

## Abstrakt

S celkovým rozvojem metod molekulární genetiky v průběhu let vznikly i nové metody, které lze využít ve virologii. Stále více je využíváno sekvenování nové generace, které umožňuje současně paralelní sekvenaci mnoha vzorků, navíc také umožní rozlišit infekci více virovými typy ve vzorku. Cílem práce bylo vyvinout metodu, kterou by bylo možné genotypizovat všechny známé typy lidských adenovirů, lidských enterovirů, a bakteriofágů, vybraných pro jejich výskyt ve střevě. Metoda využívá sekvenování nové generace.

Prvním krokem při vývoji metody byl návrh primerů, které jsou schopny detekovat všechny známé typy zmíněných virů, pokrývající oblast, která je schopná tyto viry mezi sebou odlišit. Tato metoda byla testována na souboru 47 vzorků lidských adenovirů a 30 vzorků lidských enterovirů se známým sérotypem. Vytvořeny byly také vzorky se dvěma sérotypy v různém poměru. Po amplifikaci cílových částí genomu byly vzorky přečištěny a sekvenovány na přístroji MiSeq, Illumina. Metoda byla dále využita při typizování adenovirů, enterovirů a bakteriofágů v pre-diabetických kohortách DIPP, MIDIA a v kohortě diabetiků z afrických a asijských zemí. Výchozím vzorkem byla RNA/ DNA izolovaná ze vzorku stolice.

Prokázali jsme, že metoda dokáže zachytit všechny testované typy virů, včetně vzorků směsných infekcí dvěma různými typy a to i v případě, že je kvantita jednoho z genotypů až 1000 krát menší, než kvantita druhého. Typizace adenovirů a enterovirů probíhala na vzorcích z kohorty MIDIA: detekováno bylo celkem 7 různých adenovirových typů, nejčastější byl lidský adenovirus 2, dále jsme našli celkem 26 enterovirových typů, z nich byl nejčastější coxsackie virus 2. Dále bylo nalezeno 19 adenovirových infekcí s více než jedním typem a 14 enterovirových infekcí bylo s více než jedním typem. Bakteriofágy byly detekovány a typizovány na vzorcích z kohorty DIPP a kohorty afrických a asijských diabetiků. Nejčastější skupina střevních bakteriofágů v těchto vzorcích byl rod Sk1 virus, následovaným rodem Lambdavirus. Neprokázali jsme výskyt detekovaných rodů bakteriofágů v longitudinálně sbíraných vzorcích. Longitudinálně sledované infekce adenoviry či enteroviry byly většinou krátkodobé a bylo prokázáno střídání sérotypů v rámci jednoho pacienta. Popsaná metoda byla otestována a prokázala schopnost detekce i rozlišení mezi známými typy lidských adenovirů, enterovirů či vybraných bakteriofágů.

Klíčová slova: adenovirus, enterovirus, bakteriofágy, sekvenování nové generace, autoimunitní onemocnění