

Souhrn:

Bakterie komplexu *Burkholderia cepacia* (Bcc) a bakterie *Pseudomonas aeruginosa* patří mezi nejzávažnější patogeny způsobující plicní infekce u pacientů s cystickou fibrózou (CF). Tyto bakterie jsou vysoce rezistentní k téměř všem dostupným antibiotikům. Kromě problematické léčby je dalším závažným problémem riziko vzniku epidemické infekce, které je dané schopností některých kmenů šířit se mezi pacienty. Některé kmeny bakterií Bcc jsou schopny přejít do krevního řečiště a způsobit závažný septický stav zvaný cepacia syndrom. Jedním z takových kmenů je český epidemický kmen *B. cenocepacia* ST32, který se v 90. letech 20. století rozšířil mezi českými pacienty s CF.

Cílem této práce bylo porovnat transkriptomový profil izolátů získaných z krve pacientů ve fázi cepacia syndromu s profilem izolátů získaných ze sputa pacientů ve stabilní fázi infekce, případně v exacerbaci. Na základě porovnání vybrat vhodné geny s rozdílnou expresí, které by mohly být využity jako případný marker pro detekci blížícího se cepacia syndromu. Vybraný vhodný „marker“, který by měl zároveň kódovat obecně známý faktor virulence, podrobit hlubšímu studium pro porozumění jeho funkce a vlivu na virulenci v okamžiku cepacia syndromu. Posledním cílem této práce bylo zhodnocení epidemiologické situace bakterií *P. aeruginosa* u pacientů s CF v pražském CF centru a následné sestavení nejvhodnějšího vyšetřovacího postupu pro sledování těchto bakterií.

V předkládané dizertační práci jsme:

- a) na základě porovnání transkriptomových profilů *B. cenocepacia* ST32 získaných od pacientů z krve (cepacia syndrom) a sputa (stabilní fáze/exacerbace) kultivovaných v různých podmínkách vybrali vhodné geny s rozdílnou expresí pro prospektivní sledování vývoje infekce. Zjistili jsme, že izoláty získané z krve jsou spojeny se zvýšenou expresí genů pro sekreční systém typu III a zároveň se sníženou expresí genů pro bičík.
- b) geny se změněnou expresí ověřili pomocí qRT-PCR. Sledování exprese jsme převedli na přímou detekci genové exprese z klinického materiálu (sputum) bez nutnosti *in vitro* kultivace izolátů. Vyšetření pomocí qRT-PCR jsme doplnili funkčním testem pro sledování motility bakterií.
- c) podrobili vybraný faktor virulence, sekreční systém typu III, hlubšímu studiu pomocí mutagenních technik, abychom podpořili tvrzení o jeho významu pro přežití bakterií v krvi.
- d) vyloučili šíření epidemického kmene *P. aeruginosa* mezi pacienty v pražském CF centru. Zároveň byl sestaven finančně a časově nejvhodnější postup pro vyšetřování izolátů *P. aeruginosa* od pacientů s CF.