

## Letní překvapení

Zprac.: MUDr. Vladimír Plesník

### „Odzbrojování patogenů“ – nový přístup k vývoji antibiotik

Dnes v praxi užívaná antibiotika působí buď bakteriostaticky, nebo baktericidně. Inhibují některé důležité životní pochody bakterií jako je například syntéza bílkovin, nebo replikace DNK. Zásadní prohloubení poznatků o mechanismech a regulaci virulence bakterií, získané v posledních dvaceti letech, vedlo k myšlence o jiném typu antimikrobní terapie. Tím je inhibice virulence bakterií bez omezení růstu bakterií. 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 aby našli tu, která inhibuje aktivaci genů choleroxínu (*Hung DT, Shakhnovich EA, Pierson E, Mekalanos JJ. SCIENCE 2005; 310:670-4*). Jedna z vybraných, kterou pojmenovali jako „virstatin“, bránila tvorbě jak TCP, tak choleroxínu. V laboratorních podmínkách neovlivňovala růst vibria, ale velice potlačovala jeho kolonizaci střeva. Podání virstatinu myšákům, jejichž střevo 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 současná 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 nejúčinnější 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*)

### Překvapivé zjištění poliomyelitidy v USA

Američtí experti byli šokováni nálezem zvláštního kmene polioviru, který infikoval jednoho kojence z malé vesnice na venkově Minnesoty. Naposled se v Minnesotě vyskytla infekce divokým poliovirem roku 1979. Dosavadní výsledky genetické analýzy tohoto kmene polioviru svědčí o jeho původu ze Sabinova vakcinálního viru, užívaného v orální poliiovakcíně. Je známo, že tento atenuovaný virus může znovu nabýt virulenci a vzácně i vyvolat onemocnění. Sedmiměsíční kojeneček však nebyl

očkovan proti polio a navíc OPV se v USA nežívá od roku 2000. Odborníci z CDC spekulují, zda tento případ není projevem nové, záhadné cesty přenosu viru, která začala před více než dvěma lety v jiné zemi.

Na celou záležitost se přišlo při pokusu o izolaci viru ze vzorku stolice od kojence hospitalizovaného s potížemi, které přičítali vrozenému imunodeficitu. Dítě nemělo žádné obrny, takže záchyt polioviru byl ohromným překvapením. Pracovníci CDC spočítali počet mutací, kterými musel projít vakcinální poliovirus než nabyl podobu izolovaného viru. Zdá se, že virus pochází od osoby, která byla očkována OPV asi před dvěma roky. Buď byla sama imunokompromitovaná, nebo brzy nakazila jinou imunokompromitovanou osobu, která pak stále virus vylučovala. Zatím co genetici se snaží najít zdroj a jeho souvislost s nemocným kojencem, minesotští epidemiologové se pokouší zjistit, zda se tento poliovirus šířil v rodině nemocného, nebo v nemocničním prostředí. To by bylo zvláště nebezpečné pro další imunokompromitované pacienty. Nebezpečí většího rozšíření viru mezi obyvatelstvem USA je s ohledem na vysokou proočkovanost malé. Nemocný kojenec však příslušel k náboženské sektě, která odmítá očkování. Proto nyní navštěvují všechny rodiny, dům od domu, a doufají, že se jim podaří odebrat vzorky krve a stolice a také přesvědčit příslušníky sekty o potřebě očkování.

(SCIENCE, Vol 310, 14 October 2005, s. 213)

### Arteficiální potrat a klostridiové infekce

V květnu roku 2006 se v Atlantě (USA) na popud CDC sešli odborníci a vedoucí zdravotnických úřadů aby se poradili o dalším postupu proti stále narůstajícímu počtu dvou život ohrožujících bakteriálních infekcí. Původcem jedné z nich je ***Clostridium sordelli***. Tento patogen připravil o život mladé ženy, které podstoupily arteficiální potrat, většinou vyvolaný „potratovou pilulkou“ RU-486.

Druhým nebezpečím jsou stále častější nozokomiální infekce vyvolávané ***Clostridium difficile***, které bývá přítomné v tlustém střevě a od roku 2000 usmrtilo stovky hospitalizovaných pacientů. V poslední době je však stále častěji nalézáno i u zdravých osob a zvířat. To vede k obavám z alimentárního přenosu tohoto patogenu. Počet nemocných v UK stoupl v posledních deseti letech z 1 na 22 případů u 1000 pacientů. Také se zvýšila smrtelnost z 1 % na 7 %. Pro nozokomiální infekce *Cl. difficile* je charakteristické, že vznikají u pacientů léčených antibiotiky, ale přibývá též nemocných, kteří nejsou hospitalizováni, ani v poslední době nebrali antibiotika.

Ještě méně je známo o infekcích, vyvolávaných ***Clostridium sordelli***. Nebyl zjištěn žádný predispoziční faktor a na rozdíl od *Cl. difficile* je onemocnění způsobené *Cl. sordelli* téměř neléčitelné. Potratová pilulka RU-486 se v USA užívá od roku 2000. Během postmarketingové surveillance bylo hlášeno několik náhlých úmrtí na klostridiovou infekci jinak zdravých žen, které užily RU-486. V poslední době byl prokázán také smrtelný průběh infekce ***Clostridium perfringens*** a objevily se dohady o úloze gravidity na těchto úmrtích. Pracovníci z Bethesdy zjistili, že toxiny *Cl. sordelli* poškozují hormonální receptory pro glukokortikoidy, což může předurčovat infikované těhotné ke vzniku mimořádně silné zánětlivé reakce. Výrobci urychleně pracují na přípravě vakcín i na hledání látek, které by se vázaly na toxiny *Cl. difficile* a neutralizovaly je.

(SCIENCE, Vol 312, 19 May 2006, s. 986)

Obvykle dochází k manifestním infekcím *Cl. difficile* po tom, co je normální střevní flóra narušena podáváním antibiotik. Vznikají různě intenzivní vodnaté průjmy. Když se však v Anglii objevily v 15 nemocnicích případy nozokomiálních klostridiových infekcí se 25 úmrtími objevilo se podezření na přítomnost nového virulentního kmene. Nejvíce ohroženy jsou staré, oslabené osoby, nemoc probíhá neobvykle pod obrazem

toxického megakolon a perforace tlustého střeva. Výrazně se zvýšila frekvence relapsů. Při typizaci izolovaných kmenů se ukázalo, že původcem těchto těžkých onemocnění je *Cl. difficile* typu O27, které se dříve vyskytovalo v Anglii jen ojediněle. Tento typ byl také roku 2004 původcem podobných epidemií v Severní Americe a Kanadě, nověji i v Nizozemí. Typ O27 produkuje 10-20 krát více toxinu než běžné kmeny *Cl. difficile*, navíc při růstu mikroba logaritmicky stoupá produkce toxinu. Je také přinejmenším částečně rezistentní i vůči novějším fluorochinolonom. Proto je nutné omezovat podávání antibiotik, zvláště širokospektrých. Pacienty s touto infekcí je třeba izolovat, dbát na důkladnou a častou dekontaminaci jejich pokojů pomocí účinných chlorových dezinfekčních preparátů. Zdravotní personál je třeba informovat, že přednost má mytí rukou vodou a mýdlem, protože alkoholové dezinfekční gely, zavedené k potlačování šíření meticilin-rezistentního *Staphylococcus aureus* (MRSA), jsou na spóry *Cl. difficile* neúčinné.

(The Lancet Infection, Vol. 5, September 2005, s. 535)

### **Jsou komáři rezistentní na vývoj plasmodií přirozenou ochranou před malárií ?**

Kdyby na světě existovali jen komáři, v jejichž střevě nemůže probíhat redukce plasmodiových makrogametocytů na makrogamety, ani další vývoj parazita od mikrogamet přes zygoty, ookinety, oocysty po sporozoity ve slinných žlázách komára, nebyli by lidé ohrožováni malárií. Tato představa vede část výzkumníků k pátrání po genech komárů, které znemožňují vývoj plasmodií v jejich těle. Konečným cílem by mohlo být rozšíření žádoucích genů do celé komáří populace.

Ukázalo se však, že umělé navození takové rezistence komárů není nezbytné. V endemické malarické oblasti v Mali byla nalezena řada komárů rodu *Anopheles gambiae*, nejčastějšího přenašeče malárie v Africe, kteří byli přirozeně odolní vůči původci malárie. Bylo zjištěno, že podstatou této odolnosti je jeden, nebo několik genů v maličké oblasti genomu komára. Možná postačí zlikvidovat menšinu vnímavých komárů, ale jak to udělat ?

Výzkumníci z Minnesoty, Seatlu, Washingtonu a Bamaka nasbírali v chatrčích domorodců v Mali komáři samičky a každé umožnili vyvést jednu generaci svých potomků. Tyto potomky nechali sát krev domorodce s malárií. Po 7-8 dnech zhotovili tenké řezy jejich těl a spočítali počet oocyst plasmodií ve střevě komára. Čím menší byl jejich počet, tím odolnější byl vyšetřovaný komár. Zjistili, že pro rezistenci komárů je nejdůležitější malá oblast chromosomu 2L *A. gambiae*. Tato oblast, kterou hrdě nazvali jako „Ostrov rezistence vůči plasmodiím“, obsahuje téměř 1000 genů. Pomocí různých technik vybrali jeden gen, *APL I*, který se zdá být nejdůležitější. Pokud je jeho činnost zablokována interferencí RNA, stávají se komáři vnímaví k infekci. Je však možné, že na rezistenci se podílí také další geny.

Největším překvapením pro výzkumníky byla poměrně častá rezistence: ze 101 skupin komářích potomků se ve 22 skupinách po sání na malarické osobě neinfikoval ani jediný komár. Dříve se soudilo, že většina komárů je přirozeně vnímavých k infekci malárií, ale tento objev starší představu zviklal. Logickým důsledkem je pak úvaha o využití insekticidních hub k likvidaci vnímavých komárů. Hledají se houby, které by přednostně napadaly komáry infikované plasmodiemi. Pokud se je podaří nalézt, mohlo by dojít k likvidaci komárů, schopných přenášet malárii. Vypadá to bláznivě, ale pro dnešní poznatky a možnosti to už nemusí být utopie.

(SCIENCE, Vol. 312, 28 April 2006, s. 514 ; s. 577-579)