

KULTIVAČNÍ ANALÝZA MIKROBIOTY U ONKOLOGICKÝCH ONEMOCNĚNÍ

Autor: Filoušová I., Jiříčková M.

Školitel: Raclavský V., doc. MUDr., Ph.D.

Ústav mikrobiologie, LF UP v Olomouci

Úvod

Nemalobuněčné karcinomy (NSCLC) tvoří přibližně 85% všech nádorů plic. Histologicky je můžeme rozdělit na spinocelulární karcinomy, adenokarcinomy a velkobuněčné karcinomy. Na rozdíl od malobuněčného karcinomu rostou pomalu a jsou dlouho bezpříznakové, proto jsou často diagnostikovány až v pozdním stádiu. 55% pacientů má v době diagnózy již vzdálené metastázy. Hlavním rizikovým faktorem pro vznik karcinomu plic je kouření, méně často chronické intersticiální záněty plic nebo inhalace škodlivých látek jako je radon či azbest. Vzhledem k nárůstu incidence u nekuřáků v posledních letech se uvažuje i o vlivu genetických faktorů, ale také mikrobiomu.

Cíle

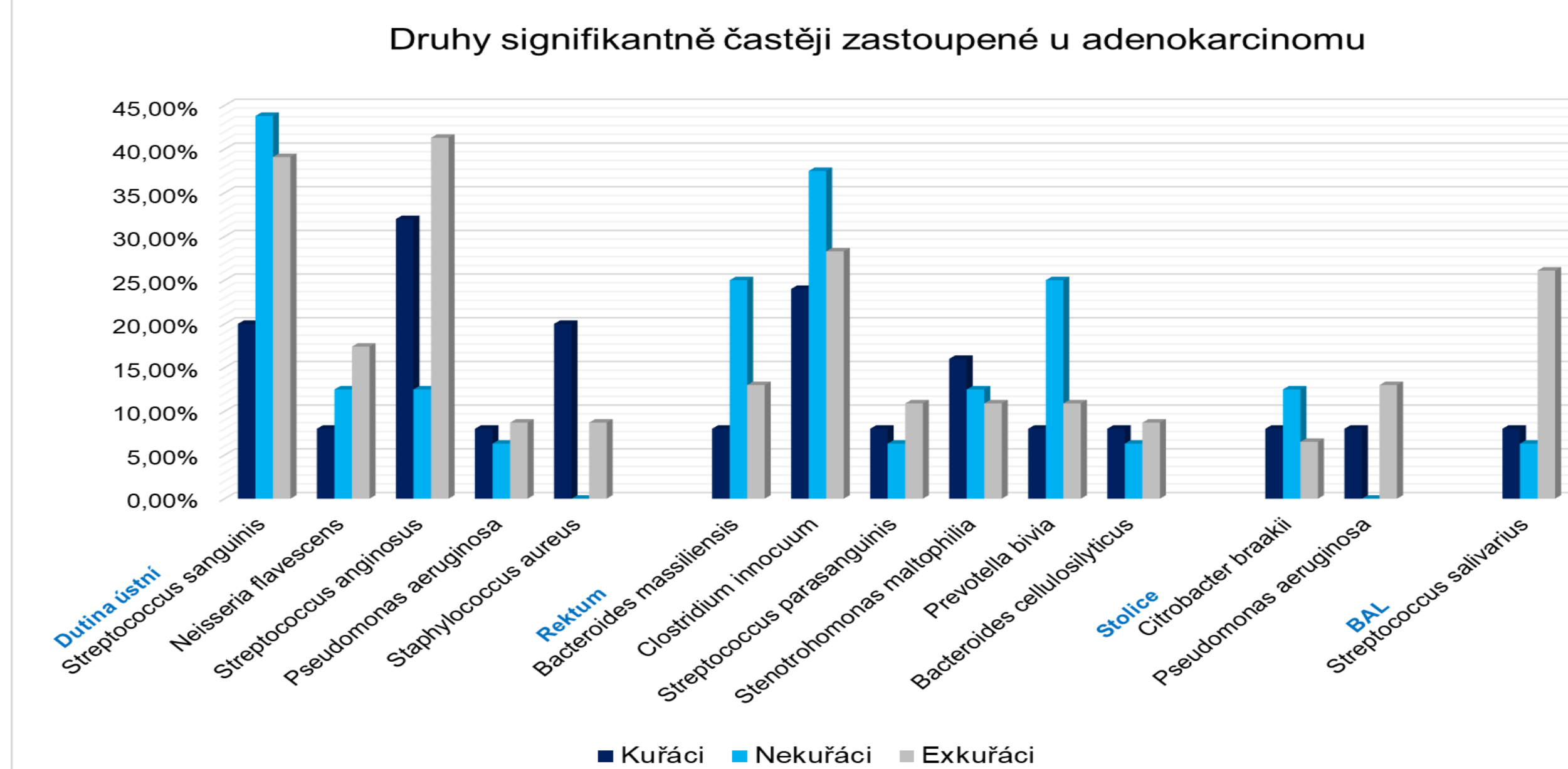
Porovnat výskyt vybraných zástupců mikrobioty u pacientů se dvěma histologickými typy nemalobuněčného karcinomu plic - adenokarcinomem a spinocelulárním karcinomem. Naším dalším cílem bylo posoudit vztah mezi přítomností statisticky významných druhů a kouřením. Hodnotily jsme jejich četnost u kuřáků, nekuřáků a exkuřáků. Případné nalezené asociace by v budoucnu mohly přispět k lepšímu zacílení navazujících diagnostických i léčebných postupů.

Metodologie

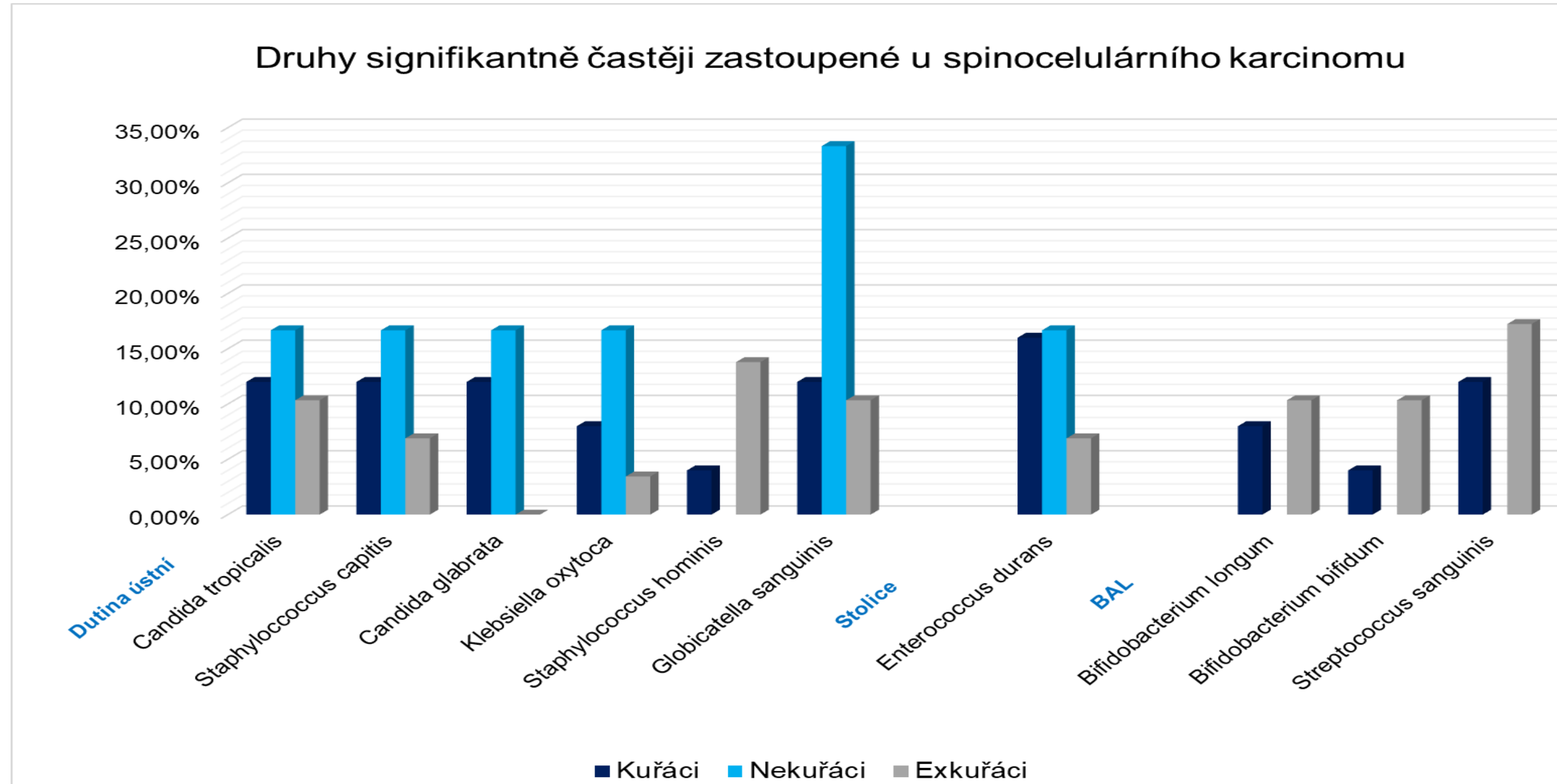
V období od dubna 2019 do října 2021 byly od pacientů, kteří vyhledali péči Kliniky plicních nemocí a tuberkulózy FNOL z důvodu podezření na zhoubný novotvar plic, odebrány vzorky na kultivaci. Jednalo se o výplach dutiny ústní, výtěr z rekta, vzorek stolice a tekutinu z BAL. Po dokončení diferenciální diagnostiky byla do hodnocení zahrnuta data pouze od těch pacientů, u kterých byla potvrzena diagnóza NSCLC, včetně jednoznačné klasifikace histologického typu. Zkoumaný soubor zahrnoval 87 pacientů s adenokarcinomem (30 žen, 57 mužů; věkový průměr 70 let) a 60 pacientů se spinocelulárním karcinomem plic (17 žen, 43 mužů; věkový průměr 71 let). Kultivace probíhala na půdách: krevní agar, Sabouraud agar, NAS, Anaerobní krevní agar BHI, Schaedlerův agar, FA agar s neomycinem (vše Oxoid CZ s.r.o.), v případě stolice a výtěru z rekta navíc na MacConkey agar a Deoxycholát-citrátový agar (Trios s.r.o.). Ze vzorků vykultivované mikroorganismy byly identifikovány metodou hmotnostní spektrometrie MALDI TOF.

Výsledky

Na základě porovnání výsledků kultivace u pacientů s adenokarcinomem a spinocelulárním karcinomem byl zjištěn významný rozdíl v zastoupení některých druhů. U pacientů s adenokarcinomem bylo vyšší zastoupení *Streptococcus sanguinis*, *Neisseria flavescens*, *Str. anginosus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides massiliensis*, *Clostridium innocuum*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Str. salivarius* ($P < 0,05$). U pacientů se spinocelulárním karcinomem se častěji vyskytoval menší počet druhů, např. *Candida tropicalis*, *Globicatella sanguinis* a *Staphylococcus capitis*. Po korelaci s kouřením, se ukázalo, že část bakterií je potlačována kuřáctvím, takže jejich relativně vyšší výskyt u adenokarcinomu je pravděpodobně způsobem jejich prostým potlačením u kuřáků se spinocelulárním karcinomem. Na kouření nezávislá byla pouze asociace *Str. anginosus* a *P. aeruginosa*, v obou případech jde o prozánětlivé oportunní patogeny.



Graf č. 1. Zobrazení procenta kuřáků, nekuřáků a exkuřáků ze souboru pacientů s adenokarcinomem s přítomností konkrétního signifikantního druhu.



Graf č. 1. Zobrazení procenta kuřáků, nekuřáků a exkuřáků ze souboru pacientů se spinocelulárním karcinomem s přítomností konkrétního signifikantního druhu.

Častější u adenokarcinomu			
Dutina ústní (DÚ)	adenokarcinom	spinocelulární karcinom	p
<i>Streptococcus sanguinis</i>	30	6	0,001
<i>Neisseria flavescens</i>	12	1	0,016
<i>Streptococcus anginosus</i>	29	9	0,019
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	0	0,042
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	1	0,05
Výtěr z konečniku (R)	adenokarcinom	spinocelulární karcinom	p
<i>Bacteroides massiliensis</i>	12	0	0,003
<i>Clostridium innocuum</i>	25	6	0,01
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	8	0	0,022
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	11	1	0,028
<i>Prevotella bivia</i>	11	1	0,028
<i>Bacteroides cellulosilyticus</i>	7	0	0,042
Stolice (ST)	adenokarcinom	spinocelulární karcinom	p
<i>Citrobacter braakii</i>	7	0	0,045
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	0	0,047
Bronchoalveolární laváž (BAL)	adenokarcinom	spinocelulární karcinom	p
<i>Streptococcus salivarius</i>	15	4	0,029

Tabulka č. 1. Mikrobiální druhy statisticky významně častěji zastoupené u adenokarcinomu ve srovnání se spinocelulárním karcinomem plic.

Častější u spinocelulárního karcinomu			
Dutina ústní (DÚ)	adenokarcinom	spinocelulární karcinom	p
<i>Candida tropicalis</i>	1	7	0,007
<i>Staphylococcus capitis</i>	1	6	0,016
<i>Candida glabrata</i>	0	4	0,023
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	4	0,023
<i>Staphylococcus hominis</i>	1	5	0,036
<i>Globicatella sanguinis</i>	5	9	0,046
Výtěr z konečniku (R)	adenokarcinom	spinocelulární karcinom	p
<i>Enterococcus durans</i>	2	7	0,01
<i>Proteus vulgaris</i>	3	0	0,045
<i>Staphylococcus hominis</i>	3	0	0,045
Bronchoalveolární laváž (BAL)	adenokarcinom	spinocelulární karcinom	p
<i>Bifidobacterium longum</i>	0	5	0,012
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	0	4	0,031
<i>Streptococcus sanguinis</i>	3	8	0,046

Tabulka č. 2. Mikrobiální druhy statisticky významně častěji zastoupené u spinocelulárního karcinomu ve srovnání s adenokarcinomem plic.

Závěr

Vznik spinocelulárního karcinomu má úzkou souvislost s kouřením, naopak u nekuřáků se častěji vyskytuje adenokarcinom. Rozdílné zastoupení mikroflóry u pacientů s adenokarcinomem a spinocelulárním karcinomem tak může být způsobeno buď dlouhodobým vlivem kouření, nebo se může jednat o faktor uplatňující se v kancerogenezi. Naše práce detekovala dva druhy bakterií, které jsou asociovány s adenokarcinomem bez ohledu na kouření, takže jde o potenciální markery tohoto typu NSCLC.