

o celkovém objemu 10 ml se skládala z 1× PCR pufru, 5mM MgCl₂, 200M dNTPs, 0,5 μM koncentrace každého přímého a zpětného primeru a 0,25 μM sondy, 0,25 U HotStart Taq Polymerase (Qiagen, Německo) a DNA templátu. Amplifikační reakce probíhala v cycleru Biorad CFX96 Real-Time PCR (Biorad Laboratories, Kalifornie, USA) za následujících podmínek: aktivace polymerázy 15 min. při 95 °C, následovaná 45 cykly po 15 s při 94 °C a 1 min. při 60 °C. qPCR byly validovány pomocí klinických vzorků a plazmidů s virovými cílovými sekvencemi. DNA lidského papillomaviru (HPV) byla detekována kombinací dvou PCR s primery specifickými pro oblast L1. Určení typu HPV bylo provedeno pomocí hybridizace amplikonů PCR se sondami specifickými pro 37 typů HPV na membráně (18).

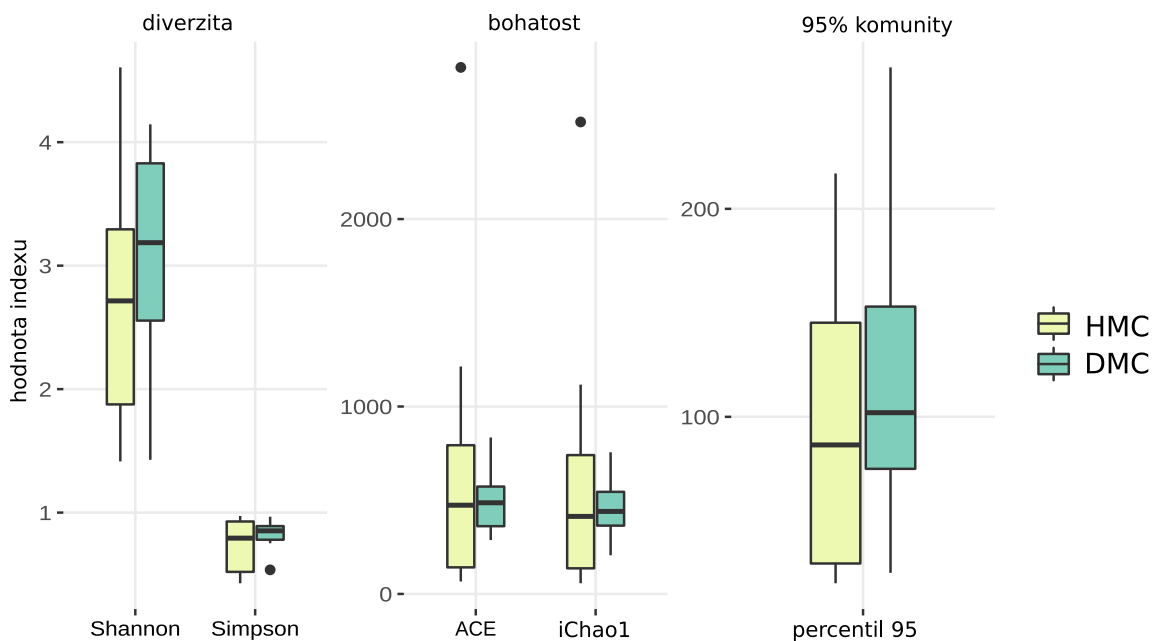
VÝSLEDKY

Prezentovaný soubor čítá 9 pacientů (8 mužů a 1 ženu) průměrného věku 49,7 let (mezikvartilové rozpětí 39–57) operovaných na našem pracovišti mezi říjnem 2019 a říjnem 2020 pro litiázu HMC.

Nefrolitiázu mělo pět pacientů, ureterolitiázu osm a u dvou byl výskyt konkrementů bilaterální. Z hlediska komorbidit trpěli tři pacienti hypertenzí, jeden diabetem, zatímco chronickou renální insuficiencí stupně 3 a více neměl nikdo. Průměrný body mass index byl 28,6 (± 8,3), čtyři pacienti se označili za kuřáky. Medián doby mezi předoperační kultivací moči a odběrem vzorku byl jeden den.

K dispozici jsme měli osm párových vzorků pro porovnání bakteriálního mikrobiomu dolních a horních močových cest. Počet individuálních taxonomických jednotek na úrovni druhů ve vzorcích z HMC a DMC a jejich relativní zastoupení (abundance) se statisticky významně nelišily v žádném z měřítek diversity (počet taxonů pokrývajících 95 % relativní abundance, indexy iChao1 a ACE, ani indexy Shannonův a Simpsonův) (Obr. 1). Obrázek 2 ilustruje všech 8 pacientů a jejich indexy alfa diversity individuálně.

Párové vzorky z HMC a DMC z jednoho pacienta si byly podobnější než vzorky z HMC a DMC v rámci své skupiny navzájem. Rozdílnost vzorků od různých pacientů byla signifikantní (p = 0,008). Obrázek 3 dokládá podobnost moči z HMC a DMC formou úseček spojujících vždy dva párové vzorky od každého paci-



Obr. 1. Porovnání hodnot indexů alfa diversity pro vzorky moči z horních a dolních močových cest; v žádném z nich není rozdíl statisticky významný; bližší vysvětlení významu jednotlivých indexů v textu

Fig. 1. Alpha diversity indices of samples from the upper and lower urinary tract, respectively; no statistically significant differences were detected; see text for details