

Olfaktorický průkaz *Mycobacteria tuberculosis* ve sputu

Dva renomované odborné časopisy uveřejnily zprávu o neobvyklé jednoduché diagnostické metodě, která využívá schopnosti cvičených afrických krys rozpoznat čichem přítomnost tuberkulózních mykobakterií ve sputu [1, 2]. Podle autorů by mohla tato metoda nahradit klasickou techniku přímé mikroskopie, která má nízkou senzitivitu a jejíž spolehlivost je zejména při vysokém počtu vyšetření nepříznivě ovlivňována klesající percepční schopností mikroskopiků, ze které vyplývá vysoký podíl falešně negativních nálezů. Použití krys jako biodetektorů k diagnostice tuberkulózy (TB) je srovnatelné jen se schopností cvičených psů rozpoznávat čichovou analýzou u nemocných některé typy maligního bujení. Dodejme, že psi i krysy byli již dříve využíváni k vyhledávání min uložených pod zemským povrchem [1, 2].

Projekt cílený na použití krys k čichové identifikaci specifických biomarkerů vylučovaných do ovzduší tuberkulózními mykobakteriemi byl zpracován belgickou výzkumnou humanitární organizací APOPO a agrotechnickou univerzitou v Edwarda Sokoina v Morogoro v Tanzánii. K diagnostickým účelům byly zvoleny krysy obrovské, syn. křečkomys gambijská (*Cricetus gambianus*, angl. Gambian Giant Pouched Rat, něm. Gambia Riesenhamsterratte), jejichž přirozeným biotopem jsou hlavně suché oblasti subsaharské střední Afriky. Svým životem v organizovaných podzemních koloniích a hromaděním potravy v mohutných lícních torbách připomínají křečky a sysly, i když se tělesnou stavbou, dlouhým ocasem a hmotností 2–3 kg podobají spíše robustním krysám. V zajetí se dožívají až 8 let, jsou velmi učenlivé a snadno si pamatují plnění zadaných úkolů. V Africe jsou loveny v přírodě a chovány v zajetí pro chutné maso a v poslední době se pro svou přítulnost a učenlivost stávají oblíbenými domácími mazlíčky v mnoha státech světa i u nás.

Pro účely projektu byly v hornatých oblastech Morogoro a Uluguru ve střední Tanzánii odchyceny divoce žijící krysy, které se staly základem vlastního umělého chovu. V přípravné studii byla přirozená odolnost krys proti TB prokázána několikátýdenní expozicí aerosolové infekci v uzavřeném biohazardním systému. Pro TB projekt byla vybírána mladá individua ve věku 4 týdnů, každé

zvíře bylo pak pojmenováno křestním jménem a označeno podkožním pasivním transponderem PIT. Pak byla jednotlivá zvířata přidělena vlastním cvičitelům, jejichž úlohou bylo navodit pozitivní socializační vztahy se svěřenými jedinci a naučit je reagovat na akustický signál pro podávání potravy. Tato předběžná výuková fáze trvala asi 6 týdnů. V další etapě, kdy dosáhly věku asi 8 týdnů, byly již krysy cvičeny k rozlišování pozitivních a negativních vzorků sputa. Zvířata se nejprve naučila v průběhu tří týdnů čichem určit jeden pozitivní vzorek v řadě několika negativních a v dalších třech týdnech dokázala již rozpoznávat 3 pozitivní vzorky v řadě negativních. Negativní vzorky dokázaly krysy rozpoznat již v době kratší jedné sekundy, zatímco u pozitivních setrvaly více než pět sekund. V poslední fázi výuky trvající 12 týdnů byla zvířata cvičena denně 20 minut na větších souborech sputa a nakonec z nich byly vybrány jedinci vhodní pro použití ve studijním projektu. Z celkového počtu 20 cvičených krys bylo 18 jedinců vyhodnoceno jako vyhovujících, tj. schopných identifikovat více než 80 % pozitivních a jako falešně pozitivních méně než 5 % negativních vzorků.

V pilotním experimentu bylo vždy deset vzorků sputa napipetováno do speciálních kazet, které byly vloženy pod odpovídající uzavřené otvory v kleci se zvířetem. Instruktor postupně otvory otvíral tak, aby krysa mohla každý testovaný vzorek očichat a pokud rozpoznala pozitivní nález (tj. pokud očichávala vzorek alespoň 5 sekund), byla odměněna potravou. V průběhu 15–20 minut bylo každé zvíře schopno ohodnotit celkem 140 (70 opakovaně) vzorků sputa v deseti kazetách. Během roku 2009 bylo vyšetřeno přímou mikroskopii a současně krysami celkem 10 523 nemocných, od každého byla získána sputa ve dvou až třech následných dnech, tj. hodnoceno bylo celkem více než 23 000 vzorků. Pozitivní mikroskopický nález byl hlášen u 1 403 (13,3 %) osob, zatímco krysy rozpoznaly pozitivní nálezy u 1 335 (12,7 %). Krysy však zjistily dalších 620 pozitivních nálezů ve skupině mikroskopicky negativních nemocných, a počet bacilárních nemocných se tak zvýšil o více než 40 %. Ještě příznivějších výsledků dosáhly tři krysy s nejlepšími olfaktorickými schopnostmi (Eusebio, Ahzia a Giggs) –

dokázaly rozpoznat 89–93 % mikroskopicky pozitivních sputa a mylně hodnotily jako pozitivní 2 až 3 % sputa mikroskopicky negativních.

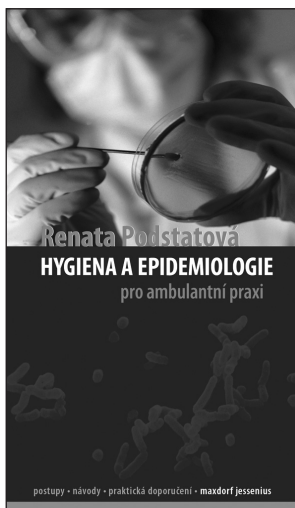
Tanzánie (populace asi 44 000 000 obyvatel), původně součást koloniální Britské východní Afriky patří do skupiny afrických států s nejvyšší zátěží TB: v roce 2009 zde dosahovala incidence TB hodnoty 143/100 000 popul., tj. asi o třetinu více než byl celoafrický průměr a téměř dvacetkrát více než byla incidence TB v České republice. V zemi probíhá velmi úspěšně program kontroly TB na bázi kontrolované léčby antituberkulotiky (DOTS – Directly Observed Treatment, Short-Course), jehož účinnou součástí je laboratorní diagnostika TB založená převážně jen na přímé mikroskopii sputa. Autoři zvolili pro svou studii a pravděpodobně i pro rutinní použití v praxi olfaktorickou techniku průkazu *M. tuberculosis* ve sputu, která využívá v podstatě stejný princip detekce jako klasická přímá mikroskopie – místo optického analyzátoru oka zacvičených mikroskopiků se opírá o čichový analyzátor cvičených krys. Uvádějí, že přímá mikroskopie je ve srovnání s moderními technikami průkazu *M. tuberculosis* v rozvojových zemích s vysokou zátěží TB z ekonomických důvodů stále nejlacinější a nejdostupnější technikou, přestože její nízká citlivost je nepříznivě ovlivňována při vysokých počtech vyšetření únavou mikroskopiků.

V Tanzánii, kde se pravděpodobně mikroskopie praktikuje stále v klasické formě barvením sputa podle Ziehla-Neelsena a zdrojem světla je sluneční záření, nebyla zavedena technika fluorescenční mikroskopie, která je méně náročná na percepční schopnosti lidského oka, a je proto vhodnější pro vysoké počty vyšetření (v České republice je touto technikou vyšetřováno více než tři čtvrtiny vzorků). Blízká budoucnost snad ukáže, zda olfaktorická technika průkazu TB ve sputu nahradí v Tanzánii klasickou metodu přímé mikroskopie, nebo zda i do této oblasti vysoké zátěže TB proniknou nové diagnostické metodiky, jako např. DNA amplifikační techniky nebo rychlé kultivační automatizované systémy.

Literatura

1. Weetjens, B. J., Mgode, G. F., Machangeu, R. S., Kazwala, R., Mfinanga, G. et al. African pouched rats for the detection of pulmonary tuberculosis in sputum samples. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2009, 13, p. 737–743.
2. Poling, A., Weetjens, J. B., Cox, Ch., Mgode, G., Jubitana, M. et al. Using giant african pouched rats to detect tuberculosis in human sputum samples: 2009 findings. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2010, 83, 1308–1310

MUDr. Milan Kubín, DrSc.
Hygienická stanice hl. m. Prahy



HYGIENA A EPIDEMIOLOGIE PRO AMBULANTNÍ PRAXI

Renata Podstatová

Maxdorf 2010, 142 str., edice Jessenius
ISBN: 978-80-7345-212-4
cena: 295 Kč
formát: 110?190 mm, brož.

V publikaci jsou uvedeny možnosti vzniku a šíření infekčních onemocnění v ambulanci a základní zásady hygienicko-epidemiologických opatření v ambulancích, včetně stomatologických pracovišť. Dále jsou v ní shrnuta nejdůležitější opatření v ordinacích týkající se příjmu pacientů, dezinfekce, sterilizace, manipulace s biologickým materiálem a s prádlem, likvidace odpadu, používání osobních ochranných prostředků, používání bariérové ošetřovací techniky, očkování, úklidu, kvality vody a ovzduší.

Mezi nejvýznamnější kroky v prevenci nozokomiálních i profesionálních nákaz v ordinaci patří také dezinfekce rukou vždy před a po zdravotnických výkonech u pacientů, po manipulaci s biologickým materiálem a vždy při uplatňování bariérového ošetřovacího režimu, aby se zabránilo vzniku a šíření infekce. Všechny tyto zásady musejí být popsány v provozních řádech a také důsledně dodržovány ve všech ambulancích. Součástí publikace je i vzorový provozní řád všeobecné ambulance.
Publikace je určena lékařům všech specializací, hygienikům a epidemiologům v terénu.

Objednávky zasílejte e-mailem nebo poštou: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz. Na objednávce laskavě uveďte i jméno časopisu, v němž jste se o knize dozvěděli