

Νέα γνωστά εργαλεία ελέγχου λοιμώξεων στη Δημόσια Υγεία

Δρ. Καίτη Θέμελη-Διγαλάκη

Συντονίστρια Διευθύντρια Μικροβιολογικού Εργαστηρίου & Πρόεδρος Επιστημονικού Συμβουλίου, ΓΝ Πειραιά «Τζάνειο»



Παραπομπή

Κ. Θέμελη-Διγαλάκη. Νέα γνωστά εργαλεία ελέγχου λοιμώξεων στη Δημόσια Υγεία. *Επιστημονικά Χρονικά* 2018; 23(1): 5-9

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα διαγνωστικά εργαλεία των λοιμώξεων παίζουν σημαντικό ρόλο στη δημόσια υγεία.

Μεγάλο μέρος της Εργαστηριακής υποδομής τίθεται στην υπηρεσία της δημόσιας υγείας, αλλά παραμένει πίσω από τα παρασκήνια που απαιτούνται για την επιτήρηση, τη διάγνωση και την αξιολόγηση της θεραπείας των λοιμώξεων. Τα εργαλεία διάγνωσης που απαιτούνται για τη διάγνωση της νόσου, αλλά και για την παρακολούθηση, την μετάδοσης και τη θεραπεία. Οι νεώτερες μέθοδοι διάγνωσης εμφανίζουν τα εξής χαρακτηριστικά:



I. Μικροβιακή ταυτοποίηση και παρακολούθηση: η επόμενη γενιά (Microbial identification and tracking: the next generation)

Μετά την επανάσταση αλληλουχίας επόμενης γενιάς (sequencing revolution) δεν υπάρχει υποκατάστατο της αλληλουχίας ολόκληρου του γονιδιώματος ως μέθοδος για τον εντοπισμό της ακρίβειας στην ταυτοποίηση ενός άγνωστου μικροβιακού είδους. Καθώς η τεχνολογία NGS έχει προχωρήσει, το κόστος της ακολουθίας (sequencing) έχει μειωθεί και οι εφαρμογές της τεχνολογίας έχουν διευρυνθεί. Οι κλινικές εφαρμογές δεν αποτελούν εξαίρεση και μια σειρά άρθρων ανασκόπησης στην βιβλιογραφία της Κλινικής Μικροβιολογίας υπογραμμίζουν το πώς θα ωφεληθεί η δημόσια υγεία από αυτές τις νέες εφαρμογές.

II. Ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγικότητα σε βακτηριακό γονότυπο με αλληλουχία ολόκληρου του γονιδιώματος (Interlab

reproducibility in bacterial genotyping by whole-genome sequencing)

Μία από τις σημαντικότερες πτυχές ενός νέου εργαστηριακού πρωτοκόλλου είναι η αναπαραγωγιμότητά του. Ένα πρωτόκολλο πρέπει να παράγει τα ίδια αποτελέσματα όταν εκτελούνται από διαφορετικούς επιστήμονες σε διαφορετικά εργαστήρια, και αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό όταν εξετάζονται νέα διαγνωστικά πρωτόκολλα. Καθώς η αλληλουχία πλήρους γονιδιώματος (whole - genome sequencing - WGS) χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο για διαγνωστικούς σκοπούς σε κλινικά εργαστήρια μικροβιολογίας. Η ακρίβεια των διαγνώσεων που προέρχονται από WGS είναι σημαντική για την επαλήθευση. Μια πρόσφατη αναφορά στο *Journal of Clinical Microbiology* καταδεικνύει την αναπαραγωγικότητα των ακριβών αποτελεσμάτων που προκύπτουν από την τυποποίηση με βάση το WGS.

III. Είναι ασφαλές να πάτε στον ωκεανό; Μέθοδοι τυποποίησης για επιτήρηση της ασφάλειας των υδάτων (Is it safe to go into the ocean? Standardizing methods for water safety surveillance)

"Τα ανθρώπινα απόβλητα αντιπροσωπεύουν έναν από τους μεγαλύτερους κινδύνους δημόσιας υγείας στις Η.Π.Α. και παγκοσμίως", λέει ο ερευνητής του Οργανισμού Προστασίας του Περιβάλλοντος (EPA) Research Geneticist Orin Shanks. Αυτός και η ερευνητική του ομάδα EPA εργάζονται για τη δημιουργία πρότυπων γενετικών βιοδεικτών που υποδεικνύουν την παρουσία βακτηρίων που βρίσκονται στα ανθρώπινα κόπρανα.

IV. Έλεγχος σημείου φροντίδας για τη γρίπη (Point-of-care testing for influenza)

"Έχω τη γρίπη;" Τα τεστ γρίπης (point-of-care) μπορεί να είναι σε θέση να απαντήσουν γρήγορα σε αυτή την ερώτηση. Ωστόσο, παρά την απλότητα και την ταχύτητα αυτών των δοκιμών, έρχονται με πολλούς λόγους "πίσω από τα παρασκήνια" που πρέπει να αντιμετωπιστούν πριν από την εφαρμογή. Σε αυτή τη θέση, εξετάζουμε μερικά σημαντικά τεχνικά, βιολογικά και ρυθμιστικά θέματα σχετικά με τη δοκιμή σημείου φροντίδας της γρίπης που σχετίζονται κυρίως με την ευαισθησία και ειδικότητα αυτών των εξετάσεων.

V. Διαγνωστικά σημεία με προσοχή μέσω μοριακών εξετάσεων (Point-of-care diagnostics via molecular tests)

Οι διαγνωστικοί έλεγχοι σημείου φροντίδας (point-of-care) προχωρούν γρήγορα, εν μέρει λόγω της προόδου των μοριακών εξετάσεων. Η πιο πρόσφατη ανάρτηση *Bugs & Drugs* μας παρέχει πληροφορίες για την ενημέρωση με τις πιο πρόσφατες μοριακές εξετάσεις, συμπεριλαμβανομένων των χαρακτηριστικών της λοίμωξης όπως η αντοχή των μικροβίων στα αντιβιοτικά.

VI. Ένα μικροβιακό παθογόνο «μεταμφιεσμένο» ως άλλο οδηγεί σε εσφαλμένες διαγνώσεις (One microbial pathogen "disguised" as another leads to misdiagnoses)

Η λανθασμένη διάγνωση των λοιμώξεων οδηγεί σε μοιραίο λάθος για τους

ασθενείς. Τα περισσότερα κλινικά εργαστήρια μικροβιολογίας είναι σε θέση να χρησιμοποιούν εξελιγμένα βιοχημικά και γενετικά τεστ για τη διαφοροποίηση των μικροβιακών ειδών και των στελεχών, αλλά οι νεοεμφανιζόμενοι παθογόνοι μικροοργανισμοί μπορούν να αναγνωριστούν λανθασμένα εάν μιμούνται στενά κάποιο άλλο. Αυτό φαίνεται να συμβαίνει με το νεοεμφανιζόμενο μυκητιασικό παθογόνο, *Candida auris*.

VII. Μυκητιασικές διαγνωστικές δοκιμές που δεν βασίζονται σε καλλιέργειες (Non-culture based fungal diagnostic tests)

Η έγκαιρη διάγνωση μυκητιασικών λοιμώξεων επηρεάζεται μερικές φορές από την αργή ανάπτυξη της καλλιέργειας (slow growth) ή τη χαμηλή απόδοση της καλλιέργειας (low yield) για ορισμένα μικρόβια. Ας συζητήσουμε ορισμένες από τις μη μυκητιασικές διαγνωστικές δοκιμασίες που είναι διαθέσιμες στα κλινικά εργαστήρια μικροβιολογίας.

VIII. Νέα εργαλεία για την ανίχνευση νέου ιού (New tools to detect new virus)

Το 2015 αναγνωρίστηκε ένας νέος ανθρώπινος hepegivirus (HHpgV-1) χρησιμοποιώντας μια νέα τεχνική προσδιορισμού αλληλουχίας υψηλής απόδοσης (high throughput sequencing technique). Εκφράστηκαν ανησυχίες ότι ο ιός αυτός βρέθηκε στο αίμα για να χρησιμοποιηθεί για μεταγίσεις, ενδεχομένως μεταδίδοντας τη μόλυνση. Αλλά χωρίς εργαλεία για να δοκιμάσουμε την παρουσία

της, δεν υπήρχε τρόπος να μάθουμε πόσο εκτεταμένη είναι η μόλυνση HHpgV-1 ή αν σχετίζεται με άλλες ανθρώπινες ασθένειες.

IX. Οδηγίες διάγνωσης για την σηψαιμία και σήψη που στοχεύουν στη μείωση του χρόνου στην ακριβή θεραπεία (Diagnostic guidelines for bloodstream infections aim to shorten time to accurate therapy)

Ένα από τα πιο επικίνδυνα σημεία για να εμφανιστεί μια λοίμωξη είναι η κυκλοφορία του αίματος. Η σηψαιμία με την παρουσία των μικροβίων στο αίμα, όχι μόνο επιτρέπει στα βακτήρια την πρόσβαση σε άλλα εσωτερικά όργανα μέσω της κυκλοφορίας του αίματος, αλλά μπορεί επίσης να προκαλέσει μια μαζική φλεγμονώδη αντίδραση, που οδηγεί σε σηπτικό σοκ. Οι Συνθήκες αυτές αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης σήψης ή και σηψαιμία, όπως επεμβατική χειρουργική επέμβαση ή εμφύτευση μιας εγκατεστημένης συσκευής, επιβάλλεται να παρακολουθούνται προσεκτικά και μερικές φορές να συνοδεύονται από προφυλακτική αντιμικροβιακή χημειοθεραπεία για την πρόληψη αυτής της πολύ σοβαρής λοίμωξης.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι λοιμώξεις αποτελούν σοβαρή απειλή για την ανθρωπότητα και είναι επιτακτική ανάγκη να αναπτύξουμε σύγχρονα εργαλεία διάγνωσης που βοηθούν στη μελέτη τους, διευκολύνουν τη διάγνωση και καθοδηγούν τη θεραπεία. Η ανησυχητική άνοδος των εξαιρετικά μολυσματικών και πολυανθεκτικών παθογόνων μικροβίων, η

ταχεία εξάπλωση τους που οδηγεί σε συχνές πανδημίες παγκοσμίως, οι φόβοι βιοτρομοκρατίας και οι συνεχιζόμενες απειλητικές για τη ζωή νοσοκομειακές λοιμώξεις στα νοσοκομεία παραμένουν ως μείζονες προκλήσεις για την υγειονομική περίθαλψη στις ΗΠΑ και σε όλο τον κόσμο. Η έγκαιρη διάγνωση και η ταχεία παρακολούθηση είναι απαραίτητες για την κατάλληλη διαχείριση και τον έλεγχο των

Οι νεώτερες μέθοδοι αλληλουχίας επόμενης γενιάς θα μπορούσαν να βελτιστοποιήσουν τις μελέτες σε ζώα, να επιτρέψουν μοναδικές γνώσεις για την παθογένεια των ασθενειών και να επιταχύνουν την κλινική μετάφραση των νέων θεραπευτικών. Επίσης μπορούν να αποτελέσουν πολύτιμο εργαλείο για κλινικές μελέτες, για τη φροντίδα των ασθενών, για τη

δημόσια υγεία και για τη διευκόλυνση με ακρίβεια ταυτοποίηση των μικροβίων για την ΔΙΑΓΝΩΣΗ των λοιμωδών νόσων.

Η ακατάλληλη χρήση αντιβιοτικών είναι η πρωταρχική αιτία της συνεχιζόμενης αύξησης της αντοχής των φαρμάκων στα παθογόνα βακτήρια. Η επακόλουθη μείωση της αποτελεσματικότητας των αντιβιοτικών απειλεί την ικανότητα καταπολέμησης μολυσματικών ασθενειών. Οι ταχείες δοκιμές προσοχής (care-of-point) στοχεύουν στην ανεύρεση των παθογόνων μικροβίων και η καλύτερη επιλογή της κατάλληλης θεραπείας. Όλα αυτά θα μπορούσαν να βελτιώσουν σημαντικά τη χρήση αντιβιοτικών, παρόλα αυτά λίγες τέτοιες δοκιμές είναι διαθέσιμες ή αναπτύσσονται, παρά τον ταχύ ρυθμό της ιατρικής εξέλιξης.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Use of the Microbiome in the Practice of Epidemiology: A Primer on -Omic Technologies. Foxman B, Martin ET. *Am J Epidemiol*. 2015; 182(1):1-8.
2. Microbial breakdown of halogenated aromatic pesticides and related compounds. Häggblom MM. *FEMS Microbiol Rev*. 1992; 9(1):29-71.
3. Herd-level association between antimicrobial use and antimicrobial resistance in bovine mastitis *Staphylococcus aureus* isolates on Canadian dairy farms. Saini V, McClure JT, Scholl DT, DeVries TJ, Barkema HW. *J Dairy Sci*. 2012; 95(4):1921-9.
4. Effects of conservation management of landscapes and vertebrate communities on Lyme borreliosis risk in the United Kingdom. Millins C, Gilbert L, Medlock J, Hansford K, Thompson DB, Biek R. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2017; 372(1722).
5. CRISPR-Based Technologies and the Future of Food Science. Selle K, Barrangou R. *J Food Sci*. 2015 Nov; 80(11):R2367-72.

6. Microbial source tracking markers for detection of fecal contamination in environmental waters: relationships between pathogens and human health outcomes. Harwood VJ, Staley C, Badgley BD, Borges K, Korajkic A. FEMS Microbiol Rev. 2014; 38(1):1-40.
7. [Prevention and control of infectious diseases with pandemic potential: the EU-project SARSControl]. Ahmad A, Krumkamp R, Richardus JH, Reintjes R. Gesundheitswesen. 2009; 71(6):351-7.
8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/n/whohpscollect/>

 EDITORIAL

Diagnostic tools play an important role in public health

Kate Themeli-Digalaki

Director of Department of Microbiology, Head of Scientific Council, General Hospital "Tzaneio", Piraeus, Greece

ABSTRACT

Much of our public health infrastructure remains behind the scenes, and that may be especially true for the tools needed for surveillance, diagnostics, and treatment assessments. Diagnostic tools are required to diagnose disease, of course, but also contribute to surveillance efforts to understand disease potential, transmission, and treatment. Diagnostic tools have been highlighted through a number. Here are the recent features: 1) Microbial identification and tracking: the next generation, 2) Interlab reproducibility in bacterial genotyping by whole-genome sequencing, 3) Is it safe to go into the ocean? Standardizing methods for water safety surveillance, 4) Point-of-care testing for influenza, 5) Point-of-care diagnostics via molecular tests, 6) One microbial pathogen 'disguised' as another leads to misdiagnoses, 7) Non-culture based fungal diagnostic tests, 8) New tools to detect new virus, 9) Diagnostic guidelines for bloodstream infections aim to shorten time to accurate therapy.



Citation

K. Themeli-Digalaki. Diagnostic tools play an important role in public health. Scientific Chronicles 2018; 23(1): 5-9

Συγγραφέας επικοινωνίας

Καίτη Θέμελη-Διγαλάκη, E-mail addresses: kdigalaki@gmail.com