

Co čeká lékařskou mikrobiologii za 20 let?

Votava M.

Mikrobiologický ústav LF MU a FN u svaté Anny v Brně

Souhrn

V budoucnosti si mikrobiologické laboratoře budou muset udržovat odbornou dokonalost jak v postupech molekulárně biologických, tak v postupech klasických.

Klíčová slova: lékařská mikrobiologie – budoucnost – molekulární biologie – klasické postupy.

Summary

Votava M.: What are the Prospects for Medical Microbiology in the Next 20 Years?

In the future, microbiological laboratories are expected to maintain their proficiency in both molecular biological procedures and conventional methods.

Key words: medical microbiology – future – molecular biology – conventional methods.



Nezačneme v laboratoři, ale v terénu, v ordinaci praktického lékaře dr. Nováka. Jeho ordinace se nalézá v jednom malém městě a je součástí zařízení, které společně s ním vlastní další čtyři lékaři. Nedávno si koupili celotělový zobrazovací systém, přenosný biochemický automat doplnili o hematologický modul a každý si pořídil ruční mikrobiologický diagnostický systém značky MyCrobe.

První případ – 16letý mladík s horečkou a tonzilitidou

Do ordinace přichází 16letý mladík a stěžuje si na zvýšenou teplotu, malátnost a bolest v krku,

zejména při polykání. Dr. Novák bere podrobnou anamnézu a pečlivě mladíka vyšetří. Mladík má horečku 38,8 °C a zduřelé a zanícené tonzily, zarudnutí přechází na mandlové oblouky a měkké patro.

Dr. Novák si vezme sterilní odběrovku a zasune ji do držadla ručního systému MyCrobe. Odběrovka se podobá výtěru na špejli, má porézní konec a její tyčinka je dutá. V držadle je zásobník se sterilním pracovním roztokem. Dr. Novák přiloží konec odběrovky k patrovému oblouku a zmačkne zelený knoflík na držadle. Odběrovka se začne otáčet a roztok ze zásobníku zvlhčí povrch porézního konce. Dr. Novák takto setře i povrch tonzil a zmačkne červený knoflík. Tekutina z patrového oblouku a z povrchu mandlí se vsaje do odběrovky.

Poté dr. Novák vyjme ze zásobníku kazetu s nápisem HCD. Do otvoru v kazetě zasune konec odběrovky a zmačkne žlutý knoflík. Konec odběrovky se odřízne a otvor v kazetě se za ním zavře. Kazeta se vloží do držadla a ruční modul MyCrobe začíná pracovat. Výsledek je hotov za 15 minut. Objeví se na displeji držadla a bezdrátově se zanesou do pacientovy dokumentace a do výkazu výkonů pro pojišťovnu.

Co se mezitím v kazetě dělo? Pracovní roztok začal lyzovat odebrané buňky a po zasunutí kazety do držadla se v kazetě rozdělil do dvou komůrek.

V první komůrce se nukleové kyseliny vážou na mikročástice obsahující sekvence 168 možných agens infekcí HCD. Navázané nukleové kyseliny jsou podrobeny rychlé elektropulzní izotermální amplifikaci. Amplikony se hybridizují na čip s cílovými sekvencemi, což vede ke specifickým signálům. Ty se dekodují a vznikne seznam nejpravděpodobnějších etiologických agens (včetně jejich citlivosti zjištěné na základě přítomnosti genů pro rezistenci).

Ve druhé komůrce se štěpí ostatní makromolekuly – bílkoviny, glykoproteiny a polysacharidy. Jejich podjednotky reagují se specifickými ligandami a vážou se na další čip.

Vznikne tak seznam toxinů, enzymů, faktorů rezistence a kapsulárních i jiných antigenů. Systém MyCrobe umí korelovat výsledky z obou komůrek, takže dovede zjistit, jestli se příslušné geny transkribují do funkčních enzymů, toxinů apod.

Použitá kazeta se dá schovat pro případné další analýzy. Kazet má dr. Novák k dispozici řadu druhů – pro stolicí, moč, sputum, likvor, krev, odběry na STD aj.

Co vyšlo u tohoto mladíka?

- sekvence pro *Streptococcus pyogenes*
- geny pro rezistenci na makrolidy, linkosamidy a streptogramin B
- univerzální beta-laktamasa
- specifický antigen skupiny A
- M-antigen typu 3
- žádný pyrogenní exotoxin, jen gen *speA*
- negativní výsledek na EB-virovou DNA a jeho antigeny

Mladík dostal předpis na beta-laktam s účinným inhibitorem beta-laktamas, kartičku s poučením, jak ho brát, a úkol denně hlásit svůj stav e-mailem.

Druhý případ – 53letá dáma s cystitidou nereagující na léčbu

U této pacientky zjistil před 5 dny systém MyCrobe v moči genom *Escherichia coli* (86 000 kopií/ml) a mimo jiné rezistenci na sulfonamidy, karbapenemy a 1. až 6. generaci cefalosporinů. Proto jí byla předepsána 3denní kúra omifloxacinem (OMF), což je bromofluorochinolon dosahující enormní hladiny v moči. Nemocná lék využívala, ale bez efektu, její potíže trvají.

Dr. Novák opakuje vyšetření ručním systémem MyCrobe. Výsledek je stejný: *E. coli* citlivá na OMF. Ten ale na zjevně citlivého mikroba nezabral.

Dr. Novák tedy posílá moč a použitou kazetu do mikrobiologické laboratoře a nasazuje léčbu cystocyklinem (tetracyklin málo ovlivňující střevní a vaginální flóru).

Mikrobiologická laboratoř

Mikrobiologická laboratoř je v místní nemocnici. Pracují v ní dva vysokoškoláci, pět laborantů bakalářů s atestací z lékařské a molekulární mikrobiologie a dalších pět diplomovaných zdravotních laborantů. Jeden z vysokoškoláků je lékař s atestací z lékařské mikrobiologie a s nástavbovou atestací z boje proti mikrobiálnímu terorismu. Druhý je RNDr., kvalifikovaný molekulární mikrobiolog. Laboratoř je vybavena jednak dvěma jednotkami MyCrobe Magna, jednak vším nutným pro klasickou kultivaci a identifikaci mikroorganismů.

Systém MyCrobe Magna dovede vše, co ruční systém, a navíc umí

1. sekvenovat bakteriální DNA a virové DNA a RNA, částečně i genomy hub a parazitů;
2. analyzovat expresi genů a sekvenovat všechny zvýšeně regulované RNA, které se tvoří, když mikrob roste v přítomnosti antibiotika.

Vše, co systém MyCrobe Magna získá, srovná s mezinárodními databázemi a předá do SZÚ. Zprávy CEM vycházejí on-line každou druhou neděli ve 24.00.

Jak si mikrobiologická laboratoř poradila s problémem zmíněné pacientky? Její moč byla kvantitativně naočkována na běžné i chromogenní půdy a navíc na agar s 8 µg OMF/ml. Výsledek odpovídal nálezů dosaženému ručním systémem MyCrobe: vyrostla totiž *E. coli* >75 000 CFU/ml, citlivá na omifloxacin.

Analýzou buněk rostoucích v přítomnosti OMF ale byla nalezena mutace v genu *ompF* pro jeden porinový protein, která ovlivnila stavbu porinového kanálku a tím i prostup OMF přes vnější membránu. Kontrolní pokusy ukázaly, že vnesení divokého genu *ompF* vrátilo izolátu citlivost. Naopak naklonováním mutovaného *ompF* do citlivého kmene vznikly rezistentní transformanty. Získané údaje byly zaneseny do příslušné databáze, aby se mohly případně upravit nové šarže kazet určených k vyšetření moči.

Závěry

Mikrobiologická laboratoř budoucnosti bude kombinovat špičkovou starou i novou technologii, aby mohla

- ověřovat výsledky z terénu,

- poskytovat vrcholnou diagnostiku pro svou nemocnici,
- zajišťovat typizaci kmenů pro epidemiology ve svém rajonu.

Příklad: Z terénu začaly přicházet diskrepantní výsledky typu „stolice enterotoxin pozitivní, *Staphylococcus aureus* negativní“. Ze vzorků se v laboratoři podařilo vypěstovat kmen laktobacila produkujícího stafylokokový enterotoxin. Zjistilo se, že kmen připravila radikální skupina ochránců zvířat a kontaminovala jím řadu šarží továrně vyráběných hamburgerů. Tovární kontrola nemohla toxin zachytit, byla totiž zaměřena jen na průkaz bakteriálních patogenů.

Diagnostické moduly k vyšetření přímo u pacienta zvrátí trend k tzv. konzolidovaným, centralizovaným laboratorím. Pro svou rychlost, přesnost a široký záběr se stanou obrovsky populární nejen mezi lékaři, ale i mezi pacienty. Velké centrální laboratoře se budou muset změnit na vysoce specializovaná pracoviště. Vznikne nástavbová

atestace „laboratorní vyšetřování pro praktického lékaře“, samozřejmě s povinností účastnit se kontrol kvality.

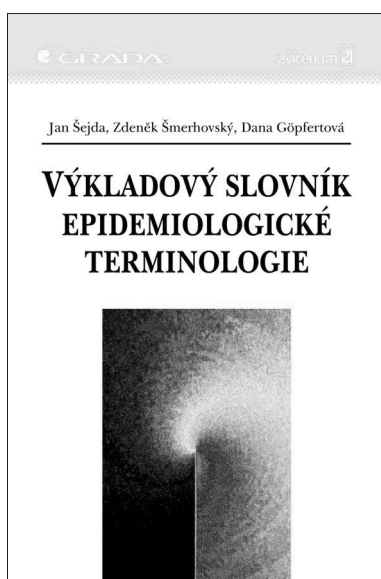
(Předneseno na 21. Pečenkových dnech 19.9.2006 v Hrotovicích na Moravě.)

Literatura

1. Dunne, W.M., Pinckard, J.K., Hooper, L.V. Clinical microbiology in the year 2026. *J Clin Microbiol*, 2002, 40, 3889-3893.
2. Jiná: Nebyla dosud napsána.

Do redakce došlo 3. 10. 2006

Prof. MUDr. Miroslav Votava, CSc.
Mikrobiologický ústav LF MU a FN u svaté Anny v Brně
Pekařská 53
656 91 Brno
e-mail: mvotava@med.muni.cz



VÝKLADOVÝ SLOVNÍK EPIDEMIOLOGICKÉ TERMINOLOGIE

Jan Šejda, Zdeněk Šmerhovský, Dana Göpfertová

Publikace definuje a vysvětluje formou hesel pojmy užívané při studiu výskytu, distribuce a příčin hromadně se vyskytujících nemocí a poruch zdraví. Hlavním cílem publikace je snaha o sjednocení epidemiologické terminologie, vedoucí k užívání standardních a srovnatelných termínů ve vědecké i rutinní práci, a tím i k lepšímu vzájemnému porozumění – jak v oborech epidemiologie a veřejného zdravotnictví, tak i mezi ostatními lékařskými disciplinami. Práce zahrnuje hesla obecné epidemiologie se zaměřením na epidemiologii infekčních nemocí, epidemiologickou metodologii, nejčastější termíny zdravotnické statistiky užívané epidemiology, ale též na vybrané pojmy z příbuzných lékařských oborů, jakými jsou infekční lékařství, lékařská mikrobiologie a hygiena. U řady hesel jsou uváděny i jejich anglické ekvivalenty

usnadňující orientaci v anglické odborné literatuře. Publikace je určena pro pregraduální i postgraduální studium epidemiologie. Je nepostradatelná pro zájemce z celého spektra veřejného zdravotnictví i klinických disciplin, kteří se zabývají epidemiologickými aspekty svého oboru.

Vydala Grada Publishing v roce 2005, ISBN 80-247-1068-4, kat. číslo 1324, A5, brožovaná vazba, 120 stran, cena 159 Kč, 243 Sk.

Publikaci můžete objednat na adrese: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz