



KULTIVAČNÍ ANALÝZA MIKROBIOMU U ONKOLOGICKÝCH ONEMOCNĚNÍ

Autor: Jaroš A., Ronec R.

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

Ústav mikrobiologie, LF UP v Olomouci

Úvod

Etiologie onkologických onemocnění je velice komplexní a medicína se už desetiletí snaží najít souvislosti mezi malignitami a vnějšími nebo vnitřními faktory – fyzikálními, chemickými, genetickými. U některých nádorů byla prokázána asociace s určitým typem mikrobiomu, metody charakterizace mikrobiomu ale dosud nejsou uspokojivě standardizované. Proto se v poslední době objevují snahy doplnit je vylepšenými a rozšířenými postupy tradiční kultivace, která se jinak zaměřuje jen na klinicky významné patogeny a nebyla dosud využívána pro komplexnější charakterizaci mikrobioty.



Obr.1: *Staphylococcus Aureus* na KA, zdroj foto autora

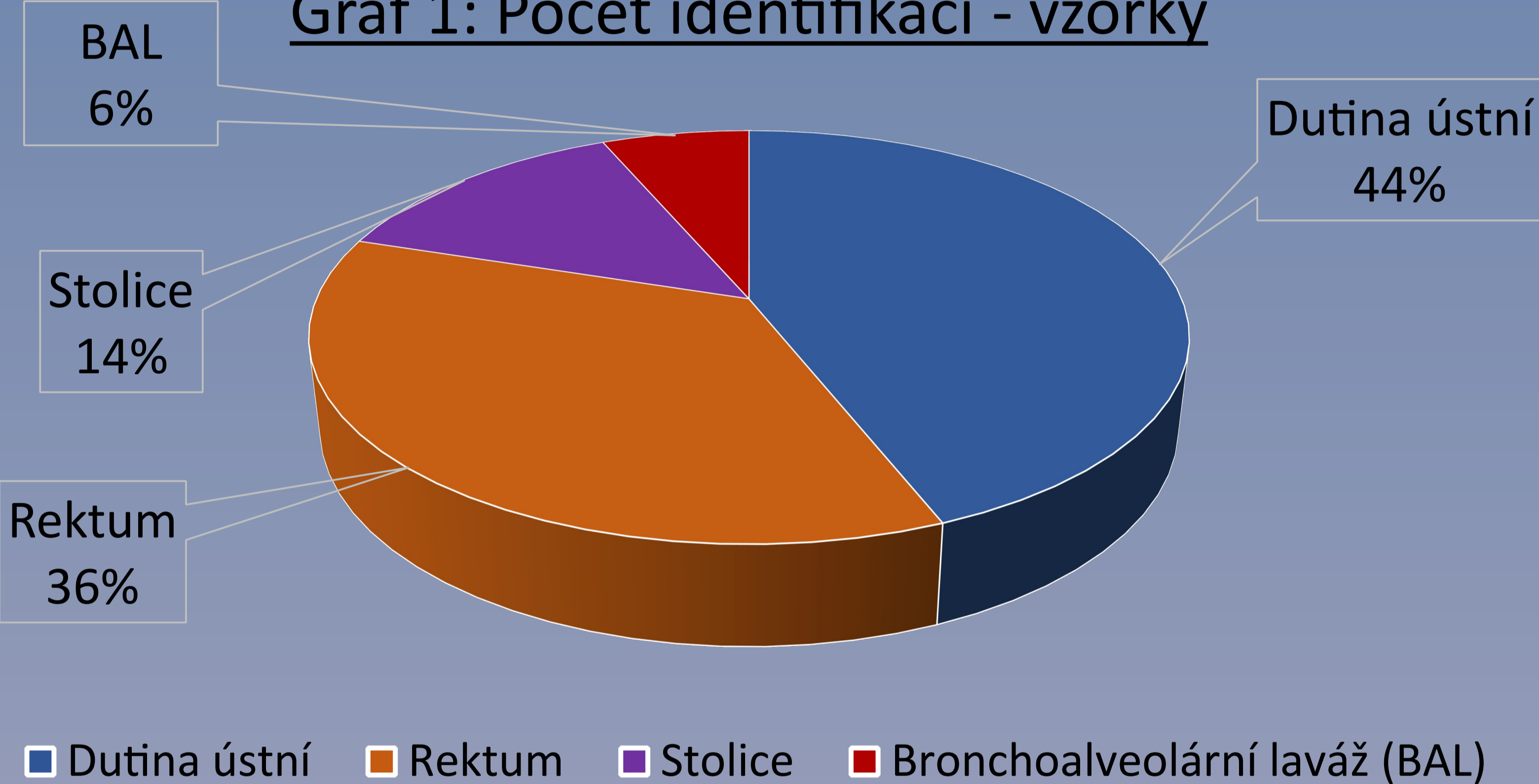
Cíle

Cílem analýzy bylo otestovat širší spektrum kultivačních půd a porovnat výtěžnost jednotlivých půd pro všechny vykultivované druhy bakterií, najít nevhodnější půdy pro kultivaci daných druhů bakterií a zhodnotit kvalitu identifikace pomocí MALDI TOF pro jednotlivé druhy.

Metodologie

Na 6 typů půd byly očkované vzorky výplachů z dutiny ústní, BAL, výtěrů z rektu a vzorky stolice pacientů 1. chirurgické kliniky a Plicní kliniky FNOL a kultivovány za aerobních, mikroaerofilních a anaerobních podmínek (Graf 1). Vykultivované izoláty byly identifikovány metodou MALDI TOF hmotnostní spektrometrie. Předmětem SVOČ bylo zpracování laboratorních výsledků a jejich zhodnocení.

Graf 1: Počet identifikací - vzorky



Rod	Druh	Celkovo vzorků	Vzorků na KA	Výtěžnost KA %	Druhá nejlepší půda (X)	Výtěžnost X %
Neisseria	macacae	33	32	97,0%	F	18,2%
Neisseria	subflava	65	62	95,4%	F	12,3%
Rothia	dentocariosa	63	59	93,7%	F	15,9%
Neisseria	oralis	14	13	92,9%	F	28,6%
Rothia	aeria	13	12	92,3%	S	15,4%
Neisseria	perflava	12	11	91,7%	F	8,3%
Corynebacterium	amycolatum	42	37	88,1%	F	16,7%
Corynebacterium	aurimucosum	33	29	87,9%	F	12,1%

Tabulka 1: Výtěžnost krevního agaru (KA) pro některé druhy, pro které je KA nevhodnější.

Výsledky

Bylo hodnoceno 9872 výsledků identifikací (2296 od 51 pacientů 1. chirurgické kliniky se zaměřením na kolorektální karcinom a 7576 od 244 pacientů plicní kliniky se zaměřením na nemalobuněčný karcinom plic), celkem bylo rozlišeno 415 různých druhů bakterií a kvasinek. Krevní agar se ukázal jako nevhodnější pro 29 druhů, F.A. agar s neomycinem pro 26 druhů, anaerobní krevní agar pro 16 druhů, NAS agar pro 17 druhů, Schaedlerův anaerobní agar pro 4 druhy, a čokoládový agar s bacitracinem pro 2 druhy (Tab.2). U 164 druhů (80,4 %) se podařilo dosáhnout průměrného identifikačního skóre $\geq 2,0$ nezbytného pro spolehlivou druhovou identifikaci (Tab.3). Na příkladu krevního agaru (KA) uvádíme výtěžnost (izolační sensitivitu) pro některé druhy, pro které je krevní agar nevhodnější (Tab.1). Výtěžnost např. 92,9 % pro *Neisseria oralis* znamená, že z celkového počtu kultivací tohoto druhu byl KA schopen ji zachytit u 92,9 % pacientů, druhý nejúspěšnější byl anaerobní krevní agar, který tento druh zachytil u 28,6 % pacientů.

Nejvhodnější půda	Počet druhů
Krevní agar	29
F.A. agar s neomycinem	26
Anaerobní krevní agar	16
NAS agar	17
Schaedlerův anaerobní agar	4
Čokoládový agar s bacitracinem	2

Tabulka 2: Pořadí půd podle počtu druhů, pro které mají nejvyšší výtěžnost (izolační sensitivitu).

Tabulka 3: Kvalita identifikace – výběr nejlépe a nejhůře identifikovaných bakterií podle skóre. Byly hodnoceny pouze bakterie, u kterých byla identifikace provedena alespoň u 10 nezávislých izolátů.

Rod	Druh	SCORE	Celkovo vzorků	MIN	MAX
Lactobacillus	rhamnosus	2,361	80	1,95	2,57
Enterococcus	faecalis	2,306	166	1,75	2,48
Peptoniphilus	lacrimalis	2,283	11	1,986	2,412
Parvimonas	micra	2,281	12	2,09	2,49
Bacteroides	fragilis	2,277	87	1,84	2,54
Citrobacter	freundii	2,273	16	1,988	2,48
Aggregatibacter	segnis	1,881	10	1,72	2,06
Prevotella	buccalis	1,881	12	1,733	2,045
Campylobacter	hominis	1,879	11	1,75	2,01
Actinomyces	odontolyticus	1,87	254	1,7	2,205
Candida	dubliniensis	1,855	29	1,7	2,09
Fusobacterium	periodonticum	1,774	11	1,71	1,89

Záver

Kvalitní kulturomické analýzy jsou proveditelné, jejich výtěžnost je vyšší při větší redundanci – i půdy s největší výtěžností pro daný druh většinou nezachytily všechny izoláty tohoto druhu detekovatelné na dalších kultivačních médiích.