

Studijní materiál – speciál č. 149

Září 2012

**Vybráno na počest 80tin přítele MUDr. Josefa Pěčiho**

### **Naši přátelé mikrobi (-ologové)**

Vztahy mezi různými obory medicíny mívají řadu podob, od přátelských přes neutrální, až po diplomaticky řečeno napjaté. Záleží nejen na době, ale hlavně na představitelích těchto oborů. Je možné zaujatě diskutovat, zda mikrobiologie je základ, ze kterého vznikla epidemiologie, či naopak prvotní jsou poznatky epidemiologie, sloužící ochraně zdraví a života lidí, které byly později podpořeny objevem mikrobů a jejich dosud jen neúplně probádaných vlastností. Považuji proto za vhodné připomenout novátorský pohled RNDr. Milana Pejčocha, zveřejněný v SMD:

#### **Vznik resistance na antibiotika u bakterií**

Lidé se většinou domnívají, že resistance na antibiotika vzniká tím, že si bakterie na antibiotika postupně "zvykají". Ve skutečnosti je tomu většinou jinak. Jedním z mechanismů vzniku resistance je mutace v genomu bez přítomnosti antibiotika. Následnou selekcí, pod selekčním tlakem antibiotika, vznikne populace bakterií resistantních na antibiotikum.

-----

Nenuďte se ? Zkusíme to jinak.

Bakterie se normálně množí a vesele si patogéní. Zeptáte-li se takové bakterie co dělá:

- No trochu se snažím vyvolat onemocnění.
- Jak to děláte ?
- Ále, mám na to takové faktory virulence a patogenity. No, to jsem si připravila už doma. Tady to mám nachystaný v aktovce.
- A na čem momentálně pracujete ?
- Dělán angínu. Zabere mi to spoustu času. Věnuju se tomu i ve svém volném čase, často i v noci, ale baví mě to a mohu říct, že se tím plně realizuju.

A v tom tadleta bakterie dostane mutaci. Je z toho celá překvapená, neví na co to je, nikdy předtím se s tím nesečkala, neví co s tím má dělat. Kolegyně jsou zvědavé a ptají se, co to jako má.

- No, chytla jsem resistenci.
- A na co ti to je ?
- Zatím na nic. Ale třeba se mi to někdy hodí.

A bakterie chodí a povídají si, že ta s tou resistencí je nafoukaná, vždycky musí mít něco extra, jenom aby se mohla vytahovat. K ničemu jí to není, jenom tím oblbuje chlapy, stejně ani podprsenku nenosí.

A do tohodle přijde penicilín. Je to náramná pohroma. Bakterie chodí schlíplé, jsou celé otrávené, nechutná jim jíst a hromadně hynou. Ta s tou

mutací je ale na koni. Chodí s nosem nahoru, hubu namalovanou, minisukně sotva půl mikronu, a posmívá se těm zdrchaným:

- Vidíte to, nány pitomý, na co je mi resistance.

A bakterie hynou, všude samej exotoxin a smrad, a naše bakterie má najednou spoustu místa na rozmnožování. Nikdo ji nepřekáží, může se množit o sto šest.

- Tak jdem na to ! A množí se a množí, až oči přecházejí. Všude samé mladé bakterie a všechny po mamince - všechny resistantní: Toník, Fanouš a Helenka a tadyhle Petřík a Růža - všechny mají mutaci po mamince.

- Ale neboj se, Kadlíku, budeš mít mutaci svoji, jen co budeš v pubertě, budeš taky mutovat, ale teď si nech mutaci od maminky. To nevádí, že je ti krapet velká. Tady se to trochu zabere, tady krapet založíme, však rosteš jako z vody - to bude dobré, než půjdeš do školy.

Děcka jsou resistantní jako buci, ničeho se nebojí, nemají žádnou kázeň, rostou z nich doslova gauneři, lezou do krevního oběhu a kde můžou, vytvoří absces. Jeden kluk málem přešel i hematoencefalickou bariéru.

- Tak se na to podívejte ! Z penicilínu si už lautr nic nedělají, je to strašná výchova, kam ten svět jenom spěje.

A tak probíhá patologický proces a lymfocyty B i T mají práce nad hlavu, aby ho zvládly. Dělají přes čas, berou si práci i domů, ale makroorganismus to nedocení a leje do sebe studený pivo i když ho bolí v krku".

-----

No, není to názorný výklad a literární perla ? Frenetický potlesk ovšem provázel i další přednášky na slavnostním semináři jihomoravských epidemiologů v Brně roku 1988. Počínaje osobním vyznáním redaktora SM, který ve své poslední podnikl svéráznou "Exkursi do dějin naší moderní epidemiologie", přes názorný a bohatý přehled Dr Přívorové o byvších poznacích o "Prudkých nemocech nakažlivých, jich šíření se, ochraně proti nim a o desinfekci v domácnosti", následovaný dalším příspěvkem Dr Pejčocha na téma "Příroda jako trvalý zdroj problémů v epidemiologii". Pod názvem "Medicína a toponomastika" analyzoval profesor Dr Votava anatomické termíny v místních jménech složených. Dospěl k překvapivému zjištění, že horní polovina lidského těla se statisticky významně častěji podílí na názvech pomístních jmen (např. Holovousy, Poděbrady aj), než dolní polovina (např. Bosonohy). O vysokou odbornou úroveň semináře se postarala Dr Blažíková, která hovořila o "Lymeské borrelióze z pohledu klinika". Autorům příspěvků stále srdečně děkuji, kéž je Múza zlíbá ještě nastokrát ! A že jsou ti naši "kluci" stále resistantní jako buci !

V této souvislosti další SMS upozornil na možnost jiného typu antimikrobní terapie. Dnes v praxi užívaná antibiotika působí buď bakteriostaticky, nebo baktericidně. Inhibují některé důležité životní pochody bakterií, jako je

například syntéza bílkovin, nebo replikace DNK. Prohloubení poznatků o mechanismech a regulaci virulence bakterií vedlo k myšlence o využití inhibice virulence bakterií bez omezení jejich růstu. Pokusy na zvířatech bylo zjištěno, že stačí malá molekula blokující faktory virulence *Vibrio cholerae* k tomu, aby nedošlo ke vzniku infekce.

Choroboplodnost *Vibrio cholerae* je dána hlavně dvěma faktory virulence – choleroxým toxinem a fimbriemi TCP (toxin coregulated pilus), které jsou potřebné ke kolonizaci střeva. Růst vibrií ve střevě stimuluje kaskádu pochodů vedoucích až k tvorbě aktivátoru transkripčního genu ToxT. Tento aktivátor neovlivňuje životaschopnost vibrií, ale je nezbytný pro jejich virulenci. Aktivuje totiž transkripci genů kódujících choleroxín, TCP i několika dalších faktorů virulence.

Hung DT se spolupracovníky detailně prozkoumali celou řadu malých molekul až našli tu, která inhibuje aktivaci genů choleroxínu (*Hung DT, Shakhnovich EA, Pierson E, Mekalanos JJ. SCIENCE 2005; 310:670-4*). Jedna z vybraných molekul, kterou pojmenovali jako „**virstatin**“, bránila tvorbě jak TCP, tak choleroxínu. V laboratorních podmínkách neovlivňovala růst vibrií, ale velice potlačovala jeho kolonizaci střeva. Podání virstatinu myšákům, jejichž střeva již bylo kolonizováno *V. cholerae*, snížilo počet vibrií v homogenátech střeva o tři řády.

S ohledem na stále narůstající antibiotikorezistenci mikrobů a na to, že v posledních letech pokulhává vývoj nových antibiotik, je objev Hungovy skupiny zvláště významný. Zdá se, že vyhledávání látek, které zabrání tvorbě, nebo aktivizaci faktorů virulence mikrobů, může vést k nálezům nové generace antimikrobních působků. V podstatě by to znamenalo, že látky s „antivirulentním“ účinkem mohou cíleněji působit na určitého patogena, než současné antibiotika. Je ovšem možné, že u mikrobů dojde také k vývoji rezistence na antivirulentní preparáty. Pak by kombinace konvenčních antibiotik spolu s antivirulentními preparáty mohla být tou nejlepší a neúčinnější terapií. Navíc tím, že antivirulentní preparáty obvykle nebudou potlačovat růst patogena, může častěji vzniknout imunitní odpověď, která bude ochranou před opakovanou infekcí. (*N ENGL J MED 354;3, January 19, 2006, s. 296-7*)

Ve SMD212 a SMS č.25 byl také uveden jak pro epidemiology, tak pro mikrobiology zajímavý poznatek:•

Řada lidí se denně několikrát převléká či svléká. Mimo práce fotomodelek a striptérek se mládež ráda svléká v tanečním reji, či drogovém rauši. Málokdo si však uvědomuje důsledky takového počínání, nejen mravní, ale hlavně mikrobiologické. Dermatologové z Londýna a mikrobiologové z Leidenu připravili a uskutečnili neobvyklou studii. V kamrlíku o rozměrech 0,90 m x 1,15 m x 2,35 m uvedli do chodu šterbinový aeroskop a požádali 38 mužů a 34 žen aby se tam postupně úplně svlékli. Hlavním cílem studie bylo zjistit množství mikrobů, které se při tom dostávalo do prostředí z těla svlékajících se lidí. Očekávali, že některé osoby budou intenzivnějšími rozsévajícími mikrobů, ale

chtěli mít přesvědčivý důkaz. Zjistili, že muži při odkládání spodního prádla produkují průměrně 2,5 x až 5 x větší množství životaschopných bakterií než ženy činící totéž. To souhlasí s nevývratným faktem, že muži jsou daleko více mikrobiálně kolonizováni než ženy. Potvrdily to také stěry z různých oblastí těla. S výjimkou nosu našli na všech místech těla mužů větší počet zárodků než u žen. Největší rozdíl kolonizace mikroby byl na dolní polovině těla, což výzkumníci přisoudili tělesným odlišnostem mužů od žen. Pomocí regresní analýzy výsledků vyšetření určovali místa na těle s nejvyšším počtem bakterií. U dam těsně souviselo „rozprašování“ mikrobů do okolí s jejich počtem na holeních. U mužů byla nejvýznamnější souvislost rozsevu mikrobů s jejich počtem na stehnech a na bříše. Proč právě tato místa ? Těsně přiléhající punčochy žen stírají větší vločky deskvamovaného epitelu s mikroby právě na nohách. U mužů se uplatňuje tření mezi šourkem a stehny, při němž se uvolňuje větší množství buněk kontaminovaného epitelu. To může být také příčina toho, že muži jsou vydatnějšími rozséváči *S aureus* než ženy. Měly by se proto ženy stranit mužů, zvláště nejsou-li oblečeni ? Studie prokázala, že k šíření mikrobů nemusí člověk kašlat, kýchat, dotýkat se jiných, ani defekovat či chovat se jinak. Jeden z mužů ve studii uvolnil při svlékání do vzduchu nejméně 3.658 mikrobů, z nichž 360 bylo potenciálně choroboplodných. Dvě ženy byly přímo výstavními kousky nosiček hemolytických streptokoků skupiny B. Odhalování těla je dnes mnohem častější a populárnější než před pouhými 70 lety. Některý koumák mezi mikrobiology se možná pustí do detailnějšího studia tohoto jevu. (Lancet Infec Dis., Vol. 4, Febr 2004, s. 126).

V SMS67 z prosince 2008 je uvedena možnost využívání blokátorů virulence bakterií. Hromadící se potíže s bakteriemi rezistentními na antibiotika vedly k předpovědi, že se vrátíme do doby před objevem antibiotik. Jednou z možností jak tomu předejít může být zavádění nových antibakteriálních preparátů, účinkujících jinak než konvenční antibiotika. Novější studie faktorů virulence a toxinů bakterií umožnily lepší poznání způsobů, jakými patogenní bakterie ovlivňují procesy v buňkách hostitele. Toho lze využít pro vývoj nových antibakteriálních léků, které zneškodní patogenní bakterie. Víme, že široké spektrum Gram-negativních bakterií využívá účinný mechanismus virulence v podobě sekrečního systému typu III (T3SS), který jim umožňuje injikovat do cytosolu lidské, zvířecí či rostlinné hostitelské buňky své efektorové proteiny. Onemocnění jako dýmějový mor, bacilární úplavice, salmonelózy, břišní tyfus, plicní infekce, sexuálně přenosné chlamydiózy i průjmy z velké části využívají T3SS mechanismu ke vpravování bakteriálních proteinů do buněk hostitele. V poslední době se podařilo výběrovým skríníngem najít řadu inhibitorů T3SS. Chemickým úpravám a testování optimální účinnosti byla podrobena v několika *in vitro* a *ex vivo* studiích jedna skupina inhibitorů – salicylované acylhydrazidy (*salicylidene acylhydrazides*). Zkoušky proběhly u řady druhů bakterií, včetně *Yersinia* spp., *Chlamydia* spp., *Salmonella* spp. a *Pseudotuberculosis aeruginosa*. Dosud známé výsledky ukazují, že T3SS

inhibitory se mohou stát novými antibakteriálními léky. ( Keyser P., Elofsson M., Rosell S., Wolf-Watz H.: Virulence blockers as alternatives to antibiotics: type III secretion inhibitors against Gram-negative bacteria. *Journal of Internal medicine*, Vol. 264, 2008, č. 1, s. 17-29).

Nelze také pominout zajímavou informací ze SMS133 o „živém antibiotiku“. Jde o zprávu jedné skupiny výzkumníků, která oznámila, že *Bdellovibrio bacteriovorus*, delta-proteobakterie, která vniká do G- bakterií a usmrcuje je, včetně *Salmonella* ssp a jiných lidských patogenů, může být užita jako živé antibiotikum. Orální dávka predátorského kmene B.b., ne však nepredátorského kmene, snižovala počet zárodků salmonel ve střevě kuřat, která byla čelendžována *Salmonella enteritidis* fagotypu 4 kolonizující střevem. I když dávka B.b. mění složení bakterií ve střevě ptáků, nemá jiný nepříznivý vliv na jejich zdraví a *bdellovibrio* se mezi nimi nepřenáší. (Jane Bradbury : *The Lancet.com/Infection*, Vol. 11, August 2011, s. 592)

Trojici nebezpečných původců nemocničních nákaz (NN) tvoří meticillin-resistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Clostridium difficile* a *Acinetobacter baumannii* (ACB). Velký poprask vyvolalo zjištění, že jedno ze základních opatření proti NN, dezinfekce rukou alkoholovými roztoky (alcohol-based handrubs), výskyt NN spíše zvyšuje než snižuje. V roce 2007 upoutal ACB pozornost odborníků hned ze tří důvodů: (1) je velmi nebezpečným oportunním patogenem zvláště u kriticky nemocných pacientů, vyžadujících mechanickou ventilaci; (2) ACB má mimořádně účinný mechanismus, kterým nabývá a rychle uplatňuje geny resistance; (3) velmi odolává jak čistícím, tak dezinfekčním postupům.

ACB se vyznačuje mimořádnou schopností přetrvávat v nemocničním prostředí, na lůžkovinách, nočních stolcích, telefonních přístrojích, klávesnicích počítačů, výlevkách umývadel, formulářích chorobopisů, nebo ve ventilačních přístrojích. Zde číhá na možný přenos, který se však uskutečňuje hlavně rukama personálu. K jejich dezinfekci se často užívají populární, různě koncentrované roztoky etyl- nebo isopropyl-alkoholu, obvykle v kombinaci s chlorhexidinem a s organickými emolienty.

V poslední době se však ukazuje, že ACB nejen snáší nízké koncentrace etanolu, ale dokonce jej i metabolizuje, ba někdy se pak rychleji množí a nabývá větší virulence. Pracovníci Národního ústavu zdraví (NHS Trust) v Londýně testovali tři kmeny ACB, prevalující v Anglii. Všechny byly necitlivé na amidoglykosidy a cefalosporiny třetí generace, dva kmeny byly navíc necitlivé na karbapeny. Kultivovali je ve standardní chudé, nebo obohacené půdě, k níž přidávali 0,1 % až 10 % buď etylalkoholu, nebo některého ze čtyř komerčních alkoholových desinficiens rukou – Skinman, Softalind, Spirigel, nebo Purell. Ukázalo se, že etylalkohol může zvýšit replikaci ACB a že přídavek kteréhokoli z uvedených preparátů v množství 1 % a menším do kultivační půdy

signifikantně zvýšil růst ACB. Efekt byl nejvýraznější v živinami chudé půdě, možná proto, že přídavek alkoholu zajistil mikrobu další zdroj uhlíku.

Ve zdravotnických zařízeních bývají obvykle nádoby (dispensory) s alkoholovým desinfekčním roztokem připevněny na zeď v umývárkách, nebo na stojanech v pokoji pacientů. Při manipulaci s dispensory a při mytí rukou často dochází k rozstříkávání kapiček roztoku do okolí, což může přispívat k persistenci multirezistentních kmenů ACB v prostředí.

(Dixon B.: There's the rub: infection control that spreads infection. *Infection*.thelancet.com Vol 8 February 2008, s. 91).

Tabulka 1. **Přežívání klinicky významných bakterií na povrchu neživých objektů**

| <b>Bakterie</b>                            | <b>Doba přežívání</b>                       |
|--|---|
| <i>Acinetobacter</i> spp.                  | 3 dny až 5 měsíců                           |
| <i>Bordetella pertussis</i>                | 3 až 5 dnů                                  |
| <i>Campylobacter jejuni</i>                | až 6 dnů                                    |
| <i>Clostridium difficile</i> (spóry)       | 5 měsíců                                    |
| <i>Chlamydia pneumoniae</i> , C.           | ≤ 30 hodin                                  |
| <i>Chlamydia trachomatis</i>               | ≤ 30 hodin                                  |
| <i>Chlamydia psittaci</i>                  | 15 dnů                                      |
| <i>Corynebacterium diphtheriae</i>         | 7 dnů až 6 měsíců                           |
| <i>Corynebact. pseudotuberculosis</i>      | 1 - 8 dnů                                   |
| <i>Escherichia coli</i>                    | 1,5 hodiny až 16 měsíců                     |
| <i>Enterococcus</i> spp., včetně VRE a VSE | 5 dnů až 4 měsíce                           |
| <i>Haemophilus influenzae</i>              | 12 dnů                                      |
| <i>Helicobacter pylori</i>                 | ≤ 90 minut                                  |
| <i>Klebsiella</i> spp.                     | 2 hodiny až víc než 30 měsíců               |
| <i>Listeria</i> spp.                       | 1 den až několik měsíců                     |
| <i>Mycobacterium bovis</i>                 | déle než 2 měsíce                           |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i>          | 1 den až 4 měsíce                           |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i>               | 1 až 3 dny                                  |
| <i>Proteus vulgaris</i>                    | 1 až 2 dny                                  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>              | 6 hodin-16 měsíců, na suché podlaze 5 týdnů |
| <i>Salmonella typhi</i>                    | 6 hodin až 4 týdny                          |
| <i>Salmonella typhimurium</i>              | 10 dnů až 4,2 roku                          |
| <i>Salmonella</i> spp.                     | 1 den                                       |
| <i>Serratia marcescens</i>                 | 3 dny až 2 měsíce, na suché podlaze 5 týdnů |
| <i>Shigella</i> spp.                       | 2 dny až 5 měsíců                           |
| <i>Staphylococcus aureus</i> , včetně MRSA | 7 dnů až 7 měsíců                           |

|   |                              |
|---|------------------------------|
| <i>Streptococcus pneumoniae</i>   | 1 až 20 dnů                  |
| <i>Streptococcus pyogenes</i>   | 3 dny až 6,5 měsíce          |
| <i>Vibrio cholerae</i>  | 1 až 7 dnů                   |
| <b>Přežívání kliniky významných kvasinek na suchém povrchu neživých objektů</b> |                              |
| <i>Candida albicans</i>   | 1 až 120 dnů                 |
| <i>Candida parapsilosis</i>   | 14 dnů                       |
| <i>Torulopsis glabrata</i>  | 102 – 150 dnů                |
| <b>Přežívání kliniky významných virů na suchém povrchu neživých objektů</b>     |                              |
| Adenovirus  | 7 dnů až 3 měsíce            |
| Astrovirus  | 7 až 90 dnů                  |
| Coronavirus   | 3 hodiny                     |
| SARS-coronavirus  | 72 až 96 hodin               |
| Coxsackie virus   | déle než 2 týdny             |
| Cytomegalovirus   | 8 hodin                      |
| Echovirus   | 7 dnů                        |
| HAV   | 2 hodiny až 60 dnů           |
| HBV   | déle než 7 dnů               |
| HIV   | déle než 7 dnů               |
| Herpes simplex virus, typ 1 i 2   | 4,5 hodiny až 8 týdnů        |
| Influenza virus   | 1 až 2 dny                   |
| Norovirus a kočičí kaliciavirus (FCV)   | 8 hodin až 7 dnů             |
| Papillomavirus typ 16   | déle než 7 dnů               |
| Papovavirus   | 8 dnů                        |
| Parvovirus  | déle než 1 rok               |
| Poliovirus typu 1   | 4 hodiny až méně než 8 dnů   |
| Poliovirus typu 2   | 1 den až 8 týdnů             |
| Pseudorabies virus  | ≤ 7 dnů                      |
| Respiratorní synciciální virus  | až 6 hodin                   |
| Rhinovirus  | 2 hodiny až 7 dnů            |
| Vakciniavirus   | 3 týdny až méně než 20 týdnů |

Dne 10. září 2012 oslaví své **80. narozeniny MUDr. Jozef Péči**, velká osobnost mezi slovenskými i českými epidemiology. Přísllovečná byla a je jeho odvaha poprat se s všelikými potížemi, které život přináší. Znam jej už více než půl století a přece mne stále obohacuje novými podněty, často tak překvapivými, že nikdy nezevšední.

Nechci a ani nemohu podat výčet jeho odborných aktivit a úspěchů. Mé přání by pak vypadalo jako nekrolog a k tomu má náš jubilant daleko. Rozený Poeta natus si zaslouží hrstičku nestrojených veršů, které ani zdaleka neoplatí jeho básnické výboje:

„Mnoho krásných slov bylo a bude vyřčeno k oslavě zasloužilého kmeta.

Nemálo nářků a slz bylo prolito, že po mládí je veta.

Byť sedí už za chrbtem staroba kletá a nesplněna zůstává leckterá junácká meta, kdo zbraně by složil a přestal se rvát – je sketa“.

Nás pamětníků zdárného rozvoje čs. epidemiologie je stále méně. Naštěstí dosud o nás neplatí konstatování, že „pamětník je muž v letech, který se stále ještě otáčí za každou sukni, jenže si nemůže vzpomenout proč“. Je mi trochu líto, že pro Jožovy pečlivě vyholené líce nelze použít krásný a moudrý povzdech slovuťného mikrobiologa, profesora M. Votavy:

Loučím se s mládím, místo dívčích vnaď - šedý plnovous hladím

Milý Jožo !

Mé přání psané v množném čísle není výrazem mé nafoukanosti, ale vyjadřuje mínění mnoha dalších, kteří Tě znají osobně a třeba jen z doslechu. Zaslouhuješ poděkování a obdiv za odvedenou práci. Proto tím srdečněji Ti mohu poslat přání všech, aby Tvé zdraví bylo železné (doufám, že už dlouho nekouříš !), aby Tvá mysl byla stále jasná a třpytila se jako stříbro a aby Tvé zlaté srdce dále nás všechny oblažovalo. Vždyť „*Vinum bonum laetificat cor hominis. Vinum sume vetus, si vis veterascere laetus !* Dobré víno rozveseluje srdce člověka. Popíjej staré víno, chceš-li vesele stárnout !

Vlád'a a spol.