú potrebu prístupu *One Health*, ktorý súčasne zohľadňuje otázky týkajúce sa veterinárnej oblasti, ľudského zdravia a životného prostredia.

Podakovanie: Táto práca bola podporená výzvou pre doktorandov a mladých výskumných pracovníkov STU na naštartovanie výskumnej kariéry (Grant 23-04-02-A) a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0464/21.

SENZORICKÁ ANALÝZA A SLEDOVANIE MIKROBIÁLNEJ BEZPEČNOSTI JEDLÉHO HMYZU

Krahlucová Monika¹, Molnár Orsolya¹, Cverenkárová Klára¹, Koreneková Júlia¹, Bírošová Lucia¹

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

monika.krahlucova@stuba.sk

V súčasnosti zohráva v snahe o rozšírenie stravovacích možností európskych spotrebiteľov dôležitú úlohu jedlý hmyz, ktorý má zabezpečiť najmä udržateľnejšiu stravu z hľadiska životného prostredia. Táto nová potravina patriaca do skupiny tzv. „novel foods“ nesie so sebou rôzne otázky ohľadom svojej bezpečnosti. V predkladanej práci sme sa zamerali na mikrobiálnu bezpečnosť týchto potravín. V prípade koliformných baktérií a enterokokov sme sledovali aj ich možnú rezistenciu voči vybraným triedam antibiotík. Taktiež sme realizovali senzorickejšiu analýzu vybraných produktov na skupine desiatich dobrovoľných hodnotiteľov. Mikrobiálnej analýze sme podrobili desať vzoriek jedlého hmyzu v práškovej a pevnej forme. Zistili sme, že v prípade celkových aeróbných baktérií sa počty pohybovali v rozmedzí 1,90 až 5,46 log KTJ/g, pričom v dvoch vzorkách neboli zaznamenané celkové aeróbne baktérie; vláknité huby a kvasinky boli v rozmedzí 1,00 až 1,70 log KTJ/g a v šiestich vzorkách neboli detegované; koliformné baktérie boli detegované iba v dvoch vzorkách testovaného jedlého hmyzu v počtoch 1,30 a 1,48 log KTJ/g a enterokoky v troch vzorkách a to v počtoch 1,30 až 2,80 log KTJ/g. Z koliformných baktérií sme úspešne identifikovali päť kmeňov *Escherichia hermannii*, pričom sme potvrdili jej kultiváciu aj v prípade Petriho misiek s prídavkom antibiotík ampicilín a tetracyklín. Medzi identifikovanými izolátmi enterokokov sme zaznamenali štyri kmene *Enterococcus gallinarum*, dva *Enterococcus faecium* a jeden kmeň *Enterococcus casseliflavus*. Pri senzorickej analýze hodnotitelia najlepšie obodovali z hľadiska celkovej preferencie vzorky jedlého hmyzu cvrčka domáceho s príchťou bazalky a paradajky. Polovica hodnotiteľov by opätovne konzumovala dva testované výrobky len vtedy, ak by boli nútení.

Podakovanie: Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-19-0250, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 1/0464/21. Táto štúdia bola realizovaná aj vďaka štedrej podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: „Strategický výskum v oblasti SMART monitorovania, liečby a preventívnej ochrany pred koronavírusom (SARS-CoV-2)“, Projekt č. 313011ASS8, spolufinancovaný Európskym fondom regionálneho rozvoja.

CHARAKTERIZÁCIA KMEŇOV *ASPERGILLUS FUMIGATUS* Z HĽADISKA REZISTENCIE, PERZISTENCIE A VIRULENCIE

Ivana Segéňová¹, Petra Olejníková¹

¹Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Ústav biochémie a mikrobiológie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

ivana.segenova@stuba.sk

Aspergillus fumigatus je všadeprítomná vláknitá huba, s ktorou prichádzame do kontaktu každý deň. Pre skupinu ľudí, ktorí trpia ochoreniami dýchacích ciest alebo podstupujú liečbu imunosupresívami však môže byť takýto kontakt fatálny. *A. fumigatus* ako oportúnny patogén spôsobuje širokú škálu ochorení, od alergických reakcií až po diseminovanú aspergilózu. Možnosti liečby zahŕňajú niekoľko skupín antifungálnych zlúčenín, pričom v súčasnosti sú liekmi prvej voľby azoly. Boj proti aspergilózam, kedy sa mortalita môže pohybovať až na úrovni 80%, ešte viac sťažuje vznikajúca rezistencia voči azolom. Príčiny vzniku rezistencie zahŕňajú predovšetkým dlhodobú liečbu pacientov, ako aj používanie azolových fungicídov v poľnohospodárstve.

V našej práci sme porovnali profil citlivosti siedmich kmeňov *A. fumigatus* pochádzajúcich z klinického i environmentálneho prostredia, ktoré majú, resp. nemajú potvrdené mutácie zodpovedné za rezistenciu voči azolom. Dôležitým faktorom, ktorý môže ovplyvniť liečbu aspergilóz je i perzistencia, ktorá môže mať za následok zlyhanie liečby aj u pacientov infikovaných izolátmi citlivými na azoly. Subpopulácie perzistentných buniek sme pozorovali v prítomnosti supra-MIC vorikonazolu a itrakonazolu. Ďalší uhol pohľadu nám poskytlo porovnanie izolátov z hľadiska predominancie. Rezistentné izoláty majú v porovnaní s citlivými kmeňmi výhodu v prítomnosti antifungálnych zlúčenín, avšak rezistencia sa často spája s tzv. „fitness cost“, čo môže znižovať konkurencieschopnosť týchto kmeňov pri absencii selektívneho tlaku liečiv. Vzťah medzi rezistenciou a predominanciou sme stanovili *in vitro* pasážovaním na stužených živných médiách, ako aj *in vivo* koinfikovaním lariev *Galleria mellonella*. Tento *in vivo* model sme zároveň použili i na porovnanie virulencie jednotlivých kmeňov.

TESTOVANIE VPLYVU PERFLUOR - SUBSTITUOVANÝCH 5-AMINOPYRAZOLOV NA LEUKEMICKÉ BUNKOVÉ LÍNIE EXPRIMUJÚCE P-GLYKOPROTEÍN

Šofranková Lucia¹, Špaldová Jana¹, Breier Albert¹

¹Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav biochémie a mikrobiológie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

lucia.sofrankova@stuba.sk

Viacieková rezistencia (MDR) v malígnych bunkách je závažný problém, ktorý často vedie k zlyhaniu liečby. Jedným z hlavných mechanizmov MDR je nadmerná expresia P-glykoproteínu (P-gp). V prípade leukémií, najmä akútnej myeloidnej leukémie a akútnej lymfoblastovej leukémie, je zvýšená expresia P-gp často spojená so zlou odpoveďou na chemoterapiu a horšou prognózou ochorenia. P-gp totiž pôsobí ako bariéra, ktorá bráni dosiahnutiu terapeutických koncentrácií liečiv v malígnych bunkách, čo vedie k potrebe vývoja nových stratégií na prekonanie tejto rezistencie, ako sú inhibitory P-gp III generácie alebo nové chemoterapeutické látky, ktoré nie sú substrátmi P-gp. Efektívne riešenie prekonania MDR prostredníctvom cielenia na P-gp môže výrazne zlepšiť terapeutické výsledky pre onkologických pacientov, a to nie len pacientov s leukémiou [1]. 5-aminopyrazoly sú heterocyklické zlúčeniny, ktoré obsahujú pyrazolové jadro s amino skupinou substituovanou na piatom uhlíku. Tieto zlúčeniny vykazujú široké spektrum biologických aktivít a nachádzajú uplatnenie v medicínskej chémii a farmaceutickom priemysle. Napríklad komerčne predávaný Jaypirca™ od spoločnosti Eli Lilly je 5-aminopyrazol pirtobrutinib. Toto chemoterapeutikum je schválené na liečbu lymfómu z plášťových buniek a v súčasnosti sa skúma v 16 klinických štúdiách na rôzne typy malignít medzi, ktoré patrí aj na chronická myeloidná leukémia [3]. Nami skúmané deriváty 5-aminopyrazolov sme testovali ako potenciálne cytotoxické látky voči vybraným prokaryotickým a eukaryotickým bunkovým modelom a skúmali sme ich vplyv na aktivitu P-gp, expresiu na úrovni génu aj proteínu na bunkových modeloch myšacej akútnej lymfoblastovej leukémie L1210 a ľudskej akútnej myeloidnej leukémie SKM-1 a MOLM-13 a ich variantoch s nadexprimovanou efluxnou pumpou P-gp.

[1]. Pilotto Heming C, Muriithi W, Wanjiku Macharia L, Niemeyer Filho P, Moura-Neto V, Aran V. P-glycoprotein and cancer: what do we currently know? *Helv Chim Acta*;8(10):e11171, 2022

[2]. Pavilek B., Bortňák D, Šofranko J., Šofranková L., Špaldová J., Elefantová K., Olejníková P., Žideková I., Végh D., Dokupilová S., Mikuš P., Breier A., Milata V, *Eur. J. Org. Chem.*, 26, e202300410, 2023

[3]. Davis DD, Ohana Z, Pham HM. Pirtobrutinib: A novel non-covalent BTK inhibitor for the treatment of adults with relapsed/refractory mantle cell lymphoma. *J Oncol Pharm Pract.* 30(1):182-188, 2023

Podakovanie: Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-19-0093 a APVV-19-0094 a Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 2/0030/23, VEGA 2/0046/24. a Grantom STU pre podporu mladých vedeckých pracovníkov v Bratislave (Šofranková 2023)

VYVOLANIE BUNKOVEJ SMRTI KRYPTOPLEURÍNOM U RÔZNYCH BUNKOVÝCH LÍNIÍ

Špaldová Jana¹, Šofranková Lucia¹, Breier Albert¹

¹Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie,
Ústav biochémie a mikrobiológie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

jana.spaldova@stuba.sk

Jednou z hlavných výziev nielen pri liečbe leukémie, ale všetkých typov nádorových ochorení, je zvrátiť viaciekovú rezistenciu. Tá dáva malígnym bunkám schopnosť odolávať chemoterapeutikám s rôznou štruktúrou a mechanizmom účinku. Hlavnú úlohu v týchto procesoch zohrávajú ABC transportéry, teda membránové transportné proteíny, ktoré aktívne vylučujú široké spektrum substrátov z nádorových buniek, čím znižujú ich intracelulárne koncentrácie. Najviac skúmaným transportérom spojeným s viaciekovou rezistenciou je P-glykoproteín, ktorého zvýšená expresia je jedným z hlavných markerov viaciekovej rezistencie [1]. Z týchto dôvodov sa neustále hľadajú nové potencionálne chemoterapeutiká. Práve alkaloidy prírodného pôvodu preukázali v tejto oblasti veľmi sľubný potenciál, vďaka čomu sa intenzívne skúmajú z hľadiska ich terapeutických vlastností [2]. V tejto práci sme sa preto zamerali na bunkové línie akútnej leukémie a ich sublinie, ktoré sa vyznačujú expresiou P-glykoproteínu. Ako účinná látka bol použitý rastlinný alkaloid kryptopleurín, ktorý patrí do skupiny fenantrochinolizidínov vyznačujúcich sa rozmanitými biologickými aktivitami, medzi ktoré patria napríklad protizápalové, antivírusové a antimikrobiálne účinky [3]. U kryptopleurínu boli popísané aj potencionálne antineoplastické vlastnosti, avšak jeho presný mechanizmus účinku ešte nie je úplne objasnený. Zistilo sa, že kryptopleurín dokáže inhibovať proteosyntézu, v menšej miere aj syntézu RNA a DNA, potlačiť signálne dráhy a množstvo regulačných proteínov bunkového cyklu, ako sú cyklín a od nich závislé kinázy. Preto sme našu pozornosť zamerali na sledovanie vplyvu kryptopleurínu na typ bunkovej smrti, ktorý kryptopleurín vyvoláva, zmeny v podieloch buniek v jednotlivých fázach bunkového cyklu, jeho vplyv na aktivitu P-glykoproteínu, na expresiu vybraných génov a ďalších procesov najmä v bunkových modeloch akútnej leukémie.

[1]. Labbozzetta M, Poma P, Notarbartolo M. Natural Inhibitors of P-glycoprotein in Acute Myeloid Leukemia. *Int J Mol Sci.* 24(4):4140, 2023

[2]. Kubičková J, Elefantová K, Pavlikova L, Cagala M, Šereš M, Šafař P, Marchalín Š, Ďurišová K, Boháčová V, Sulova Z, Lakatoš B, Breier A, Olejníková P. Screening of Phenanthroquinolizidine Alkaloid Derivatives for Inducing Cell Death of L1210 Leukemia Cells with Negative and Positive P-glycoprotein Expression. *Molecules.* 24(11):2127, 2019

[3]. Wang Y, Chen SR, Yang X, Lee KH, Cheng YC. Structure-activity relationships of cryptopleurine analogs with E-ring modifications as anti-hepatitis C virus agents. *Bioorg Med Chem.* 26(3):630-636, 2018

Podakovanie: Tento výskum bol podporený Agentúrou na podporu výskumu a vývoja v zmluve APVV-19-0093 a APVV-19-0094, Ministerstvom školstva, vedy, výskumu a športu SR v projekte VEGA 2/0030/23, VEGA 2/0046/24 a Grantom STU pre podporu mladých vedeckých pracovníkov v Bratislave (Šofranková 2023 a Štefík 2023).

THE MODEL FUNGUS *NEUROSPORA CRASSA* UTILIZES EVOLUTIONARY CONSERVED STRESS RESPONSE MECHANISMS TO COPE WITH THE PRESENCE OF ANTIFUNGALS

Víglaš Ján¹, Vaclavíková Terézia¹, Shykitka Karina¹, Olejníková Petra¹

¹*Institute of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Food and Chemical Technology,
Slovak University of Technology in Bratislava*

jan.viglas@stuba.sk

The resistance of fungi to antifungal drugs evolves mostly at a genomic level. Arguably, the factors impacting the ability of fungus to adapt to stress caused by antifungal agents (preceding the resistance development) remains obscure. The new research subject of antifungal tolerance has been denoted. Tolerance is governed by evolutionary fine-tuned mechanisms (not genomic variations). The research of tolerance (and resistance) covers pathogens and reference yeast *Saccharomyces cerevisiae*. However, as the microbiology progresses, the reference microorganism for filamentous fungi is strongly needed.

In our research, we chose *Neurospora crassa*, a filamentous fungus well studied in other areas of fungal biology. We exposed *N. crassa* to antifungal azoles and analyzed the level of glycerol and chitin in the mycelium of fungus and the expression of genes involved in their biosynthesis. Moreover, we tested the impact of inhibition of important stress signalling pathways (calcineurin pathway, TOR-kinase signalling) on the susceptibility of *N. crassa* to azoles.

In accordance with the knowledge in yeast, when *N. crassa* is exposed to antifungals, the cell surface is compromised, the osmotic pressure pushes on the cell, so counterpressure by glycerol production is triggered (peak two hours after exposure). Later, chitin synthesis increases (10 hours after exposure), making the cell wall more rigid (reparation/compensation for caused damage). TOR signalling is probably involved in stress adaptation because its inhibitor, rapamycin, proved synergic effect with azoles.

Understanding of adaptation to antifungals in non-pathogens and pathogens may shed light on why pathogens can develop effective mechanisms of resistance.

Workshop "Aspekty rezistencie prokaryotických a eukaryotických buniek"
26. – 29.6. 2024, Tatranská Lomnica

TECHNICKÉ NÁLEŽITOSTI PROJEKTOV

„AKO PÍSAŤ EURÓPSKE PROJEKTY?“

van der Ploeg Kristína¹, Bujdáková Helena¹, Reptová Zuzana², Papánová Kvetoslava²

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

²*Národná kancelária Horizontu, Lamačská cesta 8A, P.O.Box 47, 840 05 Bratislava*

kristina.ploeg@uniba.sk

Horizont Európa je 9. rámcovým programom 7-ročnej vedecko-výskumnej iniciatívy Európskej únie. HE je nástupcom rámcového programu Horizont 2020, v rámci ktorého sa zrealizoval projekt CEMBO (H2020-WIDESPREAD-2020 „výzvy Twinning“ na Katedre mikrobiológie a virológie, Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave). Vo vede je získanie financií kľúčové pre realizáciu nápadov vedeckých tímov a následné vytváranie spoluprác so svetovo uznávanými inštitúciami. Je preto dôležité, aby najmä mladí vedeckí pracovníci boli motivovaní a porozumeli významu písania európskych projektov. Aké sú hlavné schémy pomoci ešte pred písaním projektu? Prednáška sumarizuje náležitosti projektovej žiadosti v rámci rámcového programu HE. „Národné kontaktné body“ (Centrum vedecko-technických informácií SR“ v spolupráci s Ministerstvom školstva, výskumu, vývoja a mládeže SR) predstavujú nevyhnutnú súčasť úspešného písania projektu.

Základným pohonom písania európskych projektov je individuálna alebo tímová motivácia. Predchádza mu správna voľba typu akcie; samoštúdium dôležitých dokumentov a schopnosť vedieť sa orientovať vo výzve. Po samotnom výbere akcie pokračuje štúdium hodnotiacich aspektov a administratívy projektu. Nasleduje samotné písanie výzvy a jej technické špecifiká, pričom kvalita prevláda nad kvantitou. Porozumenie projektu, ako aj schopnosť vystihnúť podstatu sú pri tomto procese kľúčové.

Prednáška ponúkne užitočné tipy a odporúčania pri písaní európskych projektov, ako aj pri samotnom podaní výziev. Písanie takýchto projektov prináša výzvu, ktorej treba na Slovensku čo raz viac čeliť. Nielen kvôli prestíži a finančným možnostiam vývoja a výskumu, ale najmä kvôli individuálnemu a tímovému napredovaniu do európskeho súťaživého prostredia, t.j. na vyššiu úroveň kvality zaradenia sa medzi špičkové vedecké inštitúcie alebo individuálnych vedcov.

PodĎakovanie: Táto prednáška bola podporená Národnými kontaktnými bodmi vybraných oblastí v rámci Národnej kancelárie Horizontu, taktiež Katedrou mikrobiológie a virológie UK v spolupráci s Československou spoločnosťou mikrobiologickou.

**Workshop "Aspekty rezistencie prokaryotických a eukaryotických buniek"
26. – 29.6. 2024, Tatranská Lomnica**

Workshop bol organizovaný Katedrou mikrobiológie a virológie Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave, Ústavom biochémie a mikrobiológie Fakulty chemickej a potravinárskej technológie Slovenskej technickej univerzity v Bratislave v spolupráci s Československou spoločnosťou mikrobiologickou. Tento workshop bol zároveň podporený projektami APVV-21-0302, APVV-22-0150 a APVV-19-0094.