

2010. X. évfolyam 1. szám

Tartalom:

Bevezető

Az EUCAST antibiotikum érzékenységi vizsgálatokra vonatkozó ajánlásai és az antibiotikum rezisztencia vizsgálatok jövője Európában
Nagy Erzsébet, Tóth Ákos, Visontai Ildikó

Magzati fertőzések, vírusok átjutása a méhlepényen és a praenatalis diagnosztika lehetőségei
Csire Márta, Pályi Bernadett, Barcsay Erzsébet, Berencsi György, Takács Mária

ESBL-termelő *Klebsiella pneumoniae* epidémiás klón IV megjelenése több kórház felnőtt és csecsemő osztályán
Damjanova Ivelina, Tóth Ákos, Kenesei Éva, Kőhalmi Margit, Kocsis Sándor, Szántai Patrícia, Füzi Miklós, Pászti Judit

Prototheca a kórokozó alga
Zala Judit, Darvas Eszter, Nagy Tamás

Az ESBL-termelés kimutatás lehetőségei a Frank Diagnosztika Kft. által forgalmazott tesztekkel

**A Mikrobiológiai Körlevél ezen számának megjelentetését a FRANK
Diagnosztika támogatta**

Alapító szerkesztők: Dr. Füzi Miklós (PhD)
Dr. Gacs Mária
Szerkesztő: Dr. Gacs Mária
Felelős szerkesztő: Dr. Visontai Ildikó
Operatív szerkesztő: Tirczka Tamás
Tóth Ákos

**A Mikrobiológiai Körlevelek az OEK honlapján
www.oek.hu elérhetőek.**

Tisztelt Olvasóink!

A Mikrobiológiai Körlevél X. évfolyamának megjelentetése jó alkalom arra, hogy végig gondoljuk eddigi tevékenységünket.

Az elmúlt 10 év során a Mikrobiológiai Körlevél a kezdeti csak a surveillance eredményeket értékelő írásokat követően, számtalan értékes, újszerű cikket közölt, kiegészítve és aktualizálva a Módszertani Útmutató anyagát, ezzel a hazai szakemberek hasznos olvasmányává vált, s ez szükségessé teszi további folyamatos fejlesztését.

Elsődleges célunk továbbra is a mikrobiológia legújabb eredményeinek, az új szakmai ismereteknek és eljárásoknak széleskörű hazai elterjesztése, s ezzel a mikrobiológiai laboratóriumokban folyó szakmai munka támogatása.

A Mikrobiológiai Körlevél fejlesztése, a szakmai hitelesség növelése érdekében a továbbiakban, külső neves szakemberek észrevételeinek figyelembevételével kívánjuk a kiadvány színvonalát emelni. Így, mind a klinikai, mind a járványügyi mikrobiológiai tevékenység szempontjából jelentősebbnek vélt összeállítások esetében, felkérünk kiváló hazai szakembereket, hogy prereviewer-ként véleményezzék írásainkat.

Ezt a törekvést célozza egy **Szakmai Tanácsadó Testület** létrehozása. A testület tagjainak széleskörű tudása és szakmánk iránti elkötelezettsége a megjelentetésre szánt cikkek bírálatával, jelentősen növelni fogja kiadványaink színvonalát.

Ebben a számban az elsőként felkért Prof. Dr. Ludwig Endre véleményezte Damjanova Ivelina és mtsai „ESBL-termelő *Klebsiella pneumoniae* epidémiás klón IV megjelenése több kórház felnőtt és csecsemő osztályán” című kéziratát.

Köszönjük hasznos szakmai, és közérthetőségre, szerkesztésre vonatkozó észrevételeit. A szerzők ennek értelmében átdolgozták írásukat.

Dr. Böröcz Karolina elismerő, a kézirat jelentőségét értékelő véleményét ugyancsak köszönjük.

Szerkesztőség

Az EUCAST antibiotikum érzékenységi vizsgálatokra vonatkozó ajánlásai és az antibiotikum rezisztencia vizsgálatok jövője Európában

A mikroorganizmusok antibiotikumokkal szembeni rezisztenciájának terjedése világszerte súlyos problémát jelent mind a területi, mind a kórházi fertőzések esetében. A rezisztencia szelekciójának és a rezisztens klónok terjedésének megfékezéséhez és visszaszorításához helyes infekció kontroll és megfelelő, körültekintő antibiotikum politika szükséges.

Az infekció kontroll fontos része az antibiotikum rezisztencia monitorozása, melyek adatai alapján meghatározhatók a szükséges tevékenységek. Ez nemcsak helyi, nemzeti, hanem európai szinten is jelentős kérdés. A surveillance adatok európai szintű publikálásának alapvető feltétele az egységes metodika és értékelési rendszer alkalmazása valamennyi adatszolgáltató részéről.

Az antibiotikum politika sikerességéhez, a megfelelő és hatékony antibiotikum terápiához fontos, hogy az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok alapján a lehető legjobb terápiás sikert lehessen elérni. Ebben az esetben is ahhoz, hogy megfelelő és helyes adatok álljanak rendelkezésre egységes és összehangolt antibiotikum érzékenységi határértékekre és a meghatározás egységesítésére van szükség.

Az elmúlt években ezt felismerve Nemzeti Breakpoint Bizottságok alakultak számos Európai országban így Németországban, Franciaországban, Nagy Britanniában, stb. és kialakították a saját hazai metodikai rendszerüket, beleértve az egyes antibiotikumokra vonatkozó érzékenységi és rezisztencia határértékeket. Magyarországon abban az időben az Orvosi Mikrobiológiai Szakmai Kollégium (OMSZK) és a vezető hazai bakteriológusok arra az elhatározásra jutottak, hogy nem alakítanak külön hazai Breakpoint Bizottságot, hanem az NCCLS ajánlásait átvéve egységesítik a hazai rezisztencia vizsgálati metodikát.

Az EUCAST-ot, az antimikrobiális szerek érzékenységi vizsgálatával foglalkozó európai bizottságot (the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing,) az ESCMID (European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases) és az európai Nemzeti Breakpoint Bizottságok alapították 1997-ben. A bizottság működtetését 2008. szeptemberétől az ECDC vette át, de a szakmai háttérrel továbbra is az ESCMID és a Nemzeti Breakpoint Bizottságok szakértői biztosítják.

Az EUCAST megalakulásakor a következő célokat tűzte ki és valósította meg azóta:

- áttekintette az Európában alkalmazott antibiotikum (mind baktériumok, mind gombák esetében) érzékenységi vizsgálatok fenotípusos módszereit és ezeket összehangolta egy egységes rendszerbe,
- egységes, európai szintű „breakpoint” rendszert hozott létre
- egyes újonnan megjelenő és terjedő rezisztencia mechanizmusok könnyebb *in vitro* felderítése céljából néhány antibiotikum breakpoint-ját jelentősen megváltoztatta,
- elvégezte az újonnan bevezetésre kerülő antibiotikumok breakpoint-jainak meghatározását, mely kapcsolódik az Európai Gyógyszerügynökség hivatalos engedélyezési folyamatához (European Medicines Agency, EMA)
- együttműködést alakított ki európai hatóságokkal olyan témákban, mint új antimikrobiális szerek vizsgálata, rezisztenciák megjelenése és surveillance, betegség megelőzés, élelmiszer biztonság (European Food Safety Authority, EFSA), klinikai mikrobiológia és infektológia

Az EUCAST szervezeti felépítésének alapját az Általános Bizottság (General Committee) adja, melynek tagjai; az elnök (Gunnar Kahlmeter), a tudományos

titkár (Derek Brown), a klinikai adatok koordinátora (Rafael Canton), valamint minden európai ország, a FESCI (Federation of European Societies for Chemotherapy and for Infections) és az ISC (International Society of Chemotherapy) is delegál egy-egy tagot. Az EUCAST gyakorlati irányítását végző Irányító Bizottságot (Steering Committee) az elnök, a tudományos titkár, a klinikai adatok koordinátora, a hat alapító európai Nemzeti Breakpoint Bizottságok képviselője és a General Committee két, időszakonként változó tagja alkotja. Az EUCAST-on belül három albizottság is működik, melyek az antimikróbás szerekkel szembeni rezisztencia vizsgálatok speciális területeivel foglalkoznak:

- az EUCAST antibakteriális érzékenységi vizsgálatokkal foglalkozó szakértői albizottság,
- az EUCAST antifungális szerek érzékenységi vizsgálataival foglalkozó albizottság, és
- az EUCAST anaerob baktériumok antibiotikum érzékenységi vizsgálataival foglalkozó albizottság

Az EUCAST 2009. decemberéig létrehozta és publikálta az összes dokumentumot, mely az új, egységes antibiotikum rezisztencia vizsgálatokhoz és azok eredményének kiértékeléséhez szükséges. A hazánkban korábban alkalmazott CLSI ajánlásokkal ellentétben az összes szükséges dokumentum ingyenesen letölthető az EUCAST honlapjáról:

- honlap: <http://www.eucast.org>
- „breakpoint” táblázat:
(http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Note_to_European_laboratories.pdf)
- „expert” táblázat:
(http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/4ESCMID_Library/3P)

ublications/EUCAST_Documents/Other_Documents/EUCAST_Expert_rules_final_April_20080407.pdf)

A baktériumok antibiotikum érzékenységének tárgyalásánál két új fogalmat vezettek be. Az egyik az **epidemiológiai „cut-off”** érték, a másik a **klinikai breakpoint** fogalma. Az epidemiológiai cut-off érték azt az antibiotikum koncentrációt jelöli, amelynél még a baktériumban nem alakult ki semmilyen mutációs vagy szerzett rezisztencia mechanizmus, csak a természetes módon jelenlévő mechanizmusok befolyásolják egy antibiotikum *in vitro* érzékenységét. Az ilyen baktériumokat vad típusúnak (wild type; WT) nevezik. A klinikai breakpoint-ok pedig a korábban már ismert érzékeny/mérsékelt/rezisztens (SIR) sémát követik, és alapvetően az adott antibiotikum adott izolátumra vonatkozó klinikai sikerességét jósolják meg. Az epidemiológiai cut-off érték sokszor több hígítási fokkal eltér a klinikai breakpoint-októl, és inkább a surveillance-okban, mint a terápiában tölt be lényeges szerepet. Az új klinikai breakpoint rendszer megalkotásánál alapvető fontosságú volt a pK/pD szemlélet alkalmazása, mely során nemcsak a baktérium populáció adott antibiotikummal szembeni MIC megoszlását, hanem az antibiotikumok alkalmazási területét és farmakokinetikáját is figyelembe vették.

Az EUCAST ajánlásokban található néhány fontos eltérés a korábban alkalmazott CLSI ajánlástól:

Korongdiffúziós vizsgálatok: A vizsgálat kivitelezése alapvetően nem tér el a CLSI ajánlásától, azonban pár fontos különbséget ki kell emelni:

1. Néhány esetben eltérő antibiotikum koncentrációjú korong használata ajánlott: pl. *Enterococcus* spp. esetében ampicillin 2 µg; valamint eltérő koncentrációjú korongok alkalmazása szükséges: cefotaxim 5 µg, ceftazidim 10

µg, fusidinsav 10 µg, gentamicin 30 µg, linezolid 10 µg, nitrofurantoin 100 µg, penicillin-G 1 Unit, piperacillin/tazobactam 30 µg/6 µg.

2. A tápigényes aerob baktériumok (*Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* A, B, C és G csoport, egyéb *Streptococcus* spp., *Haemophilus* spp., *Moraxella catarrhalis*) esetében egységes táptalajt kell alkalmazni: 5% defibrinált lóvérrel és 20 mg/L NAD-val kiegészített Mueller-Hinton táptalajt. A táptalaj elkészítésének metodikája elérhető az EUCAST honlapján, ill. a kész táptalaj kereskedelmi forgalomban is kapható lesz az OEK Táptalajkészítő Egységénél, valamint más gyártók forgalmazásában (pl. Becton-Dickinson, BioMerieux, Bio-Rad, Mast, Oxoid).

3. Alkalmazandó kontroll törzsek (**változások a CLSI-hoz képest**):

Escherichia coli ATCC 25922

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

***Staphylococcus aureus* ATCC 29213**

Enterococcus faecalis ATCC 29212

***Haemophilus influenzae* NCTC 8468**

Streptococcus pneumoniae ATCC 49619

Automatával végzett érzékenységi vizsgálatok: Az EUCAST ajánlása alapján kidolgozott újfajta antibiotikum érzékenységi vizsgálati panelek és az értékelő szoftverek már megvásárolhatóak vagy nemsokára elérhetőek lesznek kereskedelmi forgalomban is (Phoenix, Vitek, Microscan).

MIC meghatározás módszerei: Az agar-hígításos és folyadék-hígításos módszerek leírása megtalálható az EUCAST honlapján. A módszerek kivitelezése lényegében nem tér el a CLSI ajánlásától (Clin Microbiol Infect 2000; 6:509-515.; Clin Microbiol Infect 2003; 9: 1-7.).

2010. március 18-án az OMSZK, a Magyar Infektológiai és Klinikai Mikrobiológiai Társaság valamint az Országos Epidemiológiai Központ szervezésében megrendezésre került tudományos ülés keretében Prof. Dr.

Gunnar Kahlmeter, az EUCAST elnöke adott tájékoztatást az európai breakpointok bevezetésének folyamatáról, és összehasonlította előnyeit a CLSI rendszerrel összevetve. Jelenleg hat európai országban alkalmazzák már az EUCAST ajánlását (Egyesült Királyság, Németország, Svédország, Norvégia, Hollandia, Franciaország) és további kilenc országban fogják bevezetni 2010/2011-ben. A feltett kérdésekre válaszolva az EUCAST rendszer bevezetésére 2011. január 1.-t tartotta reális időpontnak Magyarországon, mivel az átálláshoz hazánkban is ütemezett felkészülésre van szükség, amely csak a szakmai testületek és intézetek vezetésével és együttműködésével valósítható meg. Hasonlóan a többi európai országhoz, hazánkban is meg kell hogy alakuljon az antibiotikum rezisztencia laboratóriumi vizsgálatát koordináló/felügyelő Nemzeti Antibiotikum Bizottság.

Az ECDC (European Centre for Disease Prevention) is elkötelezte magát az új európai breakpointok mellett. Az európai antibiotikum rezisztencia (AMR) surveillance területén az EARSS helyét 2010. január 1.-től az ECDC által működtetett TESSy (the European Surveillance System) AMR része, az EARS-Net vette át, mely szintén az új európai breakpointok szerint értékelt érzékenységi adatokat követeli meg az adatszolgáltatás során.

Dr. Nagy Erzsébet
az OMSZK elnöke

Tóth Ákos
OEK, ECDC partner intézet
TESSy AMR nemzeti kapcsolattartó

Dr Visontai Ildikó
OEK, ECDC partner intézet
ECDC Nemzeti Mikrobiológiai Fókusz
Pont

Magzati fertőzések, vírusok átjutása a méhlepényen és a prae-natalis diagnosztika lehetőségei

Csire Márta, Pályi Bernadett, Barcsay Erzsébet, Berencsi György, Takács Mária

A magzati károsodások, amelyeket vírusok, baktériumok és protozoonok egyaránt okozhatnak, már régóta ismertek.

Bizonyítást nyert, hogy (a) számos vírus genomja a csírasejtekbe integrálódva kerül be a zigótába majd az újszülött sejtjeibe. Az ún. vertikális átvitel másik formája az édesanya vírusfertőzéseinek a következménye (b). A perinatális vírusátvitel (c) azt jelenti, hogy terhesség során bekövetkező vírusreaktiválódás, vagy a tartós anyai vírushordozás során a szülőutakban megjelenő vírusok kerülnek át az újszülöttre. Ez az esemény a hepatitis B vírus esetében (Czeglédy J. 2001) a vírushordozó édesanyák elsőszülöttjeinek 55 %-át 20-40 évre tünetmentes vírushordozóvá teszi a kialakuló immuntolerancia miatt (Ördögh K. és mtsai., 2003).

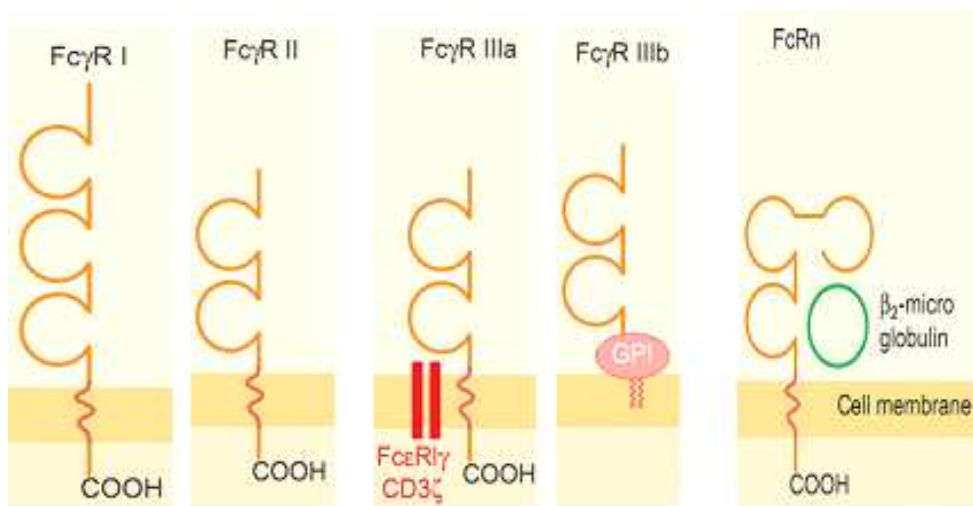
A vírusok egy része képes szaporodni a magzati szövetekben és évtizedeken át ez volt az egyetlen magyarázat arra, hogy a magzati károsodások kialakulhatnak és eltérő gyakorisággal a terhesség megszakadása következhet be. A leggyakoribb a cytomegalovírus (CMV) fertőzés után, ritkább a varicella-zoster vírus (VZV) és humán herpesvírus 6 (HHV-6) fertőzést követően. A CMV okozta veleszületett fertőzés az USA-ban és Európában az újszülöttek 1-4%-át érinti, magyarországi adatok alapján ez 0,9%-ra tehető (1980; Pusztai R., 2009). A rubeola védőoltásokat a magzati károsodások megelőzése céljából vezették be. A rubeola szindrómáért, a járványok során fellépő súlyos magzati károsodásokért a vírus volt a felelős (Sziller I., Papp Z., 1995). Szerencsére a gyengített élő vakcina ilyen elváltozásokat akkor sem okoz, ha a vírus szaporodik a magzatban ill. az édesanya genitáliáinak szöveteiben. Magzati károsodásokat képesek okozni a varicella-zoster vírus, humán lymphotrop herpesvírusok, a humán hepatitis E vírus, a humán parvovírus B19, - ez utóbbi az egyetlen, amelyik nem a terhesség első harmadában, hanem a 2. trimesztertől károsítja a magzatot.

Számos olyan vírus van, amelyik képes átjutni a magzatba, azonban nem okoz károsodásokat. Ilyenek a hepatitis G vírus, a hepatitis A, B, C vírusok és a Puumala Hantavírus valamint a Torque teno vírus (TTV). Élő gyengített vírusvakcinák nem okoznak magzati károsodást akkor sem, ha tévedésből terhes asszonyoknak is beadják azokat. Ez a magyarázata annak, hogy a terhesek véletlenül bekövetkező védőoltása soha sem indikáció a terhesség megszakításra.

Az újszülöttekben jelenlévő bizonyos anyai ellenanyagok is képesek káros következményeket előidézni. A dengue láz kórokozójának (Flavivírus) 4

szerotípusa van. Az anyai IgG ellenanyagok egyes altípusai átjutnak a magzatba és az ellenanyag függő pinocitózis segítségével „ADE” (antibody dependent enhancement) jelenséget váltanak ki. A jelenség a születést követően 8 hónapos korig vérzéses lázat okozhat a (fertőzést követően) az újszülöttnél. A vírus-ellenanyag immunkomplexek ugyanis nem neutralizált vírusrészecskéket tartalmaznak, amelyek az Fc-receptorok segítségével olyan sejtek (aktivált endotél) tömegébe is bejutnak, amelyeket a vírusok egyébként nem tudnak megfertőzni. A vérzések a hajszálerek sérüléseinek a következményei. A keletkezett hatalmas mennyiségű interleukin az „interleukin tsunami” shockot is okozhat.

Az anyai IgG alosztályok szelektív átjutása a magzatba bonyolult folyamat. Az Fc γ -receptorok egész sora végzi ezt a feladatot (1. ábra).



1. ábra. Az Fc γ RI-III receptorok szerkezete. A hurkok az ismétlődő alegységeket (kringeleket) jelölik (Saji és mtsai., 1999).

Fc γ RI a magzati Hofbauer és a mononukleáris M ϕ /DC (makrofág/dendritikus) sejteken jelen van; Fc γ RII a Hofbauer sejteken és magzati endotél sejteken fejeződik ki; az Fc γ RIIB csak a 2. és 3. trimeszterben termelődik. Ekkor nő meg az anyai IgG átvitele a magzatba; az Fc γ RI, Fc γ RIIA, Fc γ IIC, Fc γ RIII és az Fc γ Rn a terhesség teljes ideje alatt kifejeződnek; Fc γ RIII jelen van az NK sejteken és a trophoblastokon is a terhesség végén; Fc γ IIIa immun komplexek és ellenanyaggal borított részecskék. Fc γ Rn trophoblastokon és bélhámsejteken az anyatej ellenanyagait veszi fel, azonban a syncytiotrophoblaston nincs béta2 mikroglobulin, ami azt mutatja, hogy ennek a receptornak nincs szerepe a materno-fötális transzportban (Saji és mtsai. 1999).

A méhlepény szerkezete biztosítja, hogy a magzati szövetek közvetlenül ne érintkezzenek az anyai vérrel. A barriert a syncytiotrophoblast képezi, amelynek

a kialakulását endogén humán retrovírus (HERV-W) által kódolt fehérje, a „syncytin 1” váltja ki (Blond J.L. és mtsai., 2000; Stoye J.P., 2009).

Az anyai immunitás mérséklésében is szerepet játszik a syncytin-1, mert immunszuppresszív szakasszal is rendelkezik a transzmembrán doménje (Heidman O. és mtsai., 2009). Az anyai immunrendszer átmeneti korlátozásában azonban a legfontosabb szerepet a rendkívüli, vagy nem konvencionális transzplantációs antigének játsszák (a HLA-G különböző formái), amelyeknek oldható formái is vannak, és amelyek a sejtölő anyai fehérvérsejtekkel találkozáskor azokat nyugvó állapotba juttatják. Ez az oka annak, hogy sem a természetes ölősejtek, sem pedig az citotoxikus T-sejtek nem károsítják a materno-fötális barriert normális körülmények között.

A syncytiotrophoblast rétegen ezen kívül számos más receptor és co-receptor helyezkedik el (pl. a HIV/AIDS vírus co-receptora a CXCR4). Szerencsére a CD4 nem jelenik meg a felszínén, ami a HIV vírus behatolását lényegesen megnehezíti.

Tekintettel arra, hogy az Fc γ RIIB csak a terhesség második harmadában jelenik meg a syncytiotrophoblastokon, az anyai IgG szállítása a magzatba csak ekkor indul meg. Mind a syncytiotrophoblaston, mind pedig a magzati hajszálerek endotél sejtjein keresztül IgG-szállító sejtservecskék, vakuolák szállítják az ellenanyagokat. A transzport azonban igen szelektív és részben ismeretlen folyamat, mert a syncytiotrophoblast rétegen keresztül az átjutás apikális-bazolaterális irányban történik, azonban a magzati hajszálerek endotél sejtjein keresztül való átjutás fordított irányú, azaz bazolaterális-apikális irányban történik (Younes A.S. és mtsai., 2009). A placenta bolyhainak kötőszövetén keresztül pedig a magzati makrofágok (a Hofbauer sejtek) szállítják az IgG molekulákat, mert ezek is rendelkeznek Fc γ R-receptorokkal.

A nagyfokú szelektivitás és specificitás ellenére a közelmúltban felfedezték, hogy vírus-ellenanyag komplexek is átjuthatnak az Fc γ RIIB szervecskék közvetítésével a magzati keringésbe. Az átjutást az alacsony specifikus IgG koncentráció lehetővé teszi, de a specifikus ellenanyag töménység megakadályozza. Ennek a megfigyelésnek igen nagy jelentősége lehet, mert felveti a megelőző intravénás gamma-globulin gyógykezelés esetleges gátló hatását a maternális-fötális vírusátjutásra.

A közelmúltban felfedezték, hogy nemcsak magzati sejtek kerülhetnek át az édesanyába, ahol a HLA-G immunmoduláló hatása biztosítja évtizedes túlélésüket, hanem az anyai hematopoetikus sejtek is átkerülhetnek a magzatba. Ez a megfigyelés feltételezi, hogy a lymphotrop herpesvírusokat és továbbá azokat a vírusokat is behurcolhatják az anyai sejtek a magzatba, amelyeket a kromoszómákba integrálódva hordoznak. Előbbiek az Epstein-Barr vírus (HHV-4), Cytomegalovírus (HHV-5) a Humán herpesvírus 6 és 7 (HHV-6 és 7) valamint a Kaposi szarkómához társult herpesvírus (KSHV vagy HHV-8).

Ezeknek a vírusoknak mindegyikét sikerült is teljesen egészséges újszülöttek magzatvizében kimutatni (Younes S.A. és mtsai., 2007).

A maternális-fötális vírusátvitelnek ez csak kivételes útja lehet, mert kevesebb, mint minden százezredik B-limfocita hordoz csak látens herpesvírusokat. Az átvitelnek azonban alternatív útjai is léteznek.

Már 1999-ben felfedezték, hogy a humán herpesvírus 6 (HHV-6) beépülhet a gazdasejt kromoszómáiba. Az eredmények igazolták, hogy a vírusátvitel a Mendel szabályok szerint történik. A HHV-6 jelenleg az egyetlen herpesvírus, amelyik a kromoszómák telomérjeibe képes integrálódni és így a magzatba is átjutni (Arbuckle J.H. és mtsai., 2010). Ilyen kromoszómába beépült vírusok között bizonyíték van az adeno-associated vírus (AAV) magzati átvitelére is. A világ nagy részén ugyanígy juthat át a humán T-sejtes leukémia vírus (HTLV-1 és 2) is, ezt azonban még Magyarországon nem figyelték meg. Utóbbi vírusok teljesen új, eddig részleteiben nem vizsgált mechanizmussal is bejuthatnak a sejtekbe.

Extracelluláris herpesvírusok ellenanyagok és limfociták segítségével nélkül is képesek megfertőzni a magzati sejteket a vírus glikoprotein B részét képező „disintegrin” aminosav sorrenddel képes membránfúzió segítségével bejutni a syncytiotrophoblastokba is. A Kaposi szarkómához társult herpesvírus (KSHV vagy HHV-8) transzplacentáris átjutását is igazolták már. A KSHV gazdasejtbe történő belépéséhez heparan-sulfate és $\alpha 3\beta 1$ szükséges. Az előbbit endotél sejtek, az utóbbit a cytotrophoblast és a syncytiotrophoblast is expresszálja. Mindhárom sejtípusból kimutatták KSHV LANA antigén expresszióját, syncytiotrophoblast sejteken és endotél sejteken pedig a KSHV orfK” (vIL-6) jelenlétét. Ezen kívül a HHV-8 fertőzött placentában apoptotikus testek is jelen voltak, ami szövetkárosodásra utal, és ez okozhat fejlődési rendellenességeket. Az intrauterin fertőzést főleg olyan területeken mutattak ki, ahol a HHV-8 endemiás.

A papillomavírusok anyáról magzatra történő transzplacentáris átvitelét már korábban megfigyelték, majd az amnionfolyadékban történő kimutatásukat 2008-ben többen is megerősítették.

A Debreceni Egyetem egyik munkacsoportja bebizonyította, hogy a kombinált vírusfertőzések nagyságrendekkel képesek megnövelni a különböző vírusok szaporodási ütemét syncytiotrophoblastokban (Bácsi A. és mtsai., 1999; Csoma E. és mtsai., 2002).

A magzat vírusfertőzései valószínűleg lényegesen befolyásolják a magzati immunrendszer fejlődését. Az első trimeszterben immuntoleranciát eredményezhetnek, a terhesség későbbi szakaszaiban magzati ellenanyag termelést képesek kiváltani részleges immuntolerancia kialakításával. Ezen változásoknak fontos kihatásai lehetnek a postnatalis életben (krónikus vírusfertőzések, rosszindulatú daganatok, rheumás betegségek kialakulása,

HHV-8 genom jelenléte szeronegatív betegekben). Ezeknek a kérdések a vizsgálata folyamatban van (Csire M. és mtsai., 2007a és 2007b; Berencsi Gy. és mtsai., 2008, 2010).

A prenatalis laboratóriumi diagnosztika lehetőségei

Az optimális prenatalis diagnosztika a teherbeesést megelőzően kezdődik. Ezeknek a vizsgálatoknak a feltétele az „optimális családtervezési program” szerint, hogy a vizsgálatokat mintegy negyedévvel a teherbeesés előtt meg lehessen kezdeni.

A nőgyógyász által levett vérmintában szükség lehet annak ellenőrzésére, hogy a leendő terhes átesett-e már rubeola, cytomegalovírus, varicella-zoster vírus és humán parvovírus B19 fertőzésen, ha az anamnesztikus adatok, oltási státusz nem áll rendelkezésre. Amennyiben ezek a vizsgálatok szeropozitív eredményt adnak, akkor lehetőség szerint ezen vírusfertőzések kockázatával már a terhesség alatt nem kell számolni.

- Amennyiben a rubeola vagy a bányahimlő IgG vizsgálat eredménye negatív, javasolni kell az élő gyengített vakcinával (MMR és VZV) történő mielőbbi védőoltást (Intödy Z. és mtsai., 1987; Gidai J. és mtsai., 2007).

- Ha a humán cytomegalovírus IgG vizsgálat eredménye negatív, akkor a korszerű szakvélemények a terhes folyamatos ellenőrzését javasolják, amelyet specifikus IgM kimutatására alkalmas módszerekkel kell végezni (Nagy. G. Mezey I., 1979; Pusztai R. 2009). A CMV-specifikus IgM megjelenését követően érdemes megkísérlni hiperimmun gammaglobulin adását, a magzat fertőződésének a megelőzésére. Sajnos a ganciclovir és valganciclovir alkalmazásával még nem áll elegendő tapasztalat a rendelkezésre. Amennyiben a laboratóriumi vizsgálatok során a kismamajelölt antiCMV IgM vizsgálati eredménye pozitív, fontos annak a megállapítása, hogy primér vagy rekurrens a CMV fertőzése. Az anya primer fertőzése esetén nagyobb a valószínűsége a vírus vertikális terjedésének, így a magzat veszélyeztetettségének is. A primer CMV-fertőzést követően az antiCMV IgM akár 9 hónapig is kimutatható lehet a vérsavóban, továbbá megjelenhet a vírus reaktiválódásakor és reinfekciókor is (Pusztai R. 2009). A vírusspecifikus IgG pozitivitása esetén további vizsgálatként a CMV IgG aviditás vizsgálata jön szóba. Az aviditási vizsgálattal a közelmúltban (4 hónapon belül), illetve régebben (4 hónapon túl), történt fertőzésre lehet következtetni. Némely esetben ezzel a vizsgálattal nem lehet kizárni, de megerősíteni sem a terhesség alatti primer CMV fertőzés lehetőségét. Az aviditási vizsgálatnak igazi jelentősége a korai terhességben van, amikor eldönthető, hogy az anya CMV fertőzése primer fertőzés vagy reaktiváció következménye-e. A magzatra nézve a primer CMV fertőzés nagyobb veszélyt jelent, mint a reaktiválódás. Ráadásul terhésekben gyakran előfordul, hogy az

IgM aspecifikus reakciót ad. Ezért az antiCMV IgM pozitív várandósoknál minden esetben javasolt a minta továbbítása a referencia laboratóriumba.

A terhesség során a magzati szövetek vizsgálatára is szükség lehet. A chorionbolyhokból a terhesség 10-12. hetében lehet mintát venni. Amniocentézisre a középső trimeszterben (16-28 hét) kerülhet sor. Köldökzsinór vért a 16. terhességi hét után lehet venni (Intödy Z. és mtsai., 1987; Szabó J. és mtsai., 1991).

Az amniocentézis során nyert magzatvízből a CMV specifikus nukleinsav kimutatását PCR módszerrel a 20. gesztációs hét után célszerű elvégezni. Amennyiben a PCR negatív eredményt ad nincs teendő, ha viszont pozitív, akkor a kvantitatív PCR (Real-time PCR) vizsgálat a következő lépés. A magzat ultrahanggal észlelt rendellenességei és a nagy mennyiségű vírus az amnionfolyadékban a magzat CMV okozta betegségére utal.

Ha 100000 CMV kópia/ml alatti az eredmény alacsony a kockázat a szimptomás magzati fertőzésre, amennyiben 100000 CMV kópia/ml feletti az eredmény a kockázat fokozott.

A postnatalis diagnosztika mindkét esetben javasolt. Általánosságban elmondható, hogy minden intrauterin fertőzés gyanúja esetében célszerű az édesanyától is vérsavó mintát küldeni és ezt első körben egyazon időben vizsgálni az újszülött vérsavójával. Az kétségtelen, hogy a születést követően a két héten belül kimutatott vírus specifikus nukleinsav, vagy a vírus izolálása a vizeletből congenitális fertőzést igazol, de a vírus ürítése a vizelettel akár fél éven túl is (hosszú hónapokig, évekig is) lehetséges.

Az újszülött vizsgálatával a postnatalis vizsgálat sorozat veszi kezdetét, mely a későbbi károsodások megelőzését is szolgálja (Kósa Z. és mtsai., 1979). Az újszülött vizeletét a születést követő két héten belül polimeráz láncreakcióval célszerű megvizsgálni a CMV specifikus DNS kimutatása céljából. Amennyiben a PCR vizsgálat eredménye pozitív, javasolni kell az újszülött ganciclovir vagy valacyclovir kezelését, mert ez megelőzi az újszülöttben később bekövetkező süketiséget és egyéb idegrendszeri szövődeményeket (Tokodi I. és mtsai., 2004.).

A VZV és humán parvovírus B-19 magzati fertőzés vizsgálatát célzó invazív módszerek (magzatvíz PCR, magzati vér IgM vizsgálata) létjogosultsága kérdéses, mivel a magzati humorális immunitás korai terhességben még nem fejlődött ki. A magzat fertőzése előfordulhat magzati károsodás nélkül is. A fertőződés idejétől függően a születéskor detektálható IgM utalhat *in utero* fertőzésre.

Neonatalis varicella a léziók fluoreszcens vizsgálatával, vírusizolálással, PCR technikával vagy IgM kimutatásával igazolható (Mészner Zs. és mtsai., 1990). Amennyiben az ultrahang vizsgálat hydrops foetalis-t mutat ki, akkor a köldökzsinórba juttatott vérátömlesztéssel érdemes megmenteni a magzatot (Balogh L. 1964; Varga F., Hutás S., 1966).

Irodalomjegyzék

1. Arbuckle JH, Medveczky MM, Luka J, Hadley SH, Luegmayr A, Ablashi D, Lund TC, Tolar J, de Meirleir K, Montoya JG, Komaroff AL, Ambros PF, Medveczky PG: The latent human HHV-6 genome specifically integrates in telomeres of human chromosomes in vivo and in vitro. *Proc Natl Acad Sci US* 2010; doi/10.1073/pnas.0913586107.
2. Bacsı A., Aranyosi J., Beck Z., Ebbesen P., Andirko I., Szabo J., Lampe L., Kiss J., Gergely L., Toth F.D.: Placental macrophage contact potentiates the complete replicative cycle of human cytomegalovirus in syncytiotrophoblast cells: role of interleukin-8 and transforming growth factor-beta1. *J Interferon Cytokine Res.*, 19: 1153-60 (1999).
3. Balogh L.: A köldökzsinóron át végzett vércsere (200 vérátömlesztés tapasztalata): *Gyermekgyógyászat*. 1964; 15: 184-90.
4. Berencsi Gy, Csire M, Kapusinszky B, Takács M: A magzati immunrendszer módosítása anyai ellenanyagok, anti-idiotípusok, vírusok és vírus-ellenanyag komplexek által. *Focus Medicinæ* 2008; 10: 3-10.
5. Berencsi György, Csire Márta, Takács Mária: Anyai ellenanyagok, vírus-ellenanyag komplexek és anti-idiotípusú ellenanyagok átkerülése a magzati szövetekbe. *Egészségtudomány (közlés folyamatban)* 2010
6. Blond JL, Lavillette D, Cheynet V, Bouton O, Oriol G, Chapel-Fernandes S, Mandrand B, Mallet F, Cosset FL. An envelope glycoprotein of the human endogenous retrovirus HERV-W is expressed in the human placenta and fuses cells expressing the type D mammalian retrovirus receptor. *J Virol*. 2000; 74: 3321-9.
7. Czeglédy J.: Sexual and non-sexual transmission of human papillomaviruses. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 2001; 48: 511-517.
8. Csire M, Mikala G, Pető M, Jánosi J, Juhász A, Tordai A, Jákó J, Domján G, Dolgos J, Berencsi G, Vályi-Nagy I: Detection of four lymphotropic herpesviruses in Hungarian patients with multiple myeloma and lymphoma. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2007; 49: 62-7.
9. Csire M, Mikala G, Jákó J, Masszi T, Jánosi J, Dolgos J, Füle T, Tordai A, Berencsi G, Vályi-Nagy I. Persistent long-term human herpesvirus 6 (HHV-6) infection in a patient with langerhans cell histiocytosis. *Pathol Oncol Res*. 2007; 13: 157-60. Epub 2007 Jul 3.
10. Csoma E., Bacsı A., Liu X., Szabo J., Ebbesen P., Beck Z., Konya J., Andirko I., Nagy E., Toth F.D.: Human herpesvirus 6 variant a infects human term syncytiotrophoblasts in vitro and induces replication of human immunodeficiency virus type 1 in dually infected cells. *J Med Virol*. 67: 67-87 (2002).
11. Gidai J, Bács E, Czeizel E.: Magzati varicella szindróma. *Orv Hetil*. 2007; 148: 1373-9.
12. Intödy Z, Mezey I, Hajdu K, László J.: A magzati rubeola fertőzés prenatális diagnosztikája. *Orv Hetil*. 1987; 128: 1839-41.

13. Kósa Z, Mezey I, Nagy G, Simon M.: Fejlődési rendellenességben szenvedő újszülött csecsemők cytomegalovírus és rubeola ellenanyagainak a vizsgálata. *Orv Hetil.* 1979 Apr 8;120(14):815.
14. Mészner Z, Gyarmati E, Nyerges G, Simon M, Koller M.: Early relapses of varicella-zoster virus infection in immunocompromised children treated with acyclovir. *Acta Paediatr Hung.* 1990;30(2):263-70.
15. Nagy G, Mezey I.: The use of ion exchange chromatography for demonstration of rubella-specific IgM antibodies. *Acta Microbiol Acad Sci Hung.* 1977; 24: 189-94.
16. Ördögh, K., Szendrői, A., Szarka, K., Kugler, Z., Csire, M., Kapusinszky, B., Xie, J., Csizmadia, K., Brojnás, J., Rusvai, E., Tempfli, A., Berencsi, G.: Perinatal and intrafamily transmission of hepatitis B virus in three generations of a low-prevalence population. *J. Med. Virol.* 70/2, 194-204, 2003.
17. Pusztai R: Várandós anyák cytomegalovírus - fertőzése. *STD és Genitális Infektológia* 2009. 3/2:46-51.
18. Saji F., Samejima Y., Kamiura S., Koyama M.: Dynamics of immunoglobulins at the fetomaternal interface. *Rev Reprod.* 1999; 4: 81-9.
19. Szabó J, Gellén J, Kátai A, Resch B, Kovács L.: A kanyaróvírus fertőzés prenatális diagnosztikája transzabdominális köldökvéna punkcióval. *Orv Hetil.* 1991; 132: 2377-8.
20. Sziller I, Papp Z: Congenitális rubeola szindróma. *Klinikai genetika* (Szerk. Papp Z.) pp. 602-605. Golden Book Kiadó Kft., Budapest, 1995.
21. Tokodi I, Pusztai R, Deák J, Kátai A, Kovács I, Simon G. A posztnatális congenitális cytomegalovírus fertőzés diagnosztikájának lehetőségei. *Orv Hetil.* 2004 Apr 25;145(17):919-23.
22. Tóvári E, Mezey I, Hedman K, Czirják L.: Self limiting lupus-like symptoms in patients with parvovirus B19 infection. *Ann Rheum Dis.* 2002 Jul;61(7):662-3.
23. Varga F, Hutás S.: Alterations in blood pH and acid-base parameters during exchange transfusion in the newborn. *Biol Neonat.* 1966; 10: 55-65.
24. Younes A.S., Csire M., Kapusinszky B., Szomor K., Takács M., Berencsi Gy.: Heterogeneous pathways of maternal-fetal transmission of human viruses (review). *Pathol Oncol Res* 2009;15: 451-465.
25. Younes SA, Csire M, Pályi B, Mikala G, Vályi-Nagy I, Cseh I, Benczik M, Jeney Cs., Takács T, Simon E, Fülöp V, Berencsi Gy, Fekete Gy, Visy M: Endotoxins do not influence transplacental transmission of lymphotropic human herpesviruses and human papillomaviruses into amniotic fluid taken from healthy mothers before parturition in Hungary. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2007; 54:279–303.

ESBL-termelő *Klebsiella pneumoniae* epidémiás klón IV megjelenése több kórház felnőtt és csecsemő osztályán

Damjanova Ivelina, Tóth Ákos, Kenesei Éva, Köhalmi Margit, Kocsis Sándor, Szántai Patrícia, Füzi Miklós, Pászti Judit

A Nemzeti ESBL surveillance adatai alapján az ESBL-termelő *K. pneumoniae* (ESBL-KP) a leggyakoribb ESBL-termelő patogén Magyarországon. Míg a haemokulturából izolált *K. pneumoniae* törzsek között a 3. generációs cefalosporin rezisztensek aránya 2003. évben 9% volt, 2008-ban már 34%, továbbá az utóbbi izolátumok közel 70%-ában már együtt jelent meg a 3. gen. cefalosporinokkal, aminoglikozidokkal és fluoroquinolonokkal szembeni rezisztencia (1).

Az Országos Epidemiológiai Központ Bakteriológiai I. és Fágtipizálási és Molekuláris Epidemiológiai osztálya 2002 óta gyűjti és vizsgálja a kiterjedt spektrumú béta-laktamáz (ESBL) termelő *Enterobacteriaceae* törzseket. Ezen belül az évenként beküldött 150-400 ESBL-KP törzs fenotípusos és molekuláris-epidemiológiai jellemzését végzik (2). Eddigi eredményeikből néhány fontos következtetést vontak le az ESBL-KP epidemiológiájával kapcsolatban:

- Az újszülött- és csecsemőosztályokon előforduló kolonizációkat, halmozódásokat ill. járványokat ciprofloxacinnal érzékeny SHV-2a, ill. SHV-5 típusú ESBL-termelő járványtörzsek okozták. A vizsgálatok azt is kimutatták, hogy a különböző járványtörzsek az ESBL-gént kétféle epidémiás rezisztencia (R)-plazmidon hordozták.
- A CTX-M-15-típusú ESBL-termelő *K. pneumoniae* törzsek a kórházi felnőtt osztályokon terjedtek el. Közös jellemzőjük, hogy - a csecsemő osztályokról származó törzsekkel ellentétben - magas fokú rezisztenciát mutattak fluoroquinolonokkal szemben is. A molekuláris epidemiológiai vizsgálatok kimutatták, hogy a 2005. óta tapasztalt robbanásszerű terjedésük hátterében csak néhány genetikailag stabil epidémiás klón áll.

A 2006-2008 között folyamatosan végzett monitorozás során megerősítésre/további vizsgálatokra beküldött 488 ESBL-termelő *K. pneumoniae* izolátum között volt 27 olyan törzs, mely csökkent érzékenységet mutatott fluorokinolonokkal szemben (CLSI (2009) breakpointok: $E \leq 1$ mg/L; $R \geq 4$ mg/L).

A szerzők a 27 ciprofloxacinnal szemben emelkedett minimális inhibitor koncentráció (MIC) értéket mutató törzs molekuláris-epidemiológiai vizsgálatát és genetikai jellemzését végezték el.

Anyagok és módszerek

A törzsek 5 egészségügyi intézményből származtak a következő megoszlásban: i, 10 törzs felnőtt ápolási osztályokról (5 invazív minta egy nosocomiális járványból); ii, 17 törzs csecsemő osztályokról (12 invazív minta két nosocomiális járványból).

A törzsek antibiotikum érzékenységét agarhigítási módszerrel határozták meg (3).

Efflux-pumpa inhibitor tesztet végeztek mikroleveshigítási módszerrel, mely során a ciprofloxacin MIC érték változását vizsgálták Phe-Arg- β -naphthylamid (20 mg/L) inhibitor hozzáadásakor (4, 5).

Az antibiotikum rezisztencia gének meghatározása PCR termékeik direkt szekvenálásával történt (*bla*SHV, *bla*CTX-M, *bla*TEM, *bla*OXA-1, *aac3-II*, *aac6-Ib*, *gyrA* és *parC*) (6). A plazmidok összehasonlítására plamidprofil és fingerprinting analízist használtak (6).

Konjugációs és transzformációs kísérleteket végeztek a rezisztencia gének elhelyezkedésének feltérképezésére (recipiens *Escherichia coli* K12 J5-3Rif vagy *E. coli* DH5 α) (6).

A makrorestrikciós profil vizsgálatot (PFGE) a CDC PulseNet (7) protokoll útmutatásai szerint végezték el. *Xba*I restrikciós enzimmel való emésztés után a teljes bakteriális genomból készült preparátumokban agaróz gélelektroforézissel választották szét a restrikciós termékeket. Az eredmények rögzítése és kiértékelése Gel-Doc 2000 (Bio-Rad) dokumentációs készülékkel és Fingerprinting II (Bio-Rad) kiértékelő program segítségével történt.

A PFGE eredményei alapján három kiválasztott izolátumon multilokusz szekvencia analízist végeztek (7). Az allél szekvenciákat és a szekvencia típusokat (ST) a <http://www.pasteur.fr/mlst> honlapon található adatbázis alapján határozták meg.

Eredmények és megbeszélés

A baktériumok antibiotikumokkal szembeni rezisztenciájának számos típusát írták le. Az antibiotikum rezisztencia mechanizmusokat három fő csoportba lehet sorolni, attól függően, milyen módon kerül el az antibiotikum hatását a mikróbák: i, antibiotikumot bontó/módosító enzim termelése (pl. β -laktamázok, aminoglikozid acetiltranszferázok); ii, az antibiotikum célmolekulájának megváltoztatása (pl. DNS giráz, topoizomeráz megváltozása); iii, a célmolekulához való csökkent hozzáférés (pl. sejtfal áteresztőképességének megváltozása, porinvesztés, aktív efflux). Az antibiotikum rezisztencia megszerzése is többféle úton történhet: mutációkkal vagy rezisztencia gének felvételével (8).

Ebben a vizsgálatban 27 ciprofloxacinnal szemben csökkent érzékenységet ill. alacsony szintű rezisztenciát mutató (MIC: 0.5-8 mg/L), ESBL-termelő *K. pneumoniae* törzs fenotípusos, genetikai és molekuláris epidemiológiai jellemzését végezték el.

A 27 ESBL-KP törzs makrorestrikciós profilvizsgálata (PFGE) egyetlen genetikai klón – L klón, Epidémiás klón IV (ECIV) - jelenlétét bizonyította mind a felnőtt, mind az újszülött osztályokon (1. ábra). Az MLST eredménye igazolta a PFGE vizsgálatot, mivel a három kiválasztott törzs azonos szekvencia típusba, az ST274-be tartozott.

Az agarhígításos MIC érték meghatározások során a ceftazidim esetében két jól elkülönülő csoportot találtak: a csecsemő osztályokról származó törzsek MIC értéke 8 mg/L, míg a felnőtt osztályokról származó törzsek 64-128 mg/L-nek bizonyultak (1. táblázat). Az ESBL-gén típusok meghatározásával kiderült, hogy a csecsemő osztályokon izolált törzsek kizárólag SHV-2a típust, a felnőtt betegek ápoló osztályokon izolált törzsek pedig kizárólag CTX-M-15 típust hordoztak. Az ESBL-gén típusokban ill. az ezeket hordozó plazmidokban való eltérés okozhatta a MIC értékekben tapasztalt eltérést.

Az aminoglikozidok esetében a gentamicinnal szembeni rezisztencia mindkét csoport törzseinél magas volt, a felnőtt osztályokon izolált törzsek emellett amikacinnal szemben is rezisztensek voltak. Az aminoglikozid rezisztencia vizsgálatánál két különböző acetiltranszferázt (AAC) kódoló gént azonosítottak: az *aac(3)-II-t*, amely a gentamicin, tobramycin és netilmicin rezisztenciáért felelős enzimet kódolja és az *aac(6)-Ib-cr* variánst, amely amikacinnal szembeni rezisztenciáért felelős. A koraszülött osztályokon izolált törzsek R-plazmidjai csak az *aac(3)-II-t* kódolták- ezért voltak ezek a törzsek csak gentamicinre rezisztensek, míg a felnőtt osztályokról származó törzsek R-plazmidjai mindkét gént hordozták – ennek következménye, hogy a törzsek mindkét vizsgált aminoglikozidra rezisztensek bizonyultak. (1. táblázat)

A ciprofloxacinnal szembeni rezisztencia vizsgálatok során a felnőtt osztályokon izolált törzseknél 2-8 mg/L, a koraszülött osztályokon izoláltaknál, egy kivétellel (K61/8, MIC: 8mg/L), 0,5 mg/L MIC értékeket mértek. Az efflux-pumpa inhibitor teszttel öt reprezentatív törzs MIC érték változását vizsgálták. Aktív ciprofloxacinnal szembeni efflux-pumpa működését a K61/08 jelű koraszülött osztályról származó törzs esetében vizsgálták, ahol az eredeti 8 mg/L MIC érték Phe-Arg-β-naphthylamid hozzáadása után 0,5 mg/L-re változott. Mivel a teszt alapján az emelkedett ciprofloxacinnal szembeni MIC értéket csak egy esetben lehetett efflux pumpa túltermelés hatásával magyarázni, ezért a továbbiakban megvizsgálták a DNS replikációban résztvevő fehérjéket kódoló gének leggyakrabban leírt, kinolon rezisztenciát okozó mutációit. A *gyrA* (DNS giráz A alegységét kódolja) és *parC* (topoizomeráz IV egyik alegységét kódolja) gének kinolon rezisztenciát meghatározó régióinak (QRDR) direkt szekvenálásával kiderült, hogy mind a

felnőtt osztályokról származó, mind a koraszülött osztályokon izolált törzsek rendelkeznek a *gyrA* génjükben egy mutációval (83SER>TYR), míg a *parC* gén ezen régiójában mutáció nem volt. A GyrA génjében igazolt mutáció lehet felelős az emelkedett ciprofloxacin MIC-értékért (MIC 0,5 mg/L). A felnőtt osztályokról izolált törzseknél tapasztalt további MIC emelkedés (2 mg/L) pedig magyarázható a korábban már említett *aac(6)-Ib-cr* gén hordozásával, mivel erről a génről kifejeződő enzim kis mértékben a kinolonokat is képes hidrolizálni.

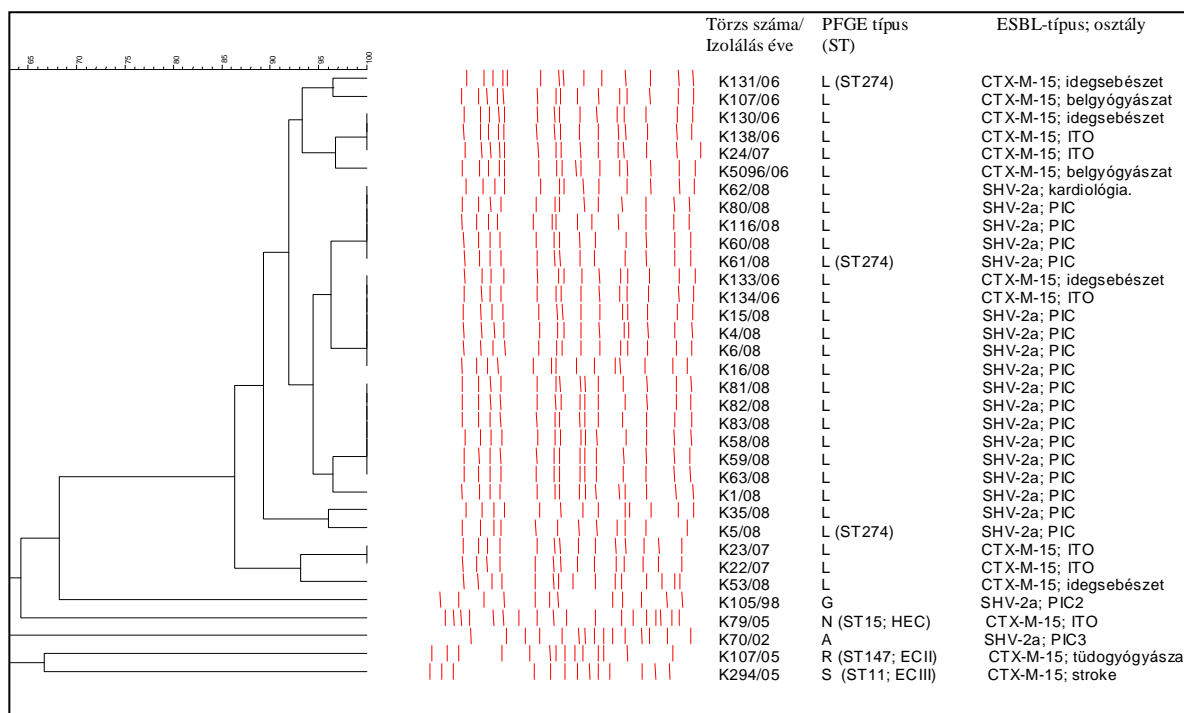
A transzkonjugánsokból és transzformánsokból izolált ≈ 90 kb méretű *blaSHV-2a* vagy *blaCTX-M-15* géneket kódoló R-plazmidok restriktív mintázatai lényegesen eltértek egymástól. Meglepő volt azonban a korábban azonosított járvány és epidémiás ESBL-KP klónok R-plazmidjainak restriktív mintázataival történt összehasonlítás eredménye (2. ábra). A felnőtt betegekből izolált CTX-M-15 típusú β -laktamáz gént hordozó plazmidok mintázata azonos volt a 2005-ben leírt CTX-M-15 termelő Magyar Epidémiás Klón Ib R-plazmidjainak mintázatával. Továbbá a koraszülött osztályokon izolált SHV-2a termelő törzsek R-plazmidjainak restriktív mintázata teljesen megegyezett az 1998- és 2002-ben Perinatalis Intenzív Centrumokban izolált SHV-2a termelő járvány törzsek plazmidjainak mintázataival (2. ábra). Ez azt jelenti, hogy az ESBL-géneket kódoló plazmidok igen stabil képletek és képesek kettő, hét, vagy akár tíz évig is cirkulálni a kórházi környezetben.

Összefoglalásként elmondható, hogy a vizsgált klón törzseiben mindhárom típusú rezisztencia mechanizmus (antibiotikumot bontó/módosító enzim termelése; az antibiotikum célmolekulájának megváltoztatása; a célmolekulához való csökkent hozzáférés) előfordult (2. táblázat, 3. táblázat). A 3. generációs cefalosporinokkal és aminoglikozidokkal szemben különböző enzimek termelésével védekeztek, míg a ciprofloxacin esetében mindhárom típusú rezisztencia mechanizmus megjelent. A *gyrA* génben történt mutáció lehetett a rezisztencia kialakulásának első lépése, mely megemelte az antibiotikum MIC értékét (MIC: 0,5 mg/L a csecsemő osztályokról származó törzseknél). A *bla*_{CTX-M-15} gént hordozó plazmidon található az *aac(6)-Ib-cr* gén is, amely által kódolt enzim képes kis mértékben bontani a kinolonokat, és ez a felnőtt osztályokról származó törzsek MIC értékét tovább emelte (MIC: 2 mg/L). A csecsemő osztályról származó K61/8 törzs esetében pedig egy másik rezisztencia mechanizmus is megjelent a GyrA mutáció mellett, egy efflux pumpa hatása, mely magasabb szintű rezisztenciát eredményezett (MIC: 8 mg/L).

Az ESBL-KP epidemiológiájával kapcsolatban a hazai tapasztalatok eddig azt mutatták, hogy a csecsemő és újszülött osztályokon az egyes antibiotikum rezisztencia gének (poliklonális terjedés), míg felnőtt ápolási osztályokon a sikeres multirezisztens klónok terjedtek (monoklonális terjedés). Jelen cikkben

bemutatásra került egy olyan ESBL-termelő *K. pneumoniae* epidémiás klón (L klón, ST274), mely - a korábbiaktól eltérően - sikeresen terjedt el és okozott járványokat mind koraszülött, mind felnőtt osztályokon. Ehhez egy új adaptációs stratégiát alkalmazva, az eltérő kórházi környezetre jellemző, korábbról már ismert R-plazmidokat vett fel.

Az antibiotikum rezisztencia elleni küzdelem két fontos pilléren nyugszik a higiénés szabályok betartásán és a megfelelő, körültekintő antibiotikum alkalmazáson. Előbbivel a rezisztens klónok terjedése ellen, míg az utóbbival az antibiotikumokkal szembeni rezisztenciák megjelenése, és elterjedése ellen lehet küzdeni (9).



1. ábra. SHV-2a vagy CTX-M-15 típusú ESBL-termelő *Klebsiella pneumoniae* ECIV (ST274) törzsek makrorestrikciós mintázata (PIC, felnőtt osztályok, n=27, 2006-2008)

1. táblázat . ESBL-termelő *K. pneumoniae* EC IV klón reprezentáns törzseinek és ezek transzkonjugánsainak (TC) és transzformánsainak (T) tulajdonságai

Törzs száma	Beteg kora (év)	Minta*	Ellátás helye (város)	Betegellátó; osztály**	MIC (mg/L)***						
					CAZ	CTX	FEP	CN	AK	CIP	CIP+ PAβN
K130/06	34	CSF	Budapest	BP1; Idegseb.	128	256	64	128	32	2	ND
K131/06	39	vér	Budapest	BP1; Idegseb.	128	256	64	128	32	2	1
K133/06	52	vér	Budapest	BP1; Idegseb.	128	128	64	128	32	2	ND
K24/07	73	vér	Budapest	BP1; ITO	128	256	64	128	32	2	ND
K80/08	0	vér	Budapest	BP2; PIC	8	8	2	128	2	0,5	ND
K1/08	0	széklet	Budapest	BP2; PIC	8	8	4	128	1	0,5	ND
K4/08	0	vér	Vác	P1; PIC	8	8	2	128	2	0,5	0,25
K5/08	0	vér	Vác	P1; PIC	8	8	2	128	2	0,5	ND
K6/08	0	vér	Vác	P1; PIC	8	8	4	128	4	0,5	ND
K35/08	0	torok	Székesfehérvár	F1; PIC	8	8	2	128	2	0,5	ND
K53/08	73	LRT	Debrecen	D1; Idegseb.	64	128	32	128	8	8	8
K61/08	0	vér	Budapest	BP2; PIC	8	8	4	128	1	8	0,5
K62/08	0	vér	Budapest	BP2; Kardiológia	64	128	128	128	2	0,5	0,5
K63/08	0	vér	Budapest	BP2; PIC	8	8	2	64	2	0,5	ND
TC130/06					4	64	4	16	0,5	≤0,064	ND
TC131/06					2	16	1	16	1	≤0,064	ND
TC133/06					8	64	2	32	1	≤0,064	ND
TC62/08					2	8	1	16	0,5	≤0,064	ND
TC63/08					2	8	1	16	0,5	≤0,064	ND
T4/8					≤0,5	1	≤0,5	32	0,5	≤0,064	ND
T5/8					≤0,5	1	≤0,5	32	0,5	≤0,064	ND
T61/8					1	1	≤0,5	32	0,5	≤0,064	ND
J5-3					≤0,5	<0,5	≤0,5	≤0,25	≤0,5	≤0,064	ND
DH5α					≤0,5	<0,5	≤0,5	≤0,25	≤0,5	≤0,064	ND

* CSF: cerebrospinális folyadék, LRT: alsólégúti minta

** ITO: Intenzív Terápiás Osztály, PIC: Perinatális Intenzív Centrum

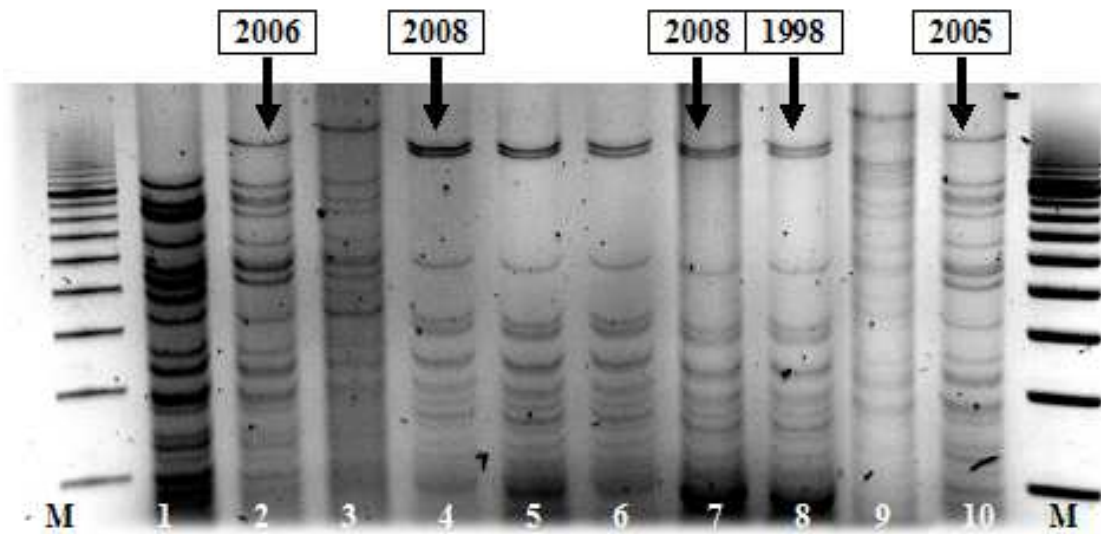
*** CAZ: ceftazidim; CTX: cefotaxim; FEP: Cefepim; CN: Gentamicin; AK: Amikacin; CIP: Ciprofloxacin

2. táblázat. Az L epidémiás klónhoz (EC IV) tartozó törzsek genetikai sajátosságai

	<i>Donor törzsek</i>	TC v. T (plazmidok)
Felnőtt osztályról származó törzsek	<i>gyrA: 83SER>TYR</i> <i>parC: vad típus</i>	90 kb: <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{OXA-1} , <i>tetA</i> , <i>tetC</i> , <i>aac(6')-Ib-cr</i> , <i>aac(3)-II</i>
Csecsemő osztályról származó törzsek	<i>gyrA: 83SER>TYR</i> ; <i>parC: vad típus</i>	90 kb: <i>bla</i> _{SHV-2a} , <i>aac(3)-II</i>

3. táblázat. Az L epidémiás klónhoz (EC IV) köthető antibiotikum rezisztencia mechanizmusok

Mechanizmus	Molekuláris háttér	Antibiotikum
I. Antib. inaktiváció		
I.a. Beta-laktamáz	CTX-M-15 SHV-2a	Cephalosporinok
I.b. Aminoglycosid inaktiváló enzimek	AAC(3)-II AAC(6')-Ib-cr	Gentamicin Amikacin+Quinolon
II. Target hely változás		
II.b. DNS giráz/topoizomeráz	GyrA: 83 Ser>Tyr	Ciprofloxacin, Levofloxacin
III. Csökkent hozzáférés a target helyhez		
III.b. Efflux pumpa	TetA, TetC ?	Tetracyclin Ciprofloxacin



2. ábra. Különböző Epidémiás Klónok transzkonjugánsaiból (TK) és transzformánsaiból (T) izolált R-plazmidok restrikciós mintázatai (*Pst*I emésztés). M, marker; 1, TC130/06 (CTX-M-15); 2, TC131/06 (CTX-M-15); 3, TC133/06 (CTX-M-15); 4, T4/08 (SHV-2a); 5, T5/08 (SHV-2a); 6, T61/08 (SHV-2a); 7, TC62/08 (SHV-2a); 8, TC105/98 (SHV-2a); 9, TC280/05 (HEC-Ia; CTX-M-15); 10, TC79/05 (HEC-Ib; CTX-M-15)

Irodalom

1. Nemzeti Bakteriológiai Surveillance Adatfeldolgozó Csoport. A magyarországi mikrobiológiai surveillance antibiotikum rezisztencia eredményei. Országos Epidemiológiai Központ, 2002-2008.
2. Damjanova I., Tóth Á., Hajbel-Vékony G. et al. **ESBL-termelő *Klebsiella pneumoniae* Nemzeti PFGE adatbázisa.** *Infektológia*. XVI évf.1-2 szám: 24-28.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Fifteenth Informational Supplement M100-S15. CLSI, Wayne, PA, USA, 2005.
4. Lomovskaya O, Warren MS, Lee A et al. Identification and characterization of inhibitors of multidrug resistance efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*: novel agents for combination therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; **45**: 105-116.
5. Schumacher A, Steinke P, Bohnert JA et al. Effect of 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine, a novel putative efflux pump inhibitor, on antimicrobial drug susceptibility in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* other than *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2006; **57**: 344-348.
6. Damjanova I, Tóth Á, Pászti J et al. Expansion and countrywide dissemination of ST11, ST15 and ST147 ciprofloxacin-resistant CTX-M-15-type beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* epidemic clones in Hungary in 2005--the new 'MRSA's'? *J Antimicrob Chemother*. 2008 **62**(5):978-85.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Standardized molecular subtyping of foodborne bacterial pathogens by pulsed-field gel electrophoresis: training manual. 2000 Centers for Diseases Control and Prevention, Atlanta, GA.
7. Diancourt L., Passet V., Verhoef J. et al. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *J Clin Microbiol* 2005; **43**:4178-82
8. Mulvey M.R., Simor A.E. Antimicrobial resistance in hospitals: how concerned should we be? *CMAJ* 2009, **180**: 409-415
9. Weinstein R A. Controlling Antimicrobial Resistance in Hospitals: Infection Control and Use of Antibiotics. *Emerg Infect Dis*, 2001, **7** (2) Special issue

Prototheca a kórokozó alga

Zala Judit, Darvas Eszter, Nagy Tamás

A bakteriológiai, mikológiai laboratóriumi gyakorlatban időnként ritka kórokozók is megjelennek, amelyek azonosítása a szokásos napi rutin eljárásokkal, a gyári gyorsidentifikáló tesztekkel nem egyszerű feladat. Különösen érvényes ez, ha olyan izolátum jelenik meg, amely nem része sem a bakteriológia, sem a parazitológia sem pedig a mikológia tárgykörének. Hagyományosan és legtöbbször az ilyen mikroorganizmusok a mikológusok asztalára kerülnek. Ez a helyzet a *Prototheca* patogén algafajokkal is.

Taxonomia és biológia:

A *Prototheca* fajok a klorofilhiányos algák közé tartoznak. Ubiquiter megjelenésűek, a környezetben mindenütt megtalálhatók különböző szubsztrátokon, különösen vízben és talajban.

Az ebbe a csoportba tartozó egysejtű mikroorganizmusokat először 1894-ben Krüger írta le, mint *Prototheca moriformis* és *P. zopfii*. Később többször is változott a rendszertani besorolás, egy ideig a *Sarcinosporon* gombanemzetségbe is sorolták őket. Az idők folyamán több fajt is leírtak, amelyeket a jelenlegi besorolás szinonim elnevezésként tart számon, így a Novák Ervin és Zsolt János által 1968-ban leírt *P. ubrizsyi* ma a *P. zopfii* szinonimjaként elfogadott.

Jelenleg 5 fajt tekintenek a *Prototheca* genusba tartozónak: *P. zopfii*, *P. wickerhamii*, *P. stagnora*, *P. ulmea* és *P. blaschkeae* sp. nov. Újabban leírtak egy hőforrásból izolált termotoleráns változatot is *P. zopfii* var *hydrocarbonea* néven.

A *Prototheca* fajok gömb alakú egysejtű mikroorganizmusok 3-30 mikrométer átmérőjűek. Sejtfaluk nem tartalmazza a gombasejtekre jellemző glükózamint, de a baktérium sejtfalra jellemző muraminsavat sem. Az algákon belül a kloroplaszt hiánya és a három helyett kétrétegű sejtfal különíti el ezt a genust.

A *Prototheca* fajok aszexuális módon szaporodnak, életciklusuk a *Chlorella* alga genuséhoz hasonló.

A szaporodás endospórákkal történik, amelyek (az) érésük során az anyasejtben (sporangia) növekednek, majd a megnövekedett belső nyomás hatására felszakadó anyasejtből kiszabadulva jutnak az asszimilációs életszakaszba. A spórák alakja és száma változatos (2-20) és ez alkotja a faji bélyegeket is.

A klorofil hiánya miatt heterotróf táplálkozásúak és számos külső szén- és nitrogénforrást igényelnek.

Jellegzetesség, hogy nitrogén forrásként csak ammóniumot hasznosítanak és csak monoszacharidokat (glükóz, fruktóz, galaktóz) asszimilálnak, továbbá, hogy valamennyi faj tiamin és oxigén jelenlétét is igényli a növekedéshez. (Lass-Flörl 2007)

Patogenitás, epidemiológia, terápia:

Az algákat korábban nem tekintették humán kórokozóknak. Állati megbetegedésekben – elsősorban szarvasmarhák mastitisének kórokozójaként a *P. zopfii* jól ismert. Ugyanez a faj kutyákban hasmenést, uveitist is okozhat.

A humán patogenitásról kevés ismeret áll rendelkezésre. Leggyakrabban bőrfertőzésekben fordul elő, feltételezhetően egyes fajok bőr szaprofitaként okozhatnak (kután) fertőzéseket. A leírt humán esetekben a *P. wickerhamii* előfordulása a legdominánsabb.

A celluláris immunitás hiányával járó súlyosan immunhiányos betegeknél (neutropenia, AIDS, tumor, szteroid terápia, diabetes, szervtranszplantáció) a protothecosis kialakulása előfordulhat traumás fertőzést követően exogén úton, de kolonizáció következtében endogén úton is.

Kórházi fertőzésekben is leírtak protothecosis eseteket sebészeti osztályokon, ahol a vektornak a szennyezett víz bizonyult, és a sérült bőrfelületen keresztül alakult ki a fertőzés. A fertőzés közvetítője lehet még számos állati eredetű élelmiszer, szennyezett talaj is.

A bőr felületen kívül lehet *Prototheca* kolonizáció a bélben és a légutakban is.

Eddig a szakirodalomban kb. 120 protothecosis esetet írtak le. A betegség emberről emberre nem terjed, de súlyos prediszponáló alapbetegség esetén disszeminált forma is kialakulhat. (Lass-Flörl 2007)

A *Prototheca* fajok antimikrobás szerekkel szembeni érzékenysége nagyon változatos képet mutat. In vitro vizsgálatokban mind antibiotikumokra, mind pedig antimikotikumokra lehet érzékeny törzseket találni, a megállapított MIC értékek azonban széles tartományban változnak. A *P. wickerhamii* sejtmembránja a gombasejtekhez hasonlóan ergoszterint tartalmaz, ami a polién Amphotericin B-vel ill. az azol származékokkal (pl. fluconazol) szembeni érzékenységet teheti lehetővé (Lass-Flörl 2007). Ennek ellenére leírtak fluconazol rezisztens izolátumokat is. (Segal 1976, Tortorano 2008). A gombasejtfalaktól eltérő kémiai felépítés miatt a sejtfalszintézisre ható szerek (pl. Caspofungin) nem jelentenek megoldást. A protothecosis esetek terápiajának sikeressége az in vitro eredményekhez hasonlóan nagyon változó képet mutat.

Azonosítás:

A Prototheca törzsek az olyan hagyományos bakteriológiai és mikológiai táptalajon jól tenyészthetők, melyek a korábban említett szén- és nitrogénforrás ill. vitamin igényeket kielégítik. Megjelenésük élesztő telepekre hasonlít. A CHROMagar Candida táptalajon a *Candida parapsilosis*hoz hasonló krémszínű telepeket képeznek (Casal 1997)

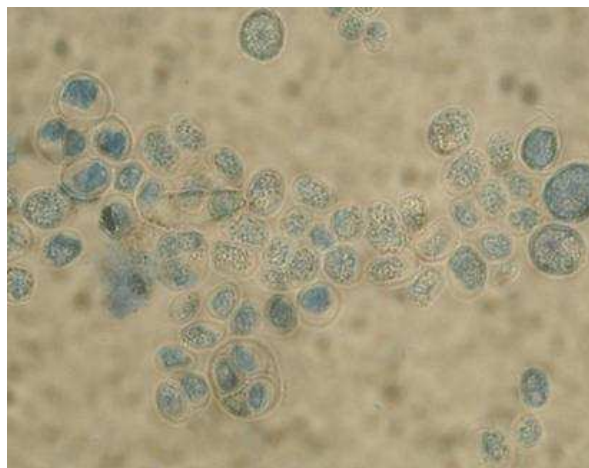
A Prototheca fajok pontosabb identifikálása szénhidrát asszimilációs próbákkal is lehetséges. Egyes élesztőidentifikáló biokémiai panelek tartalmaznak Prototheca sp. identifikálásra kidolgozott kódsorozatot (AUXACOLOR 2 – BioRad).

Az azonosítás fő meghatározója azonban mindenképpen a nagyon jellegzetes mikroszkópos megjelenés kell, hogy legyen.

Az OEK Mikológiai osztály vizsgálatai során a közelmúltban előfordult Prototheca esetek.



1. kép *Prototheca* sp. megjelenése maláta táptalajon



2. kép *Prototheca* sp. sporangium sejtek endospórákkal (laktofenol-gyapottkék festés 400x nagyítás)

Esetleírás:

1. Az OEK Bakteriológiai II. osztályán egy tanyán élő 10 éves leány véres hasmenéséből származó széklet tenyésztése az enterális differenciáló/szelektív táptalajokon negatív eredményt adott. A CCDA (charcoal cefoperazone desoxycholate agar) táptalajon megjelent telepek telep- és mikroszkópos morfológiája eltért a campylobacterektől. A széklet parazitológiai vizsgálata is

negatív lett, ezzel szemben továbbküldött törzs mikológiai tenyésztése és identifikálása során: *Prototheca* sp.-t azonosítottunk.

A beérkezett törzset a laboratóriumban használt szokásos táptalajainkra oltottuk le. Pagano-Levin-Trejo táptalajon a törzs nem tenyészett ki, de maláta agaron élesztőszerű, áttetsző telepek növekedtek.

A natív minta mikroszkópos vizsgálata során szokatlanul nagy kerek sejteket láttunk, egyes sporangiumok a 15 μ m-es nagyságot is elérték. Az identifikálást a jellegzetes endospóra sejtek küllős kerékhez hasonló képletei alapozták meg. A kiszabaduló endospórák is jól megfigyelhetők voltak.

Az nem igazolódott, hogy a véres hasmenés hátterében ténylegesen a *Prototheca* fertőzés állhatott-e, de a körülményekből (tanyasi életmód) arra lehetett következtetni, hogy a fertőzés egyik lehetséges forrása a nyers tej fogyasztása lehetett, tekintettel arra, hogy a tehének tőgygyulladásában a *Prototheca* fajok viszonylag gyakori kórokozók. Az ismételt vizsgálat során a tenyésztés negatív lett a tünetek megszűnése mellett, de a terápiáról - ha volt is - nem kaptunk információt.

2. A második *Prototheca* izolátum szintén az OEK Bakteriológiai II. osztályról érkezett a Mikológiai osztályra nem sokkal az első eset után. A törzs egy anyatejet leadó kismama szűrővizsgálata során tenyészett ki székletből, tünetek nem voltak. CHROMagaron fehér színű telepek nőttek, míg a mikroszkópos vizsgálat során az előzőhöz hasonló jellegzetes, nagyméretű (6-16 μ m) sporangium sejtek voltak láthatóak.

Összefoglalás:

A két ismertett eset kapcsán szeretnénk felhívni a figyelmet arra, hogy a mindennapi gyakorlatban számítani lehet időnként szokatlan, ritka kórokozók megjelenésére.

Ezekben az esetekben, ha csak a vegyes laboratóriumi rutin protokoll szerint járna el egy laboratórium, és a tenyészeteket csak biokémiai tesztek alapján, automata rendszerekkel azonosítaná, akkor meglehetősen hamis képet kapna az izolátumokról. Csak a biokémiai profilt tekintve 6 élesztőgomba (*Candida catenulata*-, *C. magnoliae*-, *C. zeylanoides*, *Pichia farinosa*-, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichosporon beigeli*-) is identifikálható lenne ezek alapján (Barnett-FUNID program). Ezért ismételten szükséges hangsúlyozni, hogy a pontos identifikáláshoz minden esetben a mikroszkópi vizsgálat minden esetben elengedhetetlen.

Irodalom:

1. <http://www.prototheca.com>
2. Cornelia Lass-Flörl and Astrid Mayr: Human Protothecosis; Department of Hygiene, Microbiology and Social Medicine, Innsbruck Medical University, Innsbruck, Austria CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, Apr. 2007, p. 230–242 Vol. 20, No. 2
3. Manuel Casal , Maria Josel Linares, Francisko Solis & Fernando C. Rodriguez : Apparence of Colonies of Prototheca on CHROMagar Candida medium, Mycopathologia 137: 79-82, 1997.
4. Ester Segal, Arvind A. Padhye, and Libero Ajello: Susceptibility of Prototheca Species to Antifungal Agents Antimicrobial Agents and Chemotherapy, July 1976, p. 75-79. Vol. 10, No. 1.
5. Anna Maria Tortorano, Anna Prigitano, Giovanna Dho, Renata Piccinini, Valentina Dapra, and Maria Anna Viviani: In vitro activity of conventional antifungal drugs and natural essences against the yeast-like alga Prototheca Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2008) 61, 1312–1314
6. BIO-RAD AUXACOLOR®2 (56513) Kolorimetriás Cukorasszimilációs Teszt Klinikai Szempontból Jelentősebb Sarjadzó Gombák Identifikálására
7. Kreger van Rij, N.J.W.:(1987): The Yeasts; A Taxonomic Study (third edition); Elsewiere Science Publishing Company, Inc., Amsterdam, The Netherlands.
8. Nagy Tamás: Szakértői Rendszerek Alkalmazhatósága a Mikológiai Vizsgálatok Elősegítéséhez (Doktori Disszertáció; Budapesti Műszaki Egyetem, 1995.) FUNID program
9. Barnett, J.A.; Payne, R.W.; Yarrow D. Yeasts: Characteristics and Identification Cambridge University Press, Cambridge, 1990.

Az ESBL termelés kimutatás lehetőségei Frank Diagnosztika által forgalmazott tesztekkel

Kiterjedt-spektrumú béta-laktamáz (ES β L) termelés kimutatása az *Enterobacteriaceae* család tagjaiban

Az ES β L-termelő törzsek klinikai mintákból való szelektív tenyésztése és a rezisztencia mechanizmus fenotípusos megerősítése gyakran állítja kihívás elé a mikrobiológiai laboratóriumokat. A MAST Diagnostica termékei ebben nyújtanak segítséget.

CHROMagar ESBL: Szelektív és differenciáló táptalaj ES β L-termelő törzsek szűrésére, kimutatására.

A táptalajon csak a 3. generációs cefalosporinokra rezisztens *Enterobacteriaceae* és más Gram-negatív baktérium törzsek képesek növekedni. A CHROMagar ESBL táptalaj specificitását növeli, hogy az AmpC-termelő törzsek növekedését is gátolja.

A CHROMagar ESBL táptalaj a kinőtt telepek színe alapján már a tenyésztés során segítséget nyújt az *Enterobacteriaceae* család bizonyos csoportjainak elkülönítésében:

- Piros színű telepek: *Escherichia coli*
- Fémesszöld színű telepek: *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp.
- Barna elszíneződés a telepek körül: *Proteus* sp.

A hagyományos kétkorongos szinergizmus tesztek általában alkalmasak az ES β L-termelés fenotípusos detektálására és megerősítésére. *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* és *P. mirabilis* törzsek ES β L-termelésének fenotípusos megerősítése a CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) is ajánlja ezt a módszert. Ennek elve, hogy a klavulánsav gátolja az ES β L enzimek működését, ezért a klavulánsavval kombinált cefalosporin tartalmú korongok körül nagyobb gátlási zóna mérhető, mint az inhibitor nélküli korongok esetében. A MAST Diagnostica többféle terméket is kínál az ES β L-termelő törzsek rezisztencia mechanizmusainak vizsgálatára:

D52C ESBL teszt antibiotikum tartalmú korongjai az ES β L-termelés hagyományos kimutatására szolgálnak. Ez a teszt a korábban említett specioseknél (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* és *P. mirabilis*) alkalmazható megfelelő szenzitivitással és specificitással. Más *Enterobacteriaceae* specioseknél (melyek általában AmpC-termelők) korlátozott a teszt használhatósága:

D52C

Set1: 30 μ g ceftazidim/ 30 μ g ceftazidim+10 μ g klavulánsav

Set2: 30 μ g cefotaxim/ 30 μ g cefotaxim+10 μ g klavulánsav

Set3: 30 μ g cefpodoxim/ 30 μ g cefpodoxim+10 μ g klavulánsav

A hagyományos kétkorongos szinergizmus tesztek sok esetben nem adnak megfelelő eredményt, ha olyan törzseket vizsgálunk, melyek AmpC-típusú β -laktamáz(oka)t termelnek. MAST Diagnostica további két antibiotikum korongos termékei segítséget nyújtanak a csak AmpC-termelő törzsek AmpC és ES β L-termelő törzsektől való elkülönítésében:

D63C 30 μ g cefepim/ 30 μ g cefepim+10 μ g klavulánsav

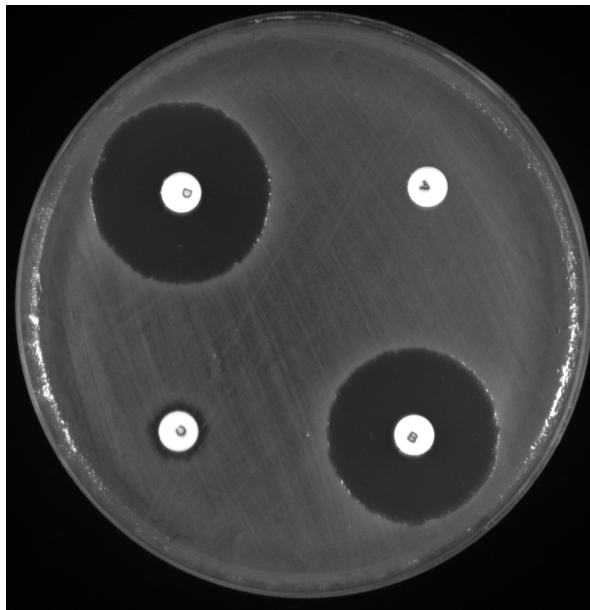
D65C 30 μ g cefpirom/ 30 μ g cefpirom+7.5 μ g klavulánsav

A módszer működési elve, hogy az AmpC-típusú β -laktamázok nem bontják a cefepimet (cefpiromot), míg az ES β L enzimek igen. Ha a hagyományos kétkorongos szinergizmus teszttel negatív törzseknél ezek a tesztek pozitív eredményt adnak, akkor a törzs az AmpC mellett rendelkezik ES β L enzimmal is. A módszer hátránya, hogy a gyengén ES β L-termelő törzsek esetében a módszer nem elég érzékeny.

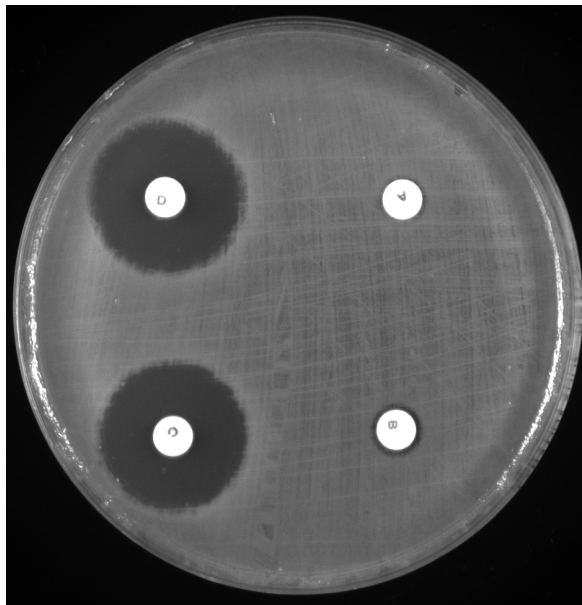
A MAST Diagnostica kifejlesztett egy újfajta antibiotikum korongos tesztet, mely lehetőséget nyújt az ES β L- és az AmpC-termelés együttes és külön-külön vizsgálatára is. A korongok cefpodoximot tartalmaznak, mely alkalmas az alacsony szinten kifejeződő enzimek detektálására is, ezzel növelve a teszt érzékenységét. A **MAST 4-Disc Test** 4 különböző összetételű korongot tartalmaz:

1. cefpodoxim 10 μ g
2. cefpodoxim 10 μ g + klavulánsav
3. cefpodoxim 10 μ g + cloxacillin
4. cefpodoxim 10 μ g + klavulánsav + cloxacillin

A klavulánsav az ES β L enzimek, míg a cloxacillin az AmpC-típusú β -laktamázok gátlószere. A négyfajta korong egy lemezre történő felhelyezésével, a különböző inhibitor kombinációk segítségével könnyen elkülöníthetők egymástól a csak ES β L, a csak AmpC és az együttesen ES β L és AmpC-termelő törzsek is.



ESBL-termelő
Klebsiella pneumoniae



Kromoszómális AmpC túltermelő
Enterobacter cloacae

- A: cefpodoxim
- B: cefpodoxim+klavulánsav
- C: cefpodoxim+cloxacillin
- D: cefpodoxim+klavulánsav+cloxacillin