UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

METODA DETEKCJI BAKTERII I GRZYBÓW W PREPARACIE BIOLOGICZNYM METODĄ PCR

(PROJEKT NR P-192)

Przedmiotem oferty jest nowa metoda jednoczesnej detekcji bakterii i grzybów w próbce materiału biologicznego metodą PCR. Technologia ta umożliwia jednoczesną detekcję DNA bakterii Gram ujemnych, Gram dodatnich, grzybów drożdżowych i grzybów pleśniowych w próbce materiału biologicznego, m.in. w ślinie czy krwi pacjenta.

CIT TRU

Centrum Innowacji,
Transferu Technologii
i Rozwoju Uniwersytetu

Zakażenia wywoływane przez **bakterie i grzyby** od zawsze stanowiły poważny problem medyczny. Najgroźniejszym z nich jest zakażenie ogólnoustrojowe czyli sepsa. Paradoksalnie, w miarę rozwoju wiedzy medycznej i wprowadzania coraz to nowszych procedur terapeutycznych, zapadalność na sepsę wzrasta. W USA w ciągu roku na sepsę zapada 750 tys. osób i jest ona przyczyną ponad 215 tys. zgonów. Z kolei w Unii Europejskiej z powodu ciężkiej sepsy umiera rocznie 146 tys. chorych.

W leczeniu zakażeń krwi najważniejszym i najtrudniejszym problemem decydującym o skuteczności terapii i w konsekwencji o kosztach i czasie hospitalizacji jest skuteczna diagnostyka czynników wywołujących ogólnoustrojową odpowiedź zapalną w przebiegu sepsy. Materiałem poddawanym badaniu diagnostycznemu jest krew pobrana od pacjenta z objawami klinicznymi sepsy. Największą trudnością jest bardzo mała ilość mikroorganizmów odpowiedzialnych za zakażenie i znajdujących się we krwi, lub też następuje tylko ich okresowy wysiew do krwi.

Obecnie standardem diagnostycznym są hodowle krwi prowadzone na specjalnych podłożach, najlepiej w systemach hodowli automatycznej. Słabą stroną tych metod jest czasochłonność (do czasu wydania wyniku badania) oraz niska czułość, która powoduje że jedynie w około 15-20% hodowli udaje się uzyskać wzrost mikroorganizmów. Sytuację dodatkowo pogarsza fakt poddawania pacjentów antybiotykoterapii zanim dojdzie do pobrania próbki krwi na posiew. Hodowle krwi w takim wypadku są bardzo utrudnione z uwagi na to, iż znajdują się w niej antybiotyki hamujące wzrost mikroorganizmów.

Do metod diagnostycznych, które umożliwiają skuteczną, precyzyjną i szybką diagnostykę zakażeń krwi należą techniki biologii molekularnej takie jak **PCR czy hybrydyzacja**. Czułość tych metod znacznie przewyższa czułość metod hodowlanych. Jednakże obecnie dostępne systemy umożliwiają wykrywanie kilkunastu konkretnych gatunków drobnoustrojów, lub pozwalają na detekcję teoretycznie każdego możliwego gatunku, ale wymagane jest sekwencjonowanie produktu PCR, co zwiększa z kolei koszty oraz wydłuża czas oczekiwania na wynik.

ul. Czapskich 4
31-110 Krakow
tel. +48(12) 663 38 30
fax +48(12) 663 38 31
cittru@uj.edu.pl
www.cittru.uj.edu.pl

UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI W KRAKOWIE

CITTRU

Centrum Innowacji, Transferu Technologii i Rozwoju Uniwersytetu

Przedmiotem wynalazku jest nowa metoda detekcji bakterii i grzybów w próbce materiału biologicznego, w którym zawarte DNA poddaje się amplifikacji w reakcji PCR w czasie rzeczywistym w systemie multipleksowym. Reakcję amplifikacji prowadzi się dwuetapowo z zastosowaniem w pierwszym etapie starterów specyficznych dla bakterii oraz grzybów, a następnie produkt pierwszej amplifikacji wykorzystuje się jako matrycę w drugim etapie – amplifikacji z zastosowaniem starterów i sond różnicujących grzyby na grupę grzybów pleśniowych i drożdżopodobnych i bakterie na Gram dodatnie i Gram ujemne.

Do podstawowych zalet proponowanej metody należą:

- objęcie całości panelu mikroorganizmów bakteryjnych i grzybiczych, z różnicowaniem na bakterie Gram ujemne, Gram dodatnie, grzyby drożdżopodobne i grzyby pleśniowe, lecz bez typowania konkretnych gatunków;
- jednoczesna amplifikacja co najmniej 2 sekwencji DNA, co pozwala na jednoczesną detekcję bakterii i grzybów, bez oczekiwania na wynik elektroforezy DNA;
- zastosowanie systemu Nested pozwala na zwiększenie czułości metody detekcji o dwa rzędy wielkości w porównaniu do PCR jednostopniowego;
- możliwość wykorzystania metody do wykrywania tylko bakterii lub tylko grzybów, lub do jednoczesnego wykrywania zarówno grzybów jak i bakterii, co wpływa na obniżenie kosztów badania.
- możliwość wytypowania konkretnego gatunku drobnoustroju po sekwencjonowaniu produktu PCR.

Oferowana metoda detekcji bakterii i grzybów w preparacie biologicznym stanowi przedmiot zgłoszenia patentowego. Dalsze prace nad jej rozwojem są prowadzone w Katedrze Mikrobiologii UJ CM, a Centrum Innowacji, Transferu Technologii i Rozwoju Uniwersytetu poszukuje podmiotów zainteresowanych komercyjnym wykorzystaniem wynalazku.

Dalsze informacje:

dr Klaudia Polakowska
Specjalista ds. Transferu Technologii
CITTRU, Uniwersytet Jagielloński
www.cittru.uj.edu.pl

tel. 12 663 3832, fax: 12 663 3831
e-mail: klaudia.polakowska@uj.edu.pl

ul. Czapskich 4
31-110 Krakow
tel. +48(12) 663 38 30
fax +48(12) 663 38 31
cittru@uj.edu.pl
www.cittru.uj.edu.pl