

## 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 cys-tocyklinem (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.

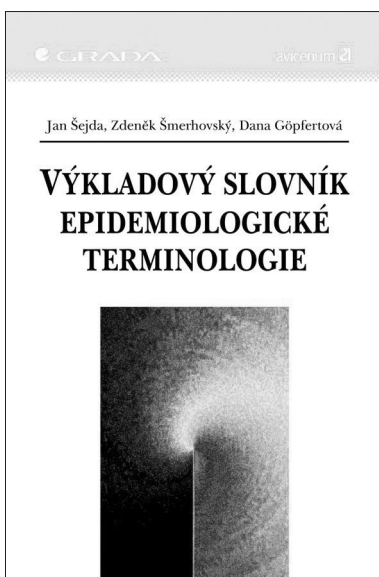
(Předneseno na 21. Pečenkových dnech 19.9.2006 v Hrotovicích na Moravě.)

## 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