



2012. XII. évf. 1. szám

Tartalom:

„Véráram- fertőzést okozó, domináns *Staphylococcus aureus* klónok azonosítása Európában”- a második nemzetközi felmérés magyarországi eredményei

Ungvári Erika, Berta Brigitta, Hajdu Ágnes, Tákosné Fabók Éva, Vörös Petra, Szabó Attila Tamás, Szikra Lenke, Lakatos Ferenc, Kamotsay Katalin, Markó Eleonóra, Papp Katalin, Székelyi Katalin, Baranyai Gabriella, Kispál Gyula, Urbán Edit, Kálmán Zsuzsa, Szabó Judit, Knausz Márta, Jung Ágnes, Pászti Judit, Tóth Ákos

***Chlamydia trachomatis* fertőzések**

Deák Judit

Bakteriális STI - járványügyi referencia tevékenység, illetve laboratóriumi diagnosztikus irányelvek 2011-ben

Balla Eszter

Az Orvosi Baktériumok Magyar Nemzeti Gyűjteménye (HNCMB)

Szabó Zsuzsa, Kurunczi Miklósné

„Véráramfertőzést okozó, domináns *Staphylococcus aureus* klónok azonosítása Európában” – a második nemzetközi felmérés hazai eredményei

Ungvári Erika¹, Berta Brigitta¹, Hajdu Ágnes¹, Tákosné Fabók Éva¹, Vörös Petra¹, Szabó Attila Tamás², Szikra Lenke³, Lakatos Ferenc⁴, Kamotsay Katalin⁵, Markó Eleonóra⁶, Papp Katalin⁷, Székelyi Katalin⁸, Baranyai Gabriella⁸, Kispál Gyula⁹, Urbán Edit¹⁰, Kálmán Zsuzsa¹¹, Szabó Judit¹², Knausz Márta¹³, Jung Ágnes¹⁴, Pásztai Judit¹, Tóth Ákos¹

¹ Országos Epidemiológiai Központ

² Laboratórium Kft, Bács-Kiskun megyei Mikrobiológiai Laboratóriuma

³ Laboratórium Kft, Fejér Megyei Mikrobiológiai Laboratóriuma

⁴ Laboratórium Kft, Vas Megyei Mikrobiológiai Laboratóriuma

⁵ Egyesített Szent István és Szent László Kórház, Mikrobiológiai Laboratórium

⁶ Soproni Erzsébet Oktató Kórház, Mikrobiológiai Laboratórium

⁷ Jósa András Oktatókórház Nonprofit Kft., Központi Laboratórium-Mikrobiológia részleg

⁸ Tolna Megyei Önkormányzat Balassa János Kórháza, Laboratóriumi Diagnosztikai Osztály

⁹ Jász-Nagykun-Szolnok Megyei Hetényi Géza Kórház-Rendelőintézet, Mikrobiológiai Laboratórium

¹⁰ Szegedi Tudományegyetem ÁOK, Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet

¹¹ Bajcsy-Zsilinszky Kórház, Központi Laboratórium

¹² Debreceni Egyetem OEC Orvosi Mikrobiológiai Intézet, Bakteriológiai Diagnosztikai Laboratórium

¹³ Petz Aladár Megyei Oktatókórház Központi Laboratórium Mikrobiológia

¹⁴ Synlab Budapest, Szt. János Kórház és Észak-budai Egyesített kórházai Központi Laboratórium

Bevezetés

Öt évvel az első átfogó, európai szintű vizsgálat után, 2011. január 1-jén indult az RIVM (National Institute for Public Health and the Environment, Hollandia) és a SeqNet.org közös kezdeményezéseként a második nemzetközi felmérés, „Véráramfertőzést okozó, domináns *Staphylococcus aureus* klónok azonosítása Európában” címmel. Az OEK *Staphylococcus aureus* Nemzeti Referencia Laboratórium (SRL) csatlakozott az új kezdeményezéshez, vállalva az izolátumok gyűjtését, a nemzeti törzsgyűjtemény felállítását, a törzsek tipizálását, valamint az adatok, illetve eredmények szolgáltatását az RIVM felé.

Az új kezdeményezés lehetőséget ad arra, hogy a *S. aureus* klónok földrajzi elterjedtségének változását megfigyeljük, emellett – minthogy ez egyben az Európai Betegségmegelőzési és Járványügyi Központ (ECDC) által támogatott megvalósíthatósági tanulmány is – mintaként szolgálhat más, kiemelt népegészségügyi jelentőségű baktériumfajok, európai szintű molekuláris epidemiológiai vizsgálataihoz.

A különböző *S. aureus* izolátumok klonális hátterének vizsgálata lényeges információkat nyújt (i) az evolúciós változások; (ii) a klónok terjedése és (iii)

azok epidemiológiájának vonatkozásában, – s ez különösen fontos olyan fajsúlyos témákban, mint amilyen a területi és kórházi MRSA fertőzéseké.

Az *S. aureus* törzsek egyik legjelentősebb virulencia faktora a protein A fehérje, amely aspecifikusan kötődik az IgG molekulák Fc fragmentumához, így rejtve el a sejteket az immunrendszer elől. A protein A fehérjét kódoló *spa* gén X régiója nagymértékben polimorf, különböző számú, 21-27bp-nyi hosszúságú szekvencia ismétlődéseket (repeat) tartalmaz, ezáltal az *S. aureus* törzsek különböző *spa* (szekvencia) típusokba sorolhatók. A szekvencia adatok értékelésére kifejlesztett szoftver automatikusan detektálja az egyes repeat-eket, és a repeat-ek sorrendjének meghatározásával azonosítja az egyes *spa* típusokat. Az interneten keresztül elérhető központi szerver (<http://spaserver.ridom.de/>) gyűjti és harmonizálja a különböző földrajzi régiókból származó *spa* tipizálási eredményeket (*spa* típusok, repeat-szekvenciák). A *spa* típusok csoportosítására, az MLST eredmények értékelésére használt algoritmushoz hasonló BURP-t (Based Upon Repeat Pattern) alkalmazzák, ezáltal a különböző *spa* típusok *spa* komplexekbe (*spa* CC-k) sorolhatók.

Jelen írás célja, hogy bemutassa a 2011. évi felmérés magyarországi eredményeit és összehasonlítsa azokat a korábbi felmérés eredményeivel.

Anyag és módszer

A felmérés 2011. január 1-jén a törzsek gyűjtésével indult, és 6 hónapon keresztül, 2011. június 30-ig tartott. A vizsgálatban 13 kórház anyagait feldolgozó 13 laboratórium vett részt. A résztvevő laboratóriumok véráramfertőzésből származó *S. aureus* törzseket gyűjtöttek, betegenként egy izolátumot. A felmérés során az első 5-5, időben egymást követő (kórházi osztályoktól függetlenül) methicillin-érzékeny *S. aureus* (MSSA), illetve methicillin-rezisztens *S. aureus* (MRSA) törzset küldték be az SRL-be. Amennyiben az adott kórházban nem sikerült 5 MRSA törzset összegyűjteni, helyettük további MSSA törzseket küldhettek, de kórházanként a beküldött törzsek száma nem haladhatta meg a tízet. A laboratóriumok a felmérés során demográfiai adatokat (beteg kora, neme) és epidemiológiai adatokat (kórházi [HA] vagy területi [CO] eredet, azaz a beteg felvételét követő 48 órán belül vagy azon túl jelentkeztek a fertőzés tünetei; a beteg státusza a fertőzést követő 14. napon; a beteget ellátó osztály) is gyűjtöttek. A betegek személyes adatait anonim módon kezelték.

Az SRL-ben molekuláris módszerekkel megerősítették a törzsek MSSA vagy MRSA fenotípusát (*nuc* és *mecA* gén kimutatása PCR-rel), vizsgálták azok PVL (Panton-Valentine leukocidin) toxingén-hordozását és meghatározták azok *spa* típusát [1, 2, 3, 4].

A *spa* tipizálás során a *spa* gén polimorf X régióját a *spa*-1113f (5'-TAA AGA CGA TCC TTC GGT GAG C-3') és *spa*-1514r (5'-CAG CAG TAG TGC

CGT TTG CCT-3') primerekkel amplifikálták, majd a PCR terméket szekvenálták. A szekvenálási reakcióhoz a DYEnamic™ ET Dye Terminator Kit (MegaBACE™) (GE Healthcare, UK) szekvenáló kit-et használták, a nukleotidok sorrendjét MegaBACE™ 1000 (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA) automata DNS szekvenátorral határozták meg. A *spa* típusok és a *spa* CC-k meghatározására a Staphy Type szoftvert (Ridom GmbH, Würzburg, Germany) használták [1]. A *spa* típusok csoportosítása során a BURP algoritmus segítségével csak azokat a *spa* típusokat sorolták csoportokba, amelyek legalább 5 repeat-et tartalmaztak [5].

A leíró statisztikák körében kiszámolták az egyes változók százalékos gyakoriságait a teljes vizsgálati mintán belül. A betegek medián életkorának szórásához a 25. és 75. percentilis távolságot, ún. interkvartilis tartományt (IKT) számolták, amely az adatsor középső 50%-át tartalmazza.

A két csoport (MSSA vs MRSA) demográfiai és epidemiológiai paramétereinek összehasonlításakor Wilcoxon-próbát alkalmaztak az életkorok mediánjainak összevetéséhez, illetve chi-négyzet próbát a kategorikus változók (nem, halálozás, kórházi eredet) esetén. Statisztikailag szignifikáns eredménynek a 0,05-nél kisebb p-értéket tekintették. Az adatok elemzését STATA v9.1 programmal (StataCorp LP, College Station, TX) végezték.

Eredmények

A felmérés során 125 *S. aureus* törzs érkezett az SRL-be további vizsgálatokra: 74 MSSA és 51 MRSA törzs. A tizenhárom kórház közül 10 kórházból küldtek be 10 *S. aureus* izolátumot, közülük hétből az ajánlott megoszlásban: 5 MRSA és 5 MSSA törzset. Öt kórházban a hat hónap alatt ötnél kevesebb MRSA okozta véráramfertőzés fordult elő. Két kórházban csak 1-1 MRSA törzset izoláltak hemokultúrából. (1. táblázat)

A 125 *S. aureus* törzs közül egyetlen törzs sem hordozta a PVL toxin géneket.

A teljes vizsgálati mintán belül több volt a férfi (81/125; 64,8%), mint a női beteg. A véráramfertőzések 31,5%-a végződött a beteg halálával a fertőzést követő két héten belül. A felmérés során elsősorban (68,8%) kórházi eredetű (HA) *S. aureus* fertőzések fordultak elő. A törzsek 72,8%-a (n=91) általános osztályokon (RW), 18,4%-a (n=23) intenzív osztályon (ICU), míg 8,8%-a (n=11) járóbeteg-szakellátáson/sürgősségi osztályon (OP) vett mintákból tenyésztett ki. Az intenzív osztályokon (n=17, 73,9%) és az általános osztályokon (n=67, 73,6%) a kórházi fertőzések, míg a járóbeteg szakellátásokon/sürgősségi osztályon (n=9, 81,8%) a területi eredetű infekciók fordultak elő nagyobb arányban.

1. táblázat. A felmérésben résztvevő kórházak és a hemokultúrából izolált MSSA és MRSA izolátumok száma.

Kórház neve	MSSA	MRSA	Összesen
Bács-Kiskun Megyei Önkormányzat Kórháza, Kecskemét	4	5	9
Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum	5	5	10
Fejér Megyei Szt. György Kórház, Székesfehérvár	5	5	10
Bajcsy-Zsilinszky Kórház, Budapest	5	5	10
Szt. János Kórház, Budapest	5	5	10
Egyesített Szt. László és Szt. István Kórház, Budapest	5	5	10
Jász-Nagykun-Szolnok Megyei Hetényi Géza Kórház, Szolnok	6	1	7
Jósa András Oktató Kórház, Nyíregyháza	8	2	10
Petz Aladár Megyei Oktató Kórház, Győr	7	3	10
Soproni Erzsébet Oktató Kórház	8	1	9
Szegedi Tudományegyetem ÁOK	5	5	10
Tolna Megyei Önkormányzat Balassa János Kórháza, Szekszárd	6	4	10
Vas Megyei Markusovszky Kórház, Szombathely	5	5	10
Összesen	74	51	125

Mind az MSSA-val, mind az MRSA-val fertőzött betegek körében nagyobb arányban fordultak elő férfiak, mint nők. A medián életkor a fertőzés idején mindkét csoportban 65 év felett volt. Az MRSA törzsek gyakrabban (82,4%) fordultak elő kórházi eredetű fertőzésben, mint az MSSA törzsek (59,5%), ez a különbség statisztikailag szignifikánsnak bizonyult. (2. táblázat)

2. táblázat. MSSA és MRSA okozta véráramfertőzésben szenvedő betegek demográfiai és epidemiológiai paramétereinek összehasonlítása

Statisztikák	<i>n</i>	MSSA		MRSA		Összesen		P-érték
Gyakoriság (%)	125	74	(59,2%)	51	(40,8%)	125	(100%)	-
Medián életkor (IKT)	125	66.5	(56-79)	68	(55-77)	67	(56-78)	0,097
Férfi betegek (%)	125	49	(66,2%)	32	(62,7%)	81	(64,8%)	0,690
Összes halálozás* (%)	124	25	(33,8%)	14	(28%)	39	(31,5%)	0,496
Kórházi eredet (%)	125	44	(59,5%)	42	(82,4%)	86	(68,8%)	0,007

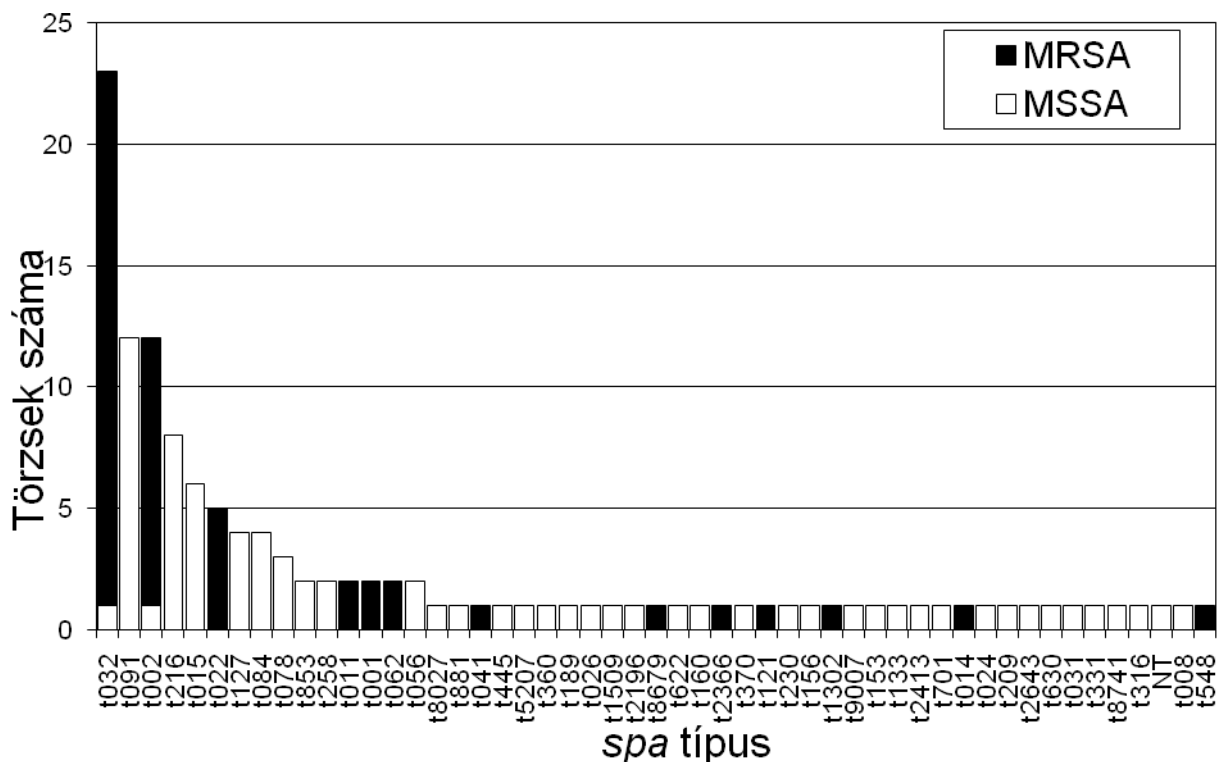
IKT, interkvartilis tartomány

*Bármely okból bekövetkező halálozás 14 napon belül az első *S. aureus* izolálását követően

A 125 *S. aureus* törzs 50 *spa* típusba tartozott. Egy MSSA törzs bizonyult nem tipizálhatónak (NT). Az összes *spa* típusból 39 az MSSA törzseknél, míg 13 az MRSA törzseknél fordult elő. Harminchét *spa* típus csak az MSSA törzsekre, 11 *spa* típus csak az MRSA törzsekre volt jellemző. A t002 és t032 *spa* típus mind az MSSA, mind az MRSA törzseknél előfordult. A felmérés során négy új *spa* típus került azonosításra (t8027, t8679, t8741, t9007). A

leggyakrabban előforduló MSSA *spa* típusok a t091 (16,2%), t216 (10,8%) és a t015 (8,1%) voltak. A leggyakrabban előforduló MRSA *spa* típusok a t032 (43,1%), t002 (21,5%) és a t022 (9,8%) voltak. (1. ábra, 3. táblázat)

Az MRSA törzsek háromnegyede mindössze 3 *spa* típusba tartozott, míg az MSSA törzsek ugyanekkora hányada 21 *spa* típusba.

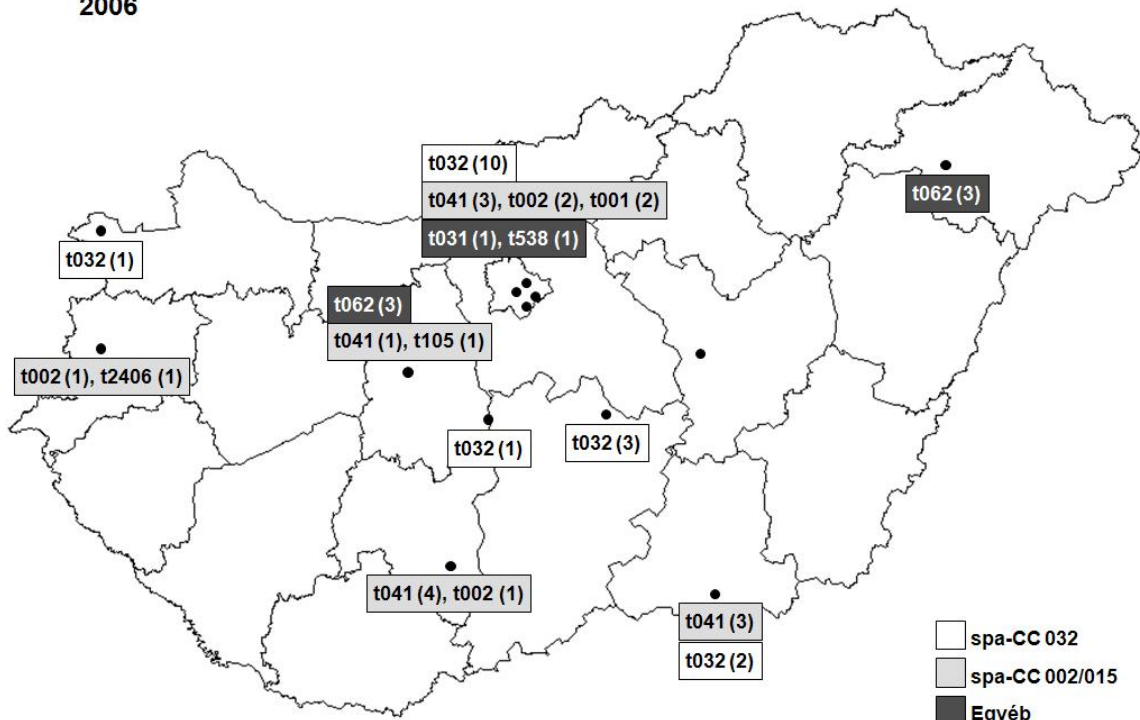


1. ábra. A hemokultúrából izolált MSSA (n=74) és MRSA (n=51) törzsek *spa* típus megoszlása

A BURP alapján a 120 *S. aureus* törzs 23 csoportba tartozott: 8 *spa* CC-be és 15 ún. „singleton”-ba (különálló *spa* típus). Négy *spa* típus (t026, t1509, t2196, t2413) a BURP által nem volt csoportosítható, mert kevesebb, mint öt repeat-et tartalmaztak. Míg az MSSA törzsek 8 *spa* komplexbe, az MRSA törzsek 3 *spa* komplexbe (*spa* CC 002/105, *spa* CC 032 és a *spa* CC 024) tartoztak. Közülük a *spa* CC 032 (t032, t022, t8679) és *spa* CC 002/105-be (t002, t001, t041, t548, t2366) tartozott az MRSA törzsek 86,3%-a.

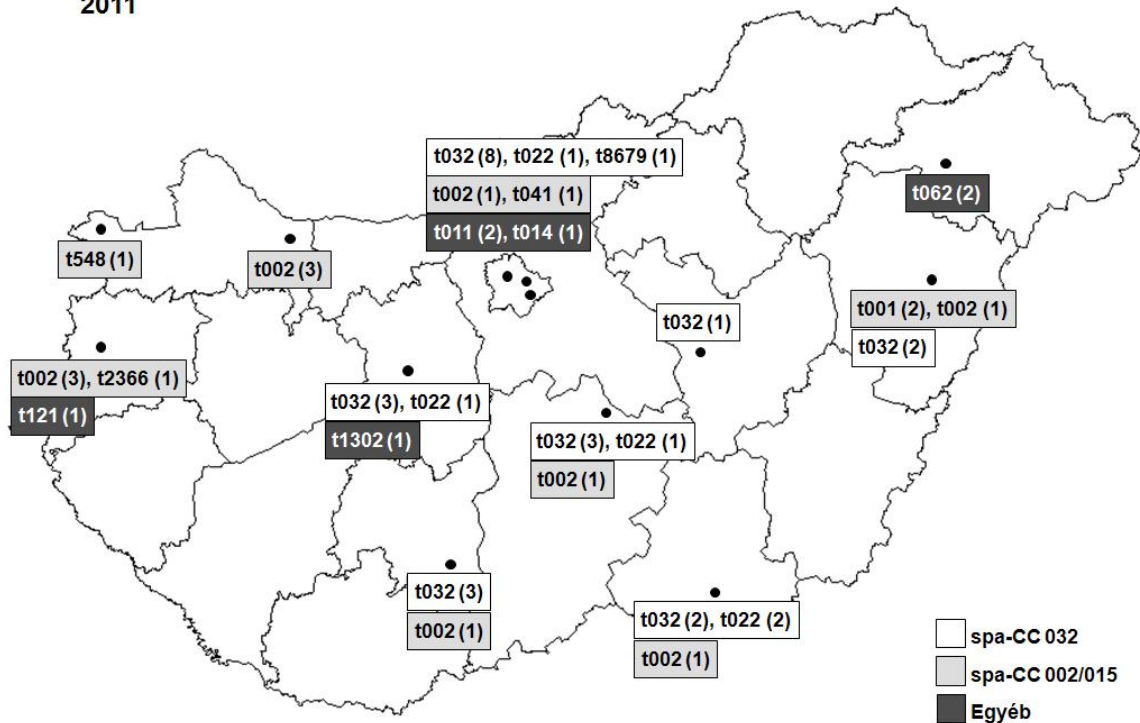
Az MRSA törzsek közül a t032 típus (n=22) volt a leggyakoribb: 9 kórházban (69%) volt kimutatható. A második leggyakoribb a t002 típus (n=11) volt, ami 7 kórházban fordult elő, ugyanakkor a rokon *spa* típusokkal (t001, t041, t548, t2366) együtt szintén 9 kórházban volt kimutatható. Hat kórházban mind a *spa* CC 032, mind a *spa* CC 002/105 törzsei előfordultak. (2/b. ábra)

2006



a.

2011



b.

2. ábra. A hazai MRSA törzsek *spa* típusainak földrajzi megoszlása a 2006. (a) és 2011. (b) évi felmérés eredményei alapján.

3. táblázat. A leggyakrabban előforduló MSSA és MRSA *spa* típusok a 2006. és 2011. évi felmérés során

	MSSA <i>spa</i> típusok							MRSA <i>spa</i> típusok						
	<i>n</i>	1.	%	2.	%	3.	%	<i>n</i>	1.	%	2.	%	3.	%
2006	66	t091 t216	10,6	t012 t084	7,6	t002 t015 t2115	4,7	44	t032	38,6	t041	25,0	t062	13,6
2011	74	t091	16,2	t216	10,8	t015	8,1	51	t032	43,1	t002	21,6	t022	9,8

Megbeszélés

Az NNSR (Nemzeti Nosocomiális Surveillance Rendszer) 2010. évi eredményei alapján a nosocomiális véráramfertőzések leggyakoribb kórokozója a *S. aureus* volt: 2013 primer vagy szekunder bejelentett véráramfertőzésesetből 292 betegnél (14,5%) azonosítottak *S. aureus* törzset. A Nemzeti Bakteriológiai Surveillance (NBS) eredményei pedig évről-évre a methicillin-rezisztens *S. aureus* izolátumok arányának drasztikus emelkedését mutatják. Míg 2003-ban az *S. aureus* izolátumok 15%-a volt MRSA, ez az arány 2010-ben már 30% volt. Ezek az adatok azt mutatják, hogy a *S. aureus* – és az MRSA – továbbra is az egyik legjelentősebb nosocomiális kórokozó Magyarországon. Fontos azonban kiemelni, hogy az adatszolgáltató kórházak között jelentős különbségek tapasztalhatóak az országos átlaghoz képest. Ezt jól szemlélteti EARS-Net (Európai antibiotikum-rezisztencia surveillance hálózat) 2010. évi jelentése, amely szerint az NBS-be jelentő hazai kórházakban 0%-65% közötti a methicillin-rezisztens törzsek aránya a hemokultúrából izolált *S. aureus* izolátumok között [6]. Mindezt a mostani felmérés eredményei is jól tükrözik, öt kórházban ötnél kevesebb MRSA törzset küldtek be a törzsgyűjtés 6 hónapja alatt.

A 2011. évi felmérés során felállított nemzeti törzsgyűjtemény jól reprezentálja a hazai MRSA helyzetet, eredményei jól korrelálnak az országos adatokkal. A felmérésben résztvevő kórházak közül, egy kivételével mindegyik szolgáltat adatokat az NBS-be. 2010-ben ebből a 12 kórházból származott az NBS adatbázisában megtalálható, hemokultúrából izolált MRSA törzsek 49,9%-a (205/411). Ezekben a kórházakban az MRSA átlagos aránya 27% volt, amely érték az egyes kórházakat tekintve széles határok között mozgott: 4%-42,9%. A mostani felmérés során azokból a kórházakból került ötnél kevesebb MRSA törzs beküldésre, ahol a hemokultúrából izolált MRSA aránya az országos átlag alatt volt. Mindezt az NBS 2011. I. félévi adatai is alátámasztják.

A 2011. évi hazai felmérésbe bevont betegek közel harmada meghalt a véráramfertőzést követő 2 héten belül, ez a halálozási arány kétszerese annak,

mint amelyet a hasonló, 2006. évi nemzetközi felmérésben találtak (16%) [a 2006. évi hazai epidemiológiai adatok hiányossága miatt a 2006. évi és a 2010. évi vizsgálat hazai eredményeinek összehasonlítása nem volt elvégezhető]. Bár a mortalitás magas, nem ítélték meg, hogy milyen arányban tartható a halál közvetlen okának a véráramfertőzés, mivel nem szerepelt a felmérésben erre vonatkozó változó.

A 2011. évi felmérés során kapott halálozási arány más hazai adatforrásból, illetve külföldi vizsgálatokból származó eredményeknél is magasabb, ugyanakkor az összehasonlítás során figyelembe kell venni az adatgyűjtés módszertani különbségeiből adódó korlátokat. Az NNSR 2010. évi eredményei alapján a 292 *S. aureus* okozta nosocomiális véráramfertőzés-eset között 67 beteg halálát jelentették (22,9%). Nemzetközi kitekintésben egy kanadai, 7 év adatait átfogó populációs vizsgálatban 25% volt a *S. aureus* véráramfertőzés-esetek bármely okból, a kórházi tartózkodás során bekövetkező halálozásának aránya [7].

A vizsgálati mintában az MSSA csoport halálozási aránya a statisztikailag szignifikáns szintet el nem érve, de magasabb volt az MRSA csoport halálozásánál. Ez az eredmény feltehetően a relatíve alacsony mintaszámnak tulajdonítható. A fent idézett kanadai vizsgálatban az MRSA okozta véráramfertőzéseknél szignifikánsan nagyobb arányú halálozást jelentettek, mint az MSSA esetében (39% vs 24%) [7]. Hasonló eredményt jelentettek egy angliai kórházi kohorsz vizsgálatban a nosocomiális *S. aureus* bacteraemiák tekintetében [8].

Az MRSA okozta infekciók között szignifikánsan nagyobb arányban fordultak elő kórházi eredetűek, mint az MSSA infekciók között (82,4% vs. 59,5%, $p=0,007$). A felmérés során területi eredetű infekciónak tekintették, ha a beteg felvételét követő 48 órán belül jelentkeztek az infekció tünetei, ezen túl pedig kórházi eredetűnek. Ez a definíció valószínűleg nem elégséges a területi és kórházi fertőzések elkülönítésére. Ezt támasztja alá az is, hogy a felmérés során a 9 CO-MRSA törzsből 8 a HA-MRSA klónokra jellemző *spa* típusal rendelkezett.

A 2006. évi felmérés során a leggyakrabban előforduló MSSA *spa* típusok a t091 és t216 voltak. A t091 *spa* típus a domináns MSSA típusok egyike Európában, nagy gyakorisággal fordult elő Olaszországban, Szlovéniában, Ausztriában és Hollandiában. Ugyanakkor a t216 *spa* típus Magyarországon kívül csak néhány nyugat-európai kórházban volt megfigyelhető [www.spatalepidemiology.net/SRL-Maps/maps/, 9]. A 2011. évi felmérés során ugyanezeknek a *spa* típusoknak a dominanciája volt kimutatható. (2. ábra, 3. táblázat)

A két felmérés eredményeit összevetve azonban jelentős változás figyelhető meg az MRSA *spa* típusok gyakoriságának megoszlásában. Bár

mindkét felmérés során az EMRSA-15 klónra (ST22-MRSA-IV) jellemző t032 *spa* típus volt a leggyakoribb az MRSA törzsek között, 2011. évre a t041 és a t062 típusok helyett újabbak kerültek előtérbe. A Dél-Német klón (ST228-MRSA-I) t041 típusú törzseinek aránya 25%-ról 1,9%-ra csökkent; a 2011. évi felmérés során mindössze egyetlen budapesti kórházban volt kimutatható. Jelentősen emelkedett ugyanakkor a New York/Japán klón (ST5-MRSA-II) t002 és az EMRSA-15 klón t022 *spa* típusú törzseinek aránya. (2. ábra, 3. táblázat) 2011-ben a vizsgált törzsek több mint fele (54,9%) az EMRSA-15 klónba tartozott.

A 2011. évi felmérésben a ritkábban előforduló MRSA *spa* típusok közül kiemelt figyelmet érdemel a t011 típus (ST398 klón), melybe két, kórházi eredetű MRSA törzs is tartozott. Az előző felmérésben az ST398 klónra jellemző *spa* típusok (t011, t034, t571, t1255, t2383) még csak alacsony arányban (0,4%) fordultak elő Európában, és a törzsek mindegyike MSSA volt [9]. A 2006. évi felmérés óta az ST398 klón methicillin-rezisztens törzsei, melyeket elsősorban zoonotikus fertőzésekkel kapcsolatban írtak le – erre utal a LA (livestock associated)-MRSA elnevezés –, egyre növekvő problémát jelentenek Európában [10]. Az LA-MRSA ST398-as törzsei 2009 óta hazánkban is megjelentek, és egyes esetekben súlyos humán infekciókat okoztak [11].

Összefoglalva, 2001-2004 között az invazív MRSA törzsek között a New York/Japán (t002, t062) és a Dél-Német klónok (t041) együttes dominanciáját mutatták ki [12]. A 2006. évi felmérésben már az EMRSA-15 (t032) jelentős előretörése volt megfigyelhető [9], és mellette csak kisebb arányban fordultak elő a Dél-Német klón (t041) és a New York/Japán klón (t062, t002) törzsei. A mostani felmérés során az EMRSA-15 klón egyértelmű dominanciáját tapasztalták (t032, t022, t8679) a hazai invazív MRSA törzsek között, és a korábban jelentős Dél-Német klón törzsei szinte teljesen eltűntek.

Ezek a nemzetközi felmérések több szempontból is sikeres kezdeményezésnek bizonyultak a *S. aureus* molekuláris epidemiológiájának megismerésében. Kialakították az izolátumok és az adatok gyűjtésének-feldolgozásának egységes rendszerét, valamint bevezették az *S. aureus* törzsek populációgenetikai struktúrájának vizsgálatára is alkalmas, standardizált tipizáló módszert, a *spa* tipizálást. Ezáltal reprezentatív pillanatfelvételek készülhettek az Európában invazív fertőzéseket okozó *S. aureus* törzsekről. A vizsgálatok megteremtették egy olyan európai együttműködés kereteit is, amelynek révén nyomon követhetővé váltak az MSSA és MRSA klónok földrajzi és időbeli változásai [9].

Irodalomjegyzék:

1. Harmsen, D. et al: Typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for spa repeat determination and database management. J Clin Microbiol. 2003, 41, 5442-5448.
2. Brakstad, OG. et al: Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. J Clin Microbiol. 1992, 7: 1654-1660.
3. Pérez-Roth, E. et al: Multiplex PCR for simultaneous identification of *Staphylococcus aureus* and detection of methicillin and mupirocin resistance. J Clin Microbiol. 2001, 11: 4037-4041.
4. Lina, G. et al: Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis. 1999, 5: 1128-1132.
5. Mellman, A. et al: Based Upon Repeat Pattern (BURP): an algorithm to characterize the long-term evolution of *Staphylococcus aureus* populations based on spa polymorphisms. BMC Microbiology. 2007, 7:98.
6. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2010. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net): Stockholm: ECDC; 2011. Elérhető: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1111_SUR_AMR_data.pdf
7. Laupland, K,B. et al: *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: risk factors, outcomes, and the influence of methicillin resistance in Calgary, Canada, 2000-2006. J Infect Dis. 2008, 198: 336-343.
8. Wyllie, D.H. et al: Mortality after *Staphylococcus aureus* bacteraemia in two hospitals in Oxfordshire, 1997-2003: cohort study. BMJ 2006, 333:281
9. Grundmann, H. et al.: Geographic distribution of *Staphylococcus aureus* causing invasive infections in Europe: a molecular-epidemiological analysis. PLoS Medicine. 2010, 7(1): e1000215.
10. Cuny C. et al. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in different animal species. Int J Med Microbiol. 2010, 300:109-117.
11. Ungvári Erika, Tóth Ákos: Zoonotikus CA-MRSA törzsek megjelenése Magyarországon. Mikrobiológiai Körlevél. X. évfolyam 4. szám: 7-11.
12. Conceição, T. et al: Replacement of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Hungary over time: a 10-year surveillance study. Clin Microbiol Infect. 2007, 13: 971-979.

***Chlamydia trachomatis* fertőzések**

Deák Judit

Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Szegedi Tudományegyetem, 6725 Szeged, Semmelweis u. 6.

Everett és munkatársai, molekuláris genetikai kutatásaik alapján, új chlamydia taxonomiai besorolást javasoltak, mely, jelentős változásokat hozott a chlamydiológiai nevezéktanban (1). A *Chlamydiaceae* családba tartozó speciestek teljes genom szekvenciájának meghatározása megtörtént. Az összehasonlító genom analízisek során kiderült, hogy az eltérő gazdaszervezethez tartozó speciestek biológiailag és ökológiailag igen közel állnak egymáshoz. A chlamydiák evolúciója, különböző gazdaszervezetekben történt szeparálódása 60-100 millió évvel ezelőtt kezdődött és a divergencia jelentősebb differenciák nélkül maradt (2). A *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) által okozott megbetegedések filogenetikai analízis alapján 3 betegségcsoportba tartoznak; invazív lymphogranuloma venereum-ok (LGV-k), a globálisan elterjedt non-invazív szexuális úton terjedő infekciók (STI-k) (*ompA* genotípusok D/Da, E és F) és az alacsony prevalenciájú STI-k egy trachoma szubklaszterrel. Multilocus és SNP analízis módszereket alkalmaztak konzervált és háztartási gének vizsgálatára azzal a céllal, hogy jellemezzék azon chlamydia törzseket, eredetüket, rokonsági kapcsolatukat, amelyek súlyos kimenetelű fertőzéseket okoznak. A cél a diverzitás, és az újonnan felbukkanó törzsek vizsgálata elsősorban trachoma, súlyos kimenetelű STI-k és lymphogranuloma venereum, további vizsgálata, de fontos lehet epidemiológiai és evolúciós tanulmányok összegzése érdekében is (3-5).

Trachoma A megelőzhető vakság kórokozója, a *C. trachomatis*, a legszegényebb afrikai, közel-keleti, ázsiai és ausztráliai területeken idézi elő a megbetegedést. Az endémiás területeken 40 millió embert, főként gyermeket és nőt érint a fertőzés. A WHO 2020-ra célul tűzte ki a betegség eradikálását. A SAFE stratégia (Surgery – minimális sebészi beavatkozás képzett nővérek segítségével, Antibiotics - antibiotikum kezelés, Face – arcmosás, Environment – környezeti & higiéniai program; légyirtás, latrinák hiánya, vízhiány) hatékonynak tűnik a fertőzések csökkentésében. Nem nélkülözhető az érzékeny és specifikus mikrobiológiai diagnosztika sem, mert az endémia súlyosságától függően klinikai tünetek nélkül is fertőzött lehet a populáció 10 %-a (6-7).

Új *Chlamydia trachomatis* variáns: 2005. november és 2006. augusztus között a *C. trachomatis* incidencia 25%-os csökkenését figyelték meg Délnyugat-

Svédország Halland megyéjében. A jelenség új variáns megjelenésével volt magyarázható. A kórokozó plazmidjában, mely a nukleinsav diagnosztika célpontja volt, deléció következett be. A *C. trachomatis* kimutatására korábban néhány cég a deléciót szenvedett plazmid szakaszra tervezte primereit. Noha az infekciók típusos tünetekkel jelentkeztek, az infekció nem volt kimutatható. A plazmid gén más régiójából, vagy a kromoszóma MOMP (major outer membrane protein) területéről választott alternatív targettel a fertőzés a továbbiakban már kimutatható volt. A jelzett cégek korrigálták primereiket. A plazmid egy részének szekvenálása során kiderült, hogy 377 bp különbség volt kimutatható a PCR célszekvenciában (Abbott és Roche). A jelenség nem egyedi, más kórokozók esetében is leírtak hasonló jelenséget. A chlamydia fertőzés kimenetele, antibiotikum érzékenysége nem tért el az eredeti baktérium tulajdonságaitól. Svédország minden régiójában elterjedt az új variáns, az ország határain túl azonban ritkán írták le. A metodika módosításával később sikerült kimutatni a deléciós mutánsokat is az említett cégek kitjeivel.

Chlamydia trachomatis (és *Neisseria gonorrhoeae*) diagnosztika: Több, mint 20 év telt el a nukleinsav amplifikációs tesztek bevezetése óta, és 2006-ban, az 11th Symposium on Human Chlamydial Infections (Niagara on the Fall, Canada) alkalmával megfogalmazódott az a kíváncsi, hogy a vizsgálatok többségét ilyen módszerekkel végezzük. Az amplifikációs tesztek jelenleg a legérzékenyebbek a valaha volt vizsgálati módszerek között. Jelenleg a Gen-Probe Aptima Combo2 (AC2) a „Test of choice”, a NAT módszerek között a legérzékenyebb, mert a kiindulási célszekvencia, a riboszomális chlamydia RNS néhány száz kópiában van jelen kórokozónként, összehasonlítva a plazmidban jelen lévő <10 DNS kópiával, elemi testenként. Az invazív mintavétel helyett ma már több országban, férfiak esetében, javasolják az első sugár vizelet minták, nőknél az önmintázással, vagina tamponnal gyűjtött minták vételét és vizsgálatát. Számos publikáció jelent meg az elmúlt években az önmintázással, és az online eredményközléssel kapcsolatban. Férfiaknál 6-12,5 és nőknél 4,6-9%-os *C. trachomatis* pozitivitást regisztráltak (9-10).

A homoszexuális férfiak és prostituált nők körében az urethra/cervix és vizelet minta mellett a rectum és torokváladék minták vétele is indokolt, egyidejűleg a minták *Neisseria gonorrhoeae* nukleinsav amplifikációs teszttel (NAT) történő vizsgálatával.

Az USA közegészségügyi szakemberei folyamatosan sürgetik a szexuálisan aktív 16-25 év közötti populáció szűrését. A szűrések célja egyértelműen a *C. trachomatis* fertőzések számának csökkentése, a következmények redukálása; kismencedei gyulladás, méhen kívüli terhesség, a méhkürt eredetű infertilitás, valamint a perinatális következmények; újszülöttkori conjunctivitis és pneumonia.

Gyorsdiagnosztikai tesztek: Néhány évtizede vannak használatban gyorsdiagnosztikai tesztek (Point Of Care Tests = POCTs), melyek szenzitivitását a klasszikus tenyésztési módszerrel összehasonlítva 50%-os érzékenységűnek találták. Az elmúlt években megnövekedett az érdeklődés a POCTs irányában, gyártók (13 milliárd USD bevétel/év) és felhasználók részéről egyaránt. Nukleinsav amplifikációs tesztekkel (NAT) végeztek összehasonlítást a tesztek érzékenységének és specifikitásának meghatározására. Karimi O és munkatársai a NAT eredményekkel összehasonlítva a Biorapid Chlamydia Ag tesztet 17%, a Quick Vue Chlamydia tesztet 27% és a Handilab-C tesztet 12%-os érzékenységűnek találta. Magyarországon többek között a Sumatest (Unicorp) volt forgalomban, mely a Handilab-C teszt elvén működött. Endródi és munkatársai angol nyelven publikált közleményükben egy CE jelzéssel ellátott NAT és a Sumatest elnevezésű gyorseszteszt érzékenységét az összehasonlítás során azonosnak találta. Schachter a legutóbbi salzburgi nemzetközi szimpóziumon elhangzott előadásában és a konferencia kiadványban megkérdőjelezte egyrészt a magas magyarországi *C. trachomatis* prevalenciát, másrészt a látszólagos egybehangzó eredményt, ezzel a Sumatestet és a magyarországi PCR teszt érzékenységét és specifikitását is. Kritizálta a szerzőket és gyártókat, amiért az „ismeretlen” újonnan bevezetendő gyorsesztesztet nem a világszerte ismert és elismert módszerekkel hasonlították össze. A Sumatest egyébként eltűnt a magyarországi forgalomból, a PCR maradt, összehasonlító vizsgálatok nélkül!

Lee H és munkatársai új gyorsesztesztet fejlesztettek ki férfiak *C. trachomatis* fertőzésének kimutatására vizelet mintából. 1211 mintából PCR módszerrel 109, a gyorseszteszttel 90 esetben mutatták ki a kórokozót. Az új teszt érzékenysége 82,6%-osnak, specifikitása 98,5 %-osnak bizonyult, melynek bevezetését támogatom (11-14).

A lymphogranuloma venereum betegséget a *C. trachomatis* L1, L2 és L3 szerovariánsai okozzák. A betegség napjainkban Afrika, Ázsia és Latin Amerika szubtrópusi és trópusi országaiban fordul elő. Korábban Európában sporadikus előfordulását írták le, azonban Hollandiában, 2003-ban homoszexuálisok körében járvány alakult ki. A járvány lassú terjedése, a fertőzés korai felismerése, a venerológusok, epidemiológusok és páciensek példászerű együttműködése miatt 2005 végére lezárult; alacsony fertőzési számmal. 2004-ben Belgium, Franciaország, Németország, 2005-ben Nagybritannia és USA, 2006-ban Svédország, Svájc, 2006-ban Ausztria, 2007-ben Ausztrália lakosai között is előfordultak megbetegedések. Christerson és munkatársai 77 mintát vizsgáltak meg, melyek közül 50 Európából származott. Multilocus szekvencia típus meghatározással 6 klaszterbe voltak besorolhatóak a minták (15-17).

A *C. trachomatis* fertőzések okozhatnak perzisztenciát és hosszantartó (1 év) infekciót, kialakulásának folyamatára vannak hipotézisek. A perzisztencia bizonyított, ha *in vivo*, RNS, DNS és aberráns retikuláris test kimutatható, ugyanakkor a minta, tenyésztéssel negatívnak bizonyul. Koinfekciók más szexuális úton terjedő betegségekkel (STD-k), mint *Treponema pallidum*, *Neisseria gonorrhoeae* és azok kezelése terápiás kudarchoz vezethetnek a *C. trachomatis*-ra nézve. A penicillinkezelés perzisztenciát triggerelhet. *In vivo* és *in vitro* előzetes penicillinkezelés fenotípusos azithromycin (AZT) rezisztenciához vezethet. Az erythromycin blokkolhatja az elemi testek és retikuláris testek differenciálódását (18).

C. trachomatis és antibiotikum rezisztencia: Az empirikus antibiotikum kezelés revíziója évek óta foglalkoztatja mindazokat a kutatókat, akik az antibiotikum rezisztancia, a reinfekciók és perzisztens infekciók kérdésével, kutatásával foglalkoznak. Az antibiotikum kezelési stratégiák újraértékelése, és a nem költség hatékony empirikus gyakorlat lezárása a cél (19). Ezidáig öt heterotípusos (fenotípusos) rezisztenciát írtak le, melyek terápiás kudarc következményeként kerültek felismerésre. Human *C. trachomatis* törzsekben eddig nem mutattak ki stabil tetraciklin rezisztenciát. Európában és Amerikában, pl. sertések *Chlamydia suis* fertőzése esetén nem ritka a tetraciklin rezisztencia. A *tet(C)* allel átvitele genomikus szigettel történhet. Kísérleti körülmények között, különböző fajok chlamydiáit együtt tenyésztve rezisztens recombínás klónokat hoztak létre, demonstrálva ezzel a tetracycline rezisztencia akvirálásának lehetőségét (20).

Irodalom

1. [Everett KD](#), [Bush RM](#), [Andersen AA](#): Emended description of the order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. [Int J Syst Bacteriol](#). 1999. 49. 2:415-40.
2. Stephens RS, Myers G, Eppinger M, Bavoil PM.: [Divergence without difference: phylogenetics and taxonomy of Chlamydia resolved](#). FEMS Immunol Med Microbiol. 2009. 55(2):115-9.
3. Dean D, Bruno WJ, Wan R, Gomes JP, Devignot S, Mehari T, de Vries HJ, Morré SA, Myers G, Read TD, Spratt: BG: [Predicting phenotype and emerging strains among Chlamydia trachomatis infections](#). Emerg Infect Dis. 2009. 15(9):1385-94.

4. Dean D, Oudens E, Bolan G, Padian N, Schachter J: [Major outer membrane protein variants of *Chlamydia trachomatis* are associated with severe upper genital tract infections and histopathology in San Francisco.](#) J Infect Dis. 1995. 172(4):1013-22.
5. Byrne GI: [*Chlamydia trachomatis* strains and virulence: rethinking links to infection prevalence and disease severity.](#) Byrne GI. J Infect Dis. 2010. 201. S2 126-33.
6. West S: Trachoma: Prospects for elimination by 2020, Dana Center for preventive Ophthalmology, Wilmer Eye Institute John Hopkins University, Baltimore? MD, USA
7. Trachoma control: a guide for programme managers. WHO, 2006. 1-53. ISBN 92 4 154690 5.
8. Ripa T, Nilsson P: A variant of *Chlamydia trachomatis* with deletion in cryptic plasmid: implications for use of PCR diagnostic tests. Eurosurveillance, 2006. 11(11):E061109.2.
9. Gaydos CA, Barnes M, Aumakhan B, Quinn N, Wright C, Agreda P, Whittle P, Hogan T: [*Chlamydia trachomatis* age-specific prevalence in women who used an internet-based self-screening program compared to women who were screened in family planning clinics.](#) Sex Transm Dis. 2011. 38(2):74-8.
10. Novak DP, Karlsson RB: [Simplifying chlamydia testing: an innovative *Chlamydia trachomatis* testing approach using the internet and a home sampling strategy: population based study.](#) Sex Transm Infect. 2006. 82(2):142-7.
11. Karimi O, Catsburg A, de Vries HJC, Fennema HSA, Ouburg S, van Agtmael MA, Savelkoul PHM, Morré SA: Epidemiology, diagnostics and treatment of urogenital *Chlamydia trachomatis* infections Tijdschrift voor Infectieziekten 2010. 5. 208-17.
12. Endrődi T, Pácz I, Horváth Zs L, Dékány Gy: Comparison of the Sumatest *Chlamydia trachomatis* rapid test device with PCR chlamydia testing, Nőgyógyászati Onkológia 2005. 10. 71-4.
13. Schachter J: Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection In: Chlamydial Infections. Proceedings of the 12th International Symposium on Human Chlamydial Infections, Eds.: Stary A, Byrne GI, Caldwell H, Chernesky M, Clarke IN, Mabey DC, Paavonen J, Saikku P, Schachter J, Starnbach M, Stephens RS, Timms P, Wyrick PB: Publisher: International Chlamydia Symposium, San Francisco, USA, ISBN 0-9664383-3-7, pp203-212, 2010.
14. [Nadala EC, Goh BT, Magbanua JP, Barber P, Swain A, Alexander S, Laitila V, Michel CE, Mahilum-Tapay L, Ushiro-Lumb I, Ison C, Lee](#)

- [HH](#): Performance evaluation of a new rapid urine test for chlamydia in men: prospective cohort study, *British Medical Journal* 2009. 339: b2655.
15. Götz H et al Preliminary report of an outbreak of lymphogranuloma venereum in homosexual men in The Netherlands, with implications for other countries in Western Europe. *Eurosurveillance Weekly*. 2004. 1(4) 04 01 22.
16. van de Laar MJW. et al A slow epidemic of LGV in the Netherlands in 2004 and 2005. *Euro Surveill*. 2006. 9. 150-152.
17. Christerson L, HJC de Vries, B de Barbeyrac, ChA Gaydos, B Henrich, S Hoffmann, J Schachter, J Thorvaldsen, M Vall-Mayans, M Klint, B Herrmann, SA Morré: Typing of Lymphogranuloma Venereum *Chlamydia trachomatis* Strains. *Emerging Infectious Diseases* 2010. 16(11):1777-9.
18. Sandoz KM, Rockey DD: Antibiotic resistance in *Chlamydiae*, *Future Microbiol* 2010. 5. 1427-42.
19. [Dean D](#): *Chlamydia trachomatis* today: treatment, detection, immunogenetics and the need for a greater global understanding of chlamydial disease pathogenesis. [Drugs Today \(Barc\)](#). 2009. 45. Suppl. B:25-31.
20. Suchland RJ, KM Sandoz, BM Jeffrey, WE Stamm, DD Rockey: Horizontal Transfer of Tetracycline Resistance among *Chlamydia* spp. *In Vitro, Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2009. 53. 4604–4611.

Bakteriális STI - járványügyi referencia tevékenység, illetve laboratóriumi diagnosztikus irányelvek 2011-ben

Balla Eszter

Szervezeti háttér és célok: 2009. januárjától az ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) irányítása alatt működésbe lépett a European STI Surveillance Network, melyet tagországokként egy-egy STI területen dolgozó epidemiológus (dr. Dudás Mária - OEK, Járványügyi Főosztály) és mikrobiológus (dr. Balla Eszter - OEK, II. Bakteriológiai osztály) képvisel. A bakteriális STI vonatkozásában az epidemiológiai/laboratóriumi surveillance fejlesztése az alábbi három kórokozóra összpontosul:

- *Neisseria gonorrhoeae* - izolátumok gyűjtése, antibiotikum-rezisztencia meghatározása;
- *Chlamydia trachomatis*(D-K), illetve az MSM (homo-, biszexuális férfi) populációban járványos formában jelentkező LGV (lymphogranuloma venereum) infekciókért felelős L1-L3 szerotípusok;
- valamint *Treponema pallidum*, - különös tekintettel a congenitális fertőzésekre.

1. táblázat A járványügyi helyzetet jellemző mutatók az Európai Unióban, 2009(ECDC, 2011)

A járványügyi helyzetet jellemző mutatók az Európai Unióban, 2009	<i>N. gonorrhoeae</i>	<i>C. trachomatis</i>	<i>T. pallidum</i>
Eset /100 000 fő	9,7	185	4,5
Trend 2006-2009	9%↓	42%↑	5%↓
Férfi/nő arány	2,6	0,7	3,1
Fiatalok (15-24 évesek) aránya	44%	75%	17%
MSM aránya	24%	4%	51%

Az ECDC adatai az uniós országok surveillance-jelentésein alapulnak, és összesített eredményeket tartalmaznak. A heterogén surveillance-rendszerek miatta prevalencia adatok és a trendek interpretálása nem egyszerű feladat, ám bizonyos következtetésekre mégis módot nyújt. Ezek az információk részletesen az egyes kórokozóknál szerepelnek.

1.) *Neisseria gonorrhoeae*:

A klasszikus STI kórokozók körében a *Neisseria gonorrhoeae* előfordulási gyakorisága mind genitális, mind extragenitális vonatkozásban világszerte emelkedő tendenciát mutat. (CDC, 2010). Az 1. táblázatban szereplő, enyhén csökkenő, összesített európai uniós trend háttérében heterogén adatok állnak, mivel 14 országban emelkedett, 14 országban pedig csökkent a bejelentett gonorrhoea esetek száma. Mivel nincs egységes szűrési protokoll és a diagnosztikus tesztek érzékenysége is széles határok között mozoghat, a tényleges esetszám a táblázatban feltüntetett adatnál jóval magasabb lehet. A nemek megoszlása a férfi fertőzöttek túlsúlyát mutatja, míg a fiatalok körében jelentkezik az infekciók közel fele.

A korábban elterjedt nukleinsav-amplifikáló tesztekkel ellentétben jelenleg a tenyésztés az ajánlott laboratóriumi diagnosztikus módszer, mivel ez az egyetlen olyan eljárás, mely egyúttal antibiotikum-rezisztenciaadatokat is szolgáltat. A *N. gonorrhoeae* fertőzések empirikus kezelését ugyanis a terápiára használt antibiotikumok fokozatosan beszűkülő spektruma nehezíti meg. Az izolált törzsek között világszerte egyre magasabb számban észlelnek egy vagy több, korábban hatásos antibiotikummal szembeni rezisztenciát, ami aggasztó jövőképet vetít előre.

Az Európai Gonococcus Antimikrobiális Rezisztencia Sentinel Surveillance Program (EURO-GASP) 2010-es összegzett adatai Európai Unió-szerte magas ciprofloxacín-, és azithromycin-rezisztenciára utalnak, (a tetracyclin az utoljára 2009-ben detektált, magas arányú rezisztencia miatt már kikerült a vizsgált szerek köréből). A valaha bázisszernek számító penicillinre a törzsek minimum 12%-a rezisztensnek bizonyult, míg cefiximre az izolátumok 8%-a már csökkent érzékenységet mutatott. Ugyancsak szoros monitorozást tesz szükségessé, hogy fentiekén túl már multirezisztens izolátumok felbukkanásáról is beszámoltak. 2011-ben japán kutatók közleményében szerepelt az első igazoltan ceftriaxon-rezisztens izolátum, mely a szokványos gonorrhoea-ellenes szerek közül csak azithromycinre és spectinomycinre mutatott érzékenységet (Ohnishi, M et al, 2011). Ezt a hírhedtté vált, H041-es törzset számos közleményben és előadásban méltán illetik a „superbug of the year” elnevezéssel. Európában egyelőre a cefixim-rezisztens törzsek (ST1407) felbukkanása ad okot aggodalomra, melyet 2010-2011-ben Norvégiában, az Egyesült Királyságban, és legutóbb Ausztriában izoláltak (Unemo, M et al, 2011).

Fentiek ismeretében jelenleg csupán a cefixim és a ceftriaxon maradtak a gonorrhoea empirikus terápiájára javasolt antibiotikumok szűkös listáján, míg a legújabb CDC ajánlás a jobb hatékonyság érdekében e cefalosporinokat már kombinált formában (azithromycinnel vagy doxycyclinnel kiegészítve) javasolja a nem komplikált fertőzések kezelésére (CDC, 2010).

Laboratóriumunk évek óta részt vesz a londoni Health Protection Agency (HPA) által szervezett szakmai továbbképzéseken, megbeszéléseken és a nemzetközi *Neisseria gonorrhoeae* (UK NEQAS) körvizsgálatokban. A hazai gonorrhoea surveillance fejlesztésében óriási előrelépést jelentett, hogy Magyarország csatlakozott az ECDC STI-HIV által koordinált európai hálózathoz, és 2010. novemberétől az EURO-GASP rezisztencia-monitorozó és törzsgyűjtő rendszerének is tagjai vagyunk. A surveillance klinikai pillérét képező BNG hálózat fővárosi intézményei mintegy két éve mintákat küldenek be az epidemiológiai célokat is szolgáló tenyésztéses vizsgálatokhoz, így az OEK-kel történő együttműködésük hozzájárul a hazai rezisztencia-adatok feltérképezéséhez. Nyilvánvaló, hogy ezen a területen további sürgető fejlesztésekre van szükség, és célunk, hogy ezt a surveillance tevékenységet az ország egész területére mielőbb kiterjesszessük.

2.) *Chlamydia trachomatis*

Az európai uniós adatokból is kitűnik, hogy a *C. trachomatis* (D-K szerotípusok) okozta fertőzés jelenleg a leggyakoribb bakteriális STI-nek számít, míg a tünetmentes infekciók miatt a diagnosztizálatlan esetek valószínűleg jelentősen tovább emelik a tényleges esetszámot. A *C. trachomatis* fertőzést gyakrabban diagnosztizálják nőknél, mint férfiakon. Aggasztó tény, hogy a bejelentett esetek háromnegyede a legfiatalabb szexuálisan aktív korosztályra vonatkozik.

Az utóbbi években a fertőzések Európa-szerte emelkedő tendenciát mutattak, bár ennek hátterében nem csupán az esetszám tényleges növekedése, hanem az érzékenyebb vizsgálóeljárásoknak köszönhető, magasabb felderítési arány is állhat. A 90-es években a nukleinsav-amplifikáló eljárások bevezetésével jelentősen javult a diagnosztikus hatékonyság, és ennél a kórokozónál jelenleg is a PCR-technika a laboratóriumi diagnosztika „gold standard” eljárása.

A surveillance területén kiemelkedően fontos lenne a fiatal, veszélyeztetett korosztály szűrésének megvalósítása, illetve a CDC ajánlásainak betartása a terhesszűrés területén. Amennyiben a terhesgondozás során hazánkban is kötelezően elvégeznék legalább egyszer, - rizikótényezők fennállása esetén pedig minimum kétszer (a 3. trimeszterben megismételve) - a *C. trachomatis* vizsgálatot, úgy a maternalis szövődmények mellett (kóros kimenetelű terhesség, szekunder meddőség, postpartum endometritis stb.) a fetalis/neonatalis komplikációk (conjunctivitis, pneumonia, stb) is megelőzhetőek lennének (Balla és Petrovay, 2012).

A *C. trachomatis* (L1-L3 szerotípusok) fertőzések a homoszexuális férfi populációban járványos formában észlelt LGV megbetegedések kapcsán

kerültek az uniós surveillance célkeresztjébe. Ez a kórkép elsősorban tünetes proctitis formájában jelentkezik, és laboratóriumi diagnosztikája közvetlen kórokozó-kimutatási technikákat igényel. Laboratóriumunkban már rendelkezésre állnak azok a genotipizáló (PCR-RFLP alapú) módszerek, melyek LGV gyanús megbetegedésekben a definitív diagnózis alapjául szolgálnak (Petrovay et al, 2009). Hazai esetet mindeztáig még nem sikerült kiszűrni, bár ebbe az irányba már történtek célzott vizsgálatok.

3.) *Treponema pallidum*

A *T. pallidum* fertőzést közel háromszor gyakrabban diagnosztizálják férfiakon, mint nőknél, míg az esetek közel egyötöde a fiatal korcsoportot érinti. Az ECDC adatai szerint a szifilisz megbetegedések száma összesítve enyhén csökkenő trendet mutat. Országokra lebontva ez részint tényleges esetszám-csökkenést, illetve stagnálást jelez (hazánk is idetartozik), részint olyan országok magas prevalencia adataira utal, ahol az 1999-ig tartó csökkenő trendet követően radikális esetszám-emelkedést észleltek. Ezt a növekvő tendenciát nem csupán a diagnosztikus-, illetve járványügyi tevékenység javulása eredményezte, hanem bizonyítottan a megváltozott szexuális szokások is, ui. az antiretrovirális szerek elterjedésével párhuzamosan, elsősorban a homoszexuális férfiak körében nőtt meg ugrásszerűen a szifilisz esetek száma. Jelenleg már a bejelentett esetek fele a homoszexuális férfiak köréből kerül ki, sőt, Nyugat-Európában a rizikócsoport tagjai között halmozódásokat is észlelnek (Simms et al, 2005).

A laboratóriumi surveillance vonatkozásában hangsúlyozni kell, hogy a szifilisz szerológiai diagnosztikája terén nincs olyan optimális, magas specifitású teszt, mely önállóan alkalmazható lenne, ezért mindig a kombinált (reagin típusú + specifikus) vizsgálómódszerek alkalmazása javasolt (Várkonyi és Balla, 2009). A tesztek mindig a vizsgált populáció luesz-prevalenciájához kell igazítani. Laboratóriumunk a szerológiai vizsgálati lehetőségek (titrált reagin-tesztek, rekombináns ELISA, western blot) mellett 2008. óta közvetlen kimutatási eljárást (nested *T. pallidum* PCR) is alkalmaz a szifilisz diagnosztikájában (Petrovay et al, 2008).

A diagnosztizálatlan, kezeletlen szifilisz legsúlyosabb szövődményei a vertikális átvitelrel fertőződő magzatokat érinthetik, mely globálisan is jelentős közegészségügyi problémát vet fel. A prevenció egyik eszköze, ha a magas prevalenciájú terhespopulációban a 3. trimeszter elején megismétlik a szifiliszre irányuló szűrővizsgálatot. A kórkép infektológiai-epidemiológiai jelentőségéből adódóan az Európai Unió surveillance-rendszere is kiemelt helyen foglalkozik a connatalis lueszel. Ennek kapcsán az ECDC megfogalmazta a connatalis luesz valószínűsített és megerősített eseteinek diagnosztikus kritériumait, melyek az

uniós esetdefiníció részét képezik. Magyarországon elsősorban a gondozatlan terhességek, valamint az alacsony érzékenységű/specifitású szifilisztesztek, illetve a tévesen interpretált eredmények miatt elmaradt maternalis kezelés növelheti a connatalis luesz kockázatát.

A leginkább érintett rizikócsoporthoz szeroprevalenciájának felmérése érdekében három alkalommal vettünk részt az MSM populációban végzett, az OEK Járványügyi osztálya által koordinált vizsgálatokban (adatok publikálása folyamatban).

Összefoglalás

A fertőző megbetegedések a bakteriális STI területén a XXI. században is egyre újabb problémákkal szembesítik a klinikusokat, mikrobiológusokat és epidemiológusokat. A diagnosztikus és terápiás nehézségek miatt átfogó prevenció intézkedésekre lenne szükség, ezen belül is a felvilágosításra, a megelőzésre, a szűrővizsgálatokra, valamint a hazai STI surveillance további fejlesztésére kellene helyezni a hangsúlyt.

Irodalomjegyzék:

1. Balla E, Petrovay F (2012). *Chlamydia trachomatis* infections in neonates, in *Chlamydia* (2012), Ed. Mares, M, INTECH, ISBN 978-953-308-64-8
2. Centres for Disease Control and Prevention (2010). Sexually Transmitted Disease Surveillance, 2010.
3. Centres for Disease Control and Prevention (2010). Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010. MMWR Vol. 59: RR12
4. European Centre for Disease Prevention and Control (2011). Sexually transmitted infections in Europe, 1990-2009. Stockholm: ECDC
5. Ohnishi M et al (2011). Ceftriaxone-Resistant *Neisseria gonorrhoeae*, Japan. *Emerg Infect Dis.* 2011 January; 17(1): 148–149.
6. Petrovay F et al (2008): *Treponema pallidum* nested PCR gyakorlati jelentősége a szifilisz-diagnosztikában. *STD és Genitális Infektológia* 2008. II.(4)
7. Petrovay F et al. (2009). Genotyping of *Chlamydia trachomatis* from the endocervical specimens of high-risk women in Hungary. *Journal of Medical Microbiology*, Vol. 58, No. 6, pp. 760-764
8. Simms I et al (2005) The re-emergence of syphilis in the United Kingdom: the new epidemic phases. [Sex Transm Dis.](#) 32(4):220-6
9. Unemo M et al (2011) First *Neisseria gonorrhoeae* strain with resistance to cefixime causing gonorrhoea treatment failure in Austria, 2011. *Euro Surveill.* 2011;16(43)
10. Várkonyi V, Balla E (2009): Szifilisz szerodiagnosztika, hagyományos és új vizsgálómódszereink helye a nemzetközi gyakorlat alapján. *STD és Genitális Infektológia* 2009. III.(1):3-9

Az Orvosi Baktériumok Magyar Nemzeti Gyűjteménye (HNCMB)¹

Szabó Zsuzsa, Kurunczi Miklósné

Az Orvosi Baktériumok Magyar Nemzeti Gyűjteménye (továbbiakban Törzsközpont) alapításának éve hivatalosan 1962, de az Országos Közegészségügyi Intézet Bakteriológiai osztálya a Törzsközpontot már 1961-ben átvette az Oltóanyag ellenőrző osztálytól, így a fejlesztésével és fenntartásával járó munka pontosan 50 éve képezi az osztály feladatát. A Törzsközpont felügyelete és nemzetközi rangra emelése több mint 35 éven keresztül szorosan kapcsolódott Dr. Lányi Béla tevékenységéhez.

A törzsgyűjtemények a biológiai erőforrások, továbbá a múzeumokkal, herbáriumokkal és könyvtárakkal együtt a tudományos infrastruktúra részét is képezik, éppen ezért gondozásuk fontos feladat. A mikrobiológiai alap- és alkalmazott kutatások, a rendszertani tanulmányok nagymértékben függenek a megfelelő referencia anyag hozzáférhetőségétől. A mikrobiológia területén a törzsgyűjtemények hozzájárulnak a biodiverzitás ex situ megőrzéséhez és a törzsek fenntartásával a gyűjtemények mintegy kapocsként szolgálnak a múlthoz, hiszen lehetőséget teremtenek a szakemberek számára, hogy változatlan formában férjenek hozzá azokhoz a törzsekhez, melyekre a korábbi közleményekben hivatkoztak. A patogén mikroorganizmusok hosszútávra történő megőrzésének szükségessége ciklikus előfordulásuk miatt is nagy jelentőségű. Az újonnan leírt fajok képviselőinek megőrzése azoknak a szakembereknek fontos, akik majd a jövőben kívánják vizsgálni ezeket. Új faj és egy faj új alfajának vagy új (szero)típusának leírásával párhuzamosan követelmény az adott mikroorganizmus törzsének valamely nemzetközileg elismert törzsgyűjteménybe való elhelyezése. Bár a rendszertani közleményekben leírt új fajok egy-egy törzsét ma már két különböző ország törzsgyűjteményében is szükséges letétbe helyezni, az adott országban izolált törzsek nemzeti gyűjteménybe való elhelyezésének biztosítása alapvető feladat. Ezen túlmenően ma már a minőségbiztosítás fontos eleme a különböző tevékenységet végző mikrobiológiai laboratóriumok számára a megfelelő kontroll referencia törzsekhez való hozzáférés.

A törzsgyűjtemény tulajdonképpen egy speciális mikrobiológiai laboratóriumnak felel meg, ahol a különböző rendszertani pozíciójú törzsek

¹ A közlemény a 2011.04.19-én, Dr. Lányi Béla tiszteletére rendezett Tudományos napon elhangzott előadás alapján készült.

hagyományos tenyésztésére, jellemzésére, rendszertani azonosítására és hosszútávra történő tartósítására vonatkozóan speciális ismeretekkel rendelkező szakemberek dolgoznak. A szakszerűen végzett tartósítási eljárások megakadályozzák a hagyományos törzsfenntartási munkálatok alatt könnyen bekövetkező genetikai változásokat. Ezen kívül a törzsgyűjteményeknek a törzsek és azok adatainak nyilvántartására és kezelésére, az időközönként szükséges (pl. rendszertani) átvizsgálásokra vonatkozóan megfelelő dokumentációval kell rendelkeznie.

A törzsgyűjtemények alapvető feladatai tehát:

- a különböző tulajdonságú és rendszertani besorolású törzsek és azok adatainak gyűjtése,
- a mikroorganizmusok törzseinek szakszerű, hosszútávra történő fenntartása és
- törzsek szolgáltatása a különböző mikrobiológiai laboratóriumok számára.

A törzsgyűjteményi feladatokhoz tartozik még, a törzsek adatainak naprakész nyilvántartása, amelyben szerepelnie kell a rendelkezésre álló adatok időközönkénti átvizsgálása során nyert friss információknak. Közforgalmú gyűjtemény esetén a törzsek alapvető adataihoz hozzáférést kell biztosítani. Ezen kívül a gyűjtemények gondozóinak biztonságos tárolási körülményeket kell teremteniük a korlátozottan hozzáférhető (pl. szabadalmi, veszélyes kórokozó) törzsek számára.

A fenntarthatósága érdekében minden törzsgyűjteményi laboratóriumnak szükséges rendelkeznie az alábbiakkal:

- jól karbantartott és validált berendezések a
 - tartósítási eljárásokhoz és
 - ellenőrző vizsgálatokhoz,
- megfelelően kialakított helyiségek a
 - berendezésekhez és a
 - törzsek tárolásához,
- jól képzett és megfelelő létszámú személyzet.

Az Országos Közegészségügyi Intézet illetve az Országos Epidemiológiai Központ működését bemutató évkönyvekben található adatok alapján jól nyomon követhető, hogy a Törzsközpontban az elmúlt ötven év folyamán hogyan valósítottuk meg ezeket a feladatokat.

Törzsállomány

A Törzsközpontban főleg klinikai jelentőségű baktériumok fenntartását és kezelését végezzük.

A gyűjtemény alapját az Oltóanyag ellenőrző osztálytól 1961-ben átvett 509 típustörzs (közülük 303-at Dr. Rauss Károly tenyésztett ki vagy szerzett be) és

az a 692 – az *Enterobacteriaceae* család képviselői közé tartozó – törzs képezte, amely a Bakteriológiai osztály régi törzsgyűjteményéből származott.

A törzsek jelölésére a genusokat jellemző kulcsszám és az egyes törzsekhez tartozó sorszám alkalmazását vezették be.

A törzsek 1962. évben végzett felülvizsgálata után további 527 típus-törzset szereztek be és így a Törzsközpont törzseinek száma 1728-ra emelkedett. A Törzsközponti törzsek száma az ezt követő években rohamosan nőtt. A törzsállomány gyarapodását az 1. táblázat mutatja be.

1.táblázat: A Törzsközpont törzsállományának gyarapodása

Év	Törzsállomány	Gyarapodás	Gyarapodás %-ban
1962	1728		
1972	2827	1099	63.6
1982	3206	379	13.4
1992	3335	29	0.9
2002	3558	223	6.7
2010	3987	429	12.1

1963-ban 110, az *Enterobacteriaceae* családba sorolható típus-törzset szereztek be, 1966-ban pedig 626 törzs – köztük 542 különböző szerotípusba tartozó *Pseudomonas aeruginosa*, 36 *Streptococcus*, továbbá 25 *Bacillus* típus-törzs – érkezett. 1974-ben 51 *Hafnia alvei* törzs, 1976-ban pedig ritka előfordulású kórokozók – pl. *Aerococcus viridans*, *Cardiobacterium hominis*, *Corynebacterium* spp., *Edwardsiella tarda*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Moraxella lacunata* – beszerzése történt. 1977-ben újabb fakultatív kórokozó baktériumok pl. *Actinobacillus* és *Chromobacterium* spp., *Comamonas terrigena*, *Gemella hemolysans* törzsek kerültek a gyűjteménybe. A 80-as, 90-es évektől a táptalaj ellenőrzések és az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok nemzetközileg is elfogadott kontroll törzseinek a beszerzése volt a legfontosabb feladat, az ezekre a célokra házilag rendszeresített törzsek adatainak rögzítése és tartósítása mellett. 2005 után viszont az akkreditált vizsgálatokhoz nemzetközileg előírt kontroll törzsek számának növelése került leginkább előtérbe.

A Törzsközpont törzsei igen sok helyről származnak. Az OKI/OEK osztályain izolált klinikai eredetű törzseken kívül számtalan más hazai, közegészségügyi és kórházi laboratórium küldött törzseket a gyűjtemény számára. A kiterjedt nemzetközi kapcsolatok sok ismert külföldi törzsgyűjteményből és egészségügyi intézményből származó törzs beszerzését eredményezték. Törzsek érkeztek többek között az American Type Culture Collection (ATCC), a Czech Collection of Microorganisms (CCM), a német Deutsche Sammlung von

Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ), az angol National Collection of Industrial Bacteria (NCIB) és National Collection of Type Cultures (NCTC) gyűjteményekből, továbbá – a teljesség igénye nélkül – számos rangos külföldi intézetből, pl. Institute of Clinical Bacteriology (Lund University, Malmö), Institute of Hygiene and Epidemiology (Prága), Institut Pasteur (Párizs), Public Health Laboratory Service (PHLS, London), State Serum Institute (SSI, Koppenhága).

Törzsgyűjteményünket 1970-ben az International Association of Microbiological Societies „Culture Collections” szekciója 258. sorszámmal és Hungarian National Collection of Medical Bacteria (HNCMB) néven sorolta be a katalógusába. 1972-ben elkészült a World Data Center for Microorganisms (WDCM) törzsgyűjteményeket áttekintő összefoglalója és ebben az 1970-es, 2626 törzsre tehető törzsállománnyal a Törzsközpont a 38. helyen szerepelt, 349 gyűjtemény között (1). Itt jegyezzük meg, hogy a WDCM 2010. évig 573 gyűjteményt regisztrált (2). A Törzsközpontban jelenleg 4000-nél több törzset tartunk fenn, ezeknek a hosszútávra történő tartósítását, a gyűjteménybe való elhelyezését 2011-ben is folyamatosan végezzük. A Törzsközponti munkát 2006 óta az ún. leszármazott tételek rendszere (seed lot system) szerint hajtjuk végre, a passzálások számát a minimálisra korlátozva a fenntartás eljárásai közben. Mivel az *Escherichia coli* esetén 400-nál is több, a számos szerotípust képviselő *Salmonella* és *Shigella* fajok képviselőinek pedig közel 400 ill. 150 törzsével rendelkezünk, enterális eredetű törzsek viszonylatában – legalábbis más európai gyűjteményekkel összehasonlítva – a Törzsközpont törzsállománya egyedülálló.

Törzsfenntartás és minőségellenőrzés

A tartósítási eljárásokkal szembeni legfontosabb követelmények:

- a tartósított tenyészet megfelelően nagy frakciójának életképessége,
- a genetikai stabilitás és
- a szennyeződésektől való mentesség.

A hosszú távú tartósításra alkalmazott legelterjedtebb módszerek a liofilizálás és a fagyasztás. A nagyobb gyűjteményekben a liofilizálás a leginkább alkalmazott módszer, mivel a liofilizált anyag – vákuum alatt – az ampullákban könnyen tárolható és szállítható. A liofilezés vagy fagyasztva szárítás olyan folyamatok sorozata, amely az anyagcserét gyakorlatilag teljesen leállítja, ugyanakkor az életképességre csak minimálisan hat. Így, a megfelelő tárolási körülmények között, egy hosszú – számos baktérium esetén ma még ismeretlen – időre biztosítja a túlélést. Az NCTC – abból az alkalomból, hogy idén 90 éves a törzsgyűjteményük – közölte, hogy az 50-es években megkezdett liofilizálással tartósított legtöbb tenyészet 55 év után sem mutatta az életképesség csökkenését (3). A liofilizálás esetén a legjobb túlélést biztosító vivőanyag alkalmazása igen fontos feltétel. Az OEK Törzsközpontjában 1962-től

alkalmazzuk a liofilizálást a törzsek tartósítására és ez év elejétől folytak kísérletek a legmegfelelőbb vivőanyag kidolgozására. 1963-ban a liofilizáláshoz egy cisztein-inozit-nyúlsavó vivőanyagot fejlesztettek ki a Törzsközpont akkori szakemberei, amely a legkülönbözőbb baktériumtípusok esetén biztosítja a hosszú távú túlélést. Az ebben az időszakban liofilizált készítmények életképessége – saját tapasztalataink szerint – közel 50 év után sem csökkent. Az érzékeny baktériumok esetén a liofilezés után az életképesség némi csökkenést mutat és a liofilizált készítmények eltarthatósági ideje is rövidebb. A cisztein-inozit-nyúlsavó vivőanyagot több külföldi törzsgyűjteménynél is alkalmazzák és segítségével érzékeny baktériumok (pl. *Haemophilus influenzae*) több mint 25 évig fenntarthatóak. Az érzékeny baktériumok liofilizálás utáni rövidebb túlélési idejének problémája megoldható az ultra alacsony hőmérsékleteken való tárolással, amelynek alkalmazása esetén a genetikai stabilitás is megfelelőbb. Ezeknek az eljárásoknak azonban jóval nagyobb a költségvonzata, mégis egy gyűjtemény esetén ez is a duplikált tárolás egyik megbízható alternatíváját, továbbá több baktériumfaj esetében az egyedül célravezető tartósítást tudja biztosítani. A fagyasztás történhet akár mechanikai hűtéssel, akár pedig folyékony nitrogén alkalmazásával. 2006 óta, a seed lot rendszer bevezetésével párhuzamosan, a Törzsközpontban a liofilizálás mellett mind a két fagyasztási eljárást alkalmazzuk.

A törzsgyűjtemény laboratóriumának a tartósítási eljárások eredményeként keletkezett tenyészetek ellenőrzése igen fontos feladata.

Minőségellenőrzést szükséges végrehajtani

- minden új törzs átvétele után,
- az első sarzs (anyatenyészet”) tartósítása alkalmával,
- minden további sarzs (készletnövelés) tartósítása után.

Az ellenőrző vizsgálatoknak ki kell terjednie a következő tulajdonságok vizsgálatára:

- életképesség (megfelelő tápközegen),
- tisztaság (több tápközegen),
- hosszú távú eltarthatóság (hőkezelés utáni csiraszám-csökkenés alapján értékelhető),
- rendszertani helyzet,
- egyéb, a törzs eredetiségének vizsgálatához nélkülözhetetlen, kiemelt tulajdonságok (pl. szerológiai típus, antibiotikum érzékenységi adatok).

Napjainkban a rendszertani átvizsgálásokat segíti a német (DSMZ) törzsgyűjtemény által készített „naprakész bakteriális nevezéktan” (4), amelyet havonta frissítenek és a több mint 10 éve ugyancsak online elérhető és szintén kb. havonta frissített adatbázissal rendelkező List of Prokaryotic Names with Standing Nomenclature (5).

Termelési adatok

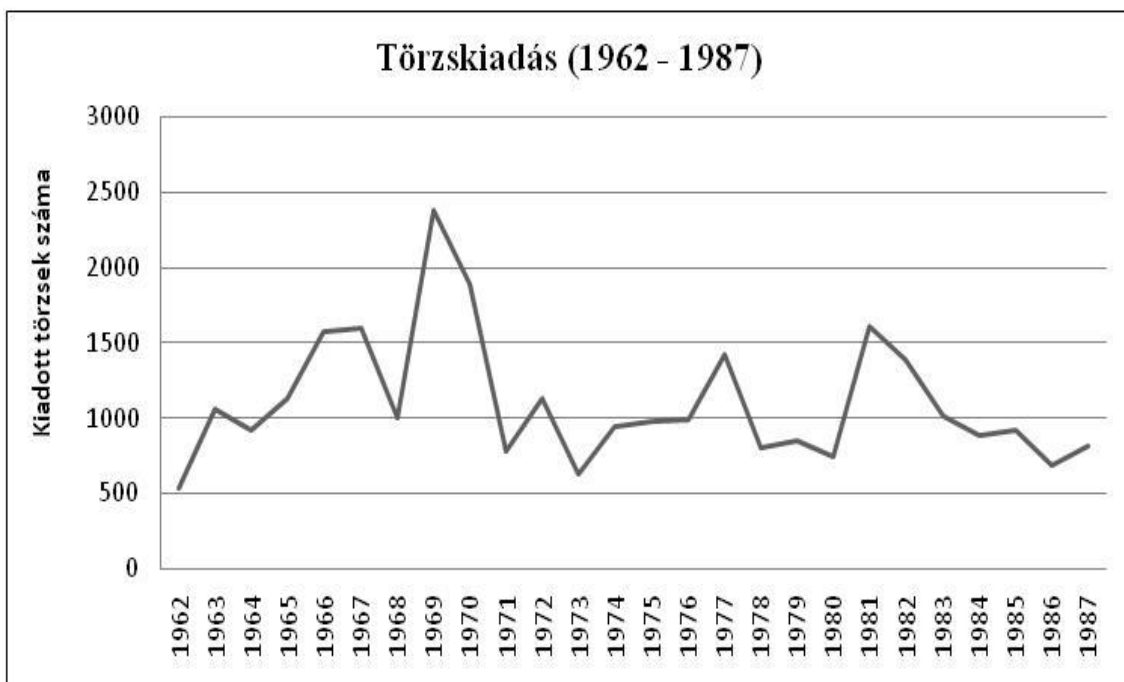
A fenti, kiterjedt vizsgálatok szükségességének ismeretében figyelemreméltó, hogy a Törzsközpontban, a liofilizálási munkálatok eredményeként az évenkénti termelés általában 3-4000 ampulla, azonban a rendelkezésre álló korábbi adatok szerint pl. a 80-as évek elején évi 12-13000 ampullát is liofilizáltak. A termelés természetesen függ a beszerzett törzsek számától, a készletnöveléstől és egyéb feladatok végrehajtásától (pl. szabadalmi törzsek tartósítása vagy más osztályoknak végzett liofilizálás). A körkísérletekhez 1989 óta készülnek liofilizátumok, 2000-ben pl. 55 körkísérletben részt vevő laboratórium számára biztosított a Törzsközpont mintegy 500 ampullát.

Módszertani útmutatók

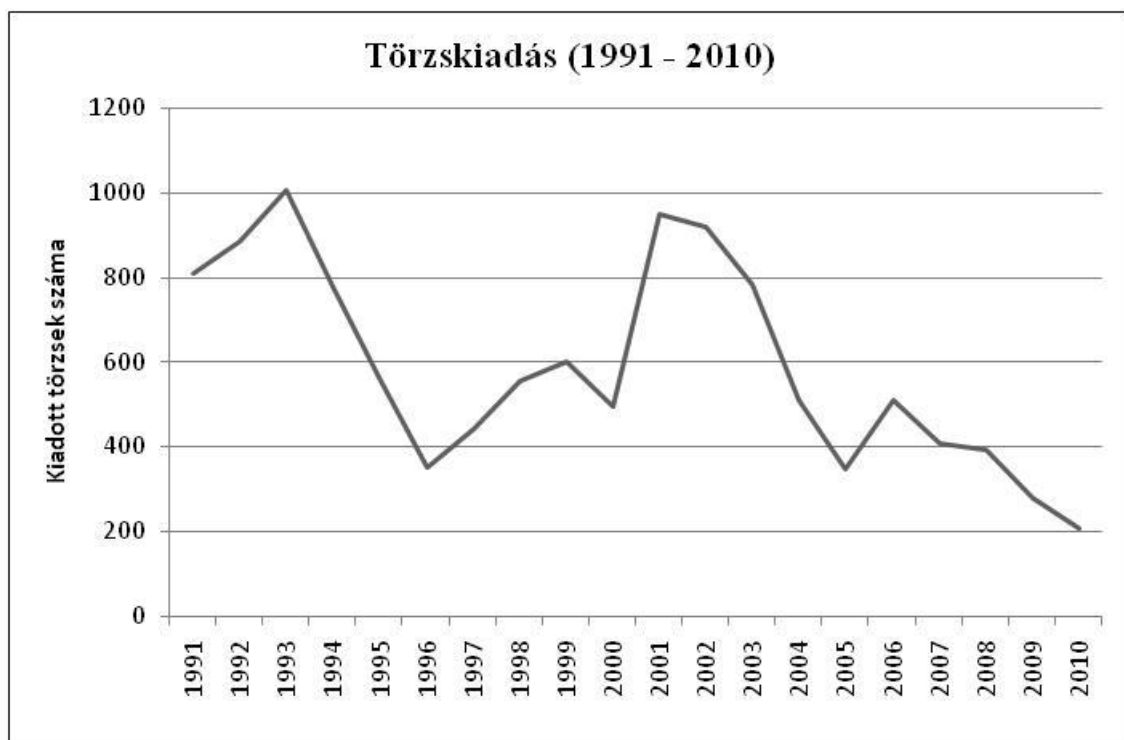
A liofilizátumokat felhasználó laboratóriumoknak a liofilizálásról, a törzsek további fenntartásáról, kezeléséről szóló általános ismeretek nélkülözhetetlenek. A rehidráció, a liofilezett tenyészet kitenyésztése is kritikus lépés, aminek technikájáról fontos információkkal szolgálni. Ezeket az adatokat az 1980-ban megjelent második Módszertani útmutató (6) és az 1999-es Kézikönyv megfelelő fejezete részletezte (7). Említésre méltó, hogy az 1980-ban megjelent Módszertani útmutató törzsfenntartásra vonatkozó fejezetének elkészítését, továbbá a későbbiekben ismertetett és 1978 megjelent második katalógus összeállítását dr. Lányi Béla már Konkoly Thege Marianne-nal együtt végezte, aki egyéb feladatai mellett a Törzsközponti teendők ellátásában is legközvetlenebb munkatársa volt 1971-től, majd a 80-as évektől a legfontosabb felügyeleti funkciókat is átvette és 2001 januárjáig felelt a Törzsgyűjteményért. A fagyasztás lehetőségei, továbbá a kontroll törzsek laboratóriumi fenntartásának egyéb szabályai (pl. megengedhető passzátumok száma), vagyis a minőségbiztosítás napjainkban nélkülözhetetlen elemei szerepelnek egy 2009-ben megjelent közleményben (8).

Törzskiadás

A Törzsközpont elsősorban a közegészségügyi és kórházi laboratóriumokat látta el törzsekkel, de tevékenysége a kutató és oktató intézetekre is kiterjedt. A törzsek 5 – 10 %-át külföldi laboratóriumoknak küldték. Amint azt az 1. és 2. ábra mutatja, a törzskiadás évenkénti adatai gyakran igen különbözőek, nagy a fluktuáció.



1. ábra



2. ábra

Az évkönyvekben közölt információk alapján a törzskiadás kiugróan magas vagy alacsony értékei jól magyarázhatóak.

- 1969-ben a törzskiadás nagymértékű növekedése a tárgyévben megjelent és a KÖJÁL hálózat 21 laboratóriumának szétküldött Módszertani útmutató következménye.
- 1971-ben a KÖJÁL hálózatot a kontroll törzsek gondosabb laboratóriumi fenntartására kérték.
- 1981-ben az új, 1980-ban megjelent Módszertani útmutató megjelenése okozott emelkedést.

1987 és 1991 között ugyan hiányoznak a pontos adatok, de az 1. ábra utolsó és a 2. ábra első törzskiadási adata kb. azonos szinten, 800 körül mozog.

- 1995. év május 1-től a Törzsközpont a törzseket különböző módon megállapított (az ÁNTSZ hálózat részére kedvezőbb) térítés ellenében szolgálta és ez némi csökkenést okozott a törzskiadásban.
- Az 1999. év utáni emelkedés a Kézikönyv megjelenésének köszönhető.
- A 2005. évi mélypont oka lehet, hogy a 20 ÁNTSZ laboratórium helyett mindössze 4 régiós laboratórium maradt a hálózatban.
- A 2006. év után tapasztalt kisebb emelkedést az OEK osztályainak és az ÁNTSZ 4 régiós laboratóriumának akkreditálási előkészületei magyarázzák.

Ezután viszont folyamatos csökkenést tapasztalhattunk, melynek oka lehet, hogy a Törzsközpont nem végez marketingtevékenységet és számos laboratórium inkább a drága és időigényes külföldi beszerzést választja. A jó marketingtevékenységet kifejtő és egyéb termékeket árusító cégek gyakran alkalmaznak árukapcsolást és a neves külföldi törzsgyűjtemények termékeit – a liofilizátumok mellett a könnyen és gyorsan kitenyészthető (pl. vattapálcára felvitt) készítményeket – is terjesztik. Pedig a megfelelő minőségbiztosítási rendszerben működő laboratóriumok számára nagyon fontos a munkatenyészet létesítéséig elvégzett passzátumok száma, amely nem lehet több ötnél. A kontroll törzsek készítményeiből ugyan könnyen nyerhető tenyészet és viszonylag elérhető áron egyszerre több példány is kapható ezekből, de az eredeti törzsnek – a hozzá mellékelt bizonylat szerint – már legalább harmadik passzátumát képviselik. A külföldi gyűjtemények ugyanakkor nem vagy csak újabb külön díj kifizetése után adnak olyan megfeleléségi igazolást, amit a hazai gyűjtemények szolgáltatnak. Minőségi bizonylatot a Törzsközpont az 1990-es évek végétől kérésre már adott ki, 2005. évtől pedig már minden kiadott törzshöz mellékelte a valamennyi fontos információt tartalmazó dokumentumot.

Nyilvántartás, katalógusok

1963-ban a dokumentációs munka jelentékeny részét az első törzskatalógus összeállítása képezte. A katalógus nemzetközi színvonalának emelése érdekében

a törzsek azonosításának az irodalommal való egyeztetését szigorú szempontok érvényesítésével végezték el. A 72 oldalas katalógus 1964-ben, alig 2 éves működés után jelent meg, 1788 törzs felsorolásával és a legfontosabb információkkal a törzsek igénylésére, fenntartására, liofilizátumból történő kitenyésztésükre vonatkozóan (9). Ez a katalógus még a diagnosztikus immunsavókat és baktérium-szuszpenziókat illetve a felhasználásukra vonatkozó szabályokat is tartalmazta. A katalógust valamennyi KÖJÁL állomás bakteriológiai laboratóriuma, az egyetemi mikrobiológiai intézetek, továbbá valamennyi közegészségügyi intézet és néhány érdekelt ipari üzem megkapta, valamint többször elküldték külföldre is.

1970-ben a Törzsközpont az International Association of Microbiological Societies katalógizálási programjában vett részt. Ennek során a nyilvános forgalmú típus és egyéb törzsek szerotípusig terjedő listázását megfelelő bontásban tüntették fel a beérkezett kérdőíveken.

1975 és 1977 között megtörtént a Törzsközpont törzsállományának új rendszer szerinti nyilvántartásba vétele. A World Federation for Culture Collections (WFCC) a törzsek egységes nemzetközi nyilvántartására szolgáló űrlapokat küldött, melyeken minden törzsről 31 adatot kellett szolgáltatni. A kódszámokkal ellátott rovatok lehetővé tették a különböző gyűjteményekben fenntartott törzsek számítógépes nyilvántartását. A házilag sokszorosított űrlapok hátoldalára egy – az eredeti űrlapon nem szereplő – kiegészítő táblázat került, amely a törzsről adott információkat a morfológiai, kulturális és biokémiai tulajdonságok felsorolásával tette teljessé. A törzsek adatainak feldolgozása egyrészt szükségessé tette egyes törzsek nevének megváltoztatását az új nomenklatúra szerint, másrészt azt, hogy bizonyos tenyészeteket, amelyekről az irodalomban időközben közlemények jelentek meg vagy amelyeket ellenőrző célokra felhasználtak, típus-törzsekké minősítsenek. A két példányban kitöltött űrlapokból egyet-egyét a WDCM-be (World Data Center for Microorganisms) küldték.

1978-ban nyomdába került, majd 1979-ben megjelent az új katalógus (10). A nemzetközi szabályoknak megfelelően készített, magyar és angol nyelvű 229 oldalas kiadvány az 1978. év közepéig beszerzett 1818 referencia és 1283 egyéb, összesen 3091 törzs adatait tartalmazta. Az 500 példányban fotoprint eljárással sokszorosított kiadványt 94 hazai és 53 külföldi intézménynek küldték el térítésmentesen. A katalógust ezek a laboratóriumok még ma is haszonnal forgatják, mert bár 1995-ben támogatókat kerestek a katalógus egy újabb kiadásának érdekében, de erre már nem nyílt lehetőség.

2006-ban online katalógus elkészítése érdekében mi is tettünk lépéseket, hiszen a meglévő, időközben számítógépes program segítségével elkészült adatbázis felkerülhetne a honlapra. Anyagi feltételek híján azonban csak annyit tehattünk, hogy az OEK honlapján (<http://www.oek.hu>) a Törzsközponttól a fontosabb általános információkat közöljük, továbbá a kiemelt jelentőségűnek tartott kontroll törzsek listáját a legszükségesebb adataikkal együtt (más törzsgyűjteményi számok, alkalmazási lehetőségek) táblázatokba foglalva ugyancsak feltegyük. A táblázat adatait rendszeresen frissítjük.

Biztonsági raktározás

A korábbi években a Törzsközpont a 4/1969/XII.28/OMFB-IM sz. rendelet és az Egészségügyi Minisztérium 32/1970 sz. utasítása alapján szabadalmi törzseket is megőrzött. Az 1970. év végéig letett 60 törzsből 1971-ben 40 törzs esetén kérték a további megőrzést. Ezek újraliofilizálása és ellenőrzése után rendszeresen érkeztek a további letételezések. 1986-ban már 297 szabadalmi törzs volt letétben. Ekkor a 11/1986/IX. 11./IM. sz. rendelet alapján a liofilezett ampullákat, a törzsek nyilvántartási lapjait és egyéb hozzájuk tartozó ügyiratokat átadták a további megőrzésre jogosult Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményének (NCAIM).

A járványügyi biztonság, a gyors diagnosztikai eljárások kidolgozása érdekében a veszélyes kórokozók fenntartása nélkülözhetetlen. 2006-ban, amikor a 2248/2006 (XII.23) Kormányhatározat hivatalosan is elrendelte az OEK-ben a veszélyes kórokozók nemzeti törzsbankjának létrehozását, már több mint 60 BSL-3 törzset (11) őrzött a Törzsközpont. Ezek nagyobb része enterális eredetű volt. 2009 óta egyéb veszélyes kórokozó referencia törzseket szereztünk be, többek között az EQADeBa Network keretében, a berlini Robert Koch Institute által szervezett nemzetközi körvizsgálatok kivitelezése kapcsán. Belső szabályzatunknak megfelelően a veszélyes kórokozókat csak BSL-3 laboratóriummal rendelkező laboratóriumoknak adhatjuk ki.

A Törzsközpont munkáját biztosító egyéb feltételek

Az elmúlt 50 év folyamán a tartósítási és ellenőrzési munkálatokhoz a 2. táblázatban felsorolt berendezések beszerzésével történtek a technikai fejlesztések a Törzsközpontban.

2.táblázat: A Törzsközpont működéséhez szükséges berendezések és kiegészítők

Tartósítási eljárásokhoz

Beszerzés éve	Berendezés
1962	Edwards liofilizáló berendezés
1973	Tartalék alkatrészek a liofilizáló berendezéshez
1989	Edwards – Modulyo liofilizáló berendezés
2005	Mélyhűtő berendezések, tartályok folyékony nitrogénben való tároláshoz
2008	Új ampulla behúzó
2010	Új feltét az Edwards – Modulyo berendezéshez

Ellenőrző vizsgálatokhoz

Beszerzés éve	Berendezés
2000	Mini API félautomata identifikáló berendezés
2005	Új Mini API berendezés
2005	Biolog félautomata identifikáló berendezés MicroLog rendszerű leolvasóval

A berendezések karbantartása és validálása a minőségbiztosítások követelményei szerint történik, elhelyezésük is megoldott. Ugyanakkor a liofilizált készítmények tárolása ma már nem korszerű.

A biológiai anyagok kezeléséhez olyan minősített szakemberek is szükségesek, akik a megfelelő biztonsági körülményeket biztosító laboratóriumokban az adott mikroorganizmus veszélyességi szintjének megfelelően képesek dolgozni. A tartósítási eljárások és ellenőrzési munkálatok is komoly szakértelmet igényelnek. A Törzsközpontnak függetlenített személyzete soha nem volt, a munkatársak pedig számos egyéb feladatot is elláttak. Az 1960-as évek közepéig 2 diplomás és 3 – 4 asszisztens végezte a feladatokat, 1971-73 között már 5 diplomás volt a Törzsközpont feladataira beosztva, 1974-ben pedig összesen 15 munkatárs felelt az ott folyó munkákért. Bár az ellenőrző vizsgálatokban az osztály más laboratóriumai (pl. Enterális Nemzeti Referencia Laboratórium) és más osztályok (pl. Bakteriológiai I. osztály Anaerob Laboratóriuma és Antibiotikum Referencia Laboratóriuma) munkatársai is részt vesznek, jelenleg a tartósítást, az adatok rendszeres átvizsgálását és a minőségbiztosításhoz szükséges adminisztrációt mindössze 1 diplomás és 1 asszisztens végzi.

Minőségbiztosítás

Az utóbbi évtizedben a törzsgyűjteményeket gondozó szervezetek számára is fontos célkitűzéssé vált, az akkreditált státusz vagy ISO 9001 tanúsítvány megszerzése. A Törzsközpont 2006-ban MSZ EN ISO/IEC 17025:2001 és EN ISO/IEC 15189:2003 alapján a kontroll törzsek fenntartására és ellenőrzésére kapott akkreditált státuszt (NAT-1-1471/2006), melynek megújítása van jelenleg folyamatban. A „BSL2/3 mikroorganizmus törzskészítmények előállítása, ellenőrzése és törzsgyűjtemény fenntartása” tevékenységi területen 2009-ben szereztünk ISO tanúsítványt (MSZ EN ISO 9001:2009).

Tervek, célkitűzések

A megoldásra váró problémák közül a legfontosabbnak a törzsek tárolásának korszerűsítése tűnik, de az online katalógus megvalósítása is igen időszerű. Szakmai szempontokat figyelembe véve – a minőségbiztosítás terén elért eredmények megtartásán és továbbfejlesztésén kívül – a 2007-ben megjelent OECD kézikönyv (12) hiányzó javaslatainak teljesítését szükséges még megvalósítanunk.

Irodalom

1. Skerman, V. B. D. *World Directory of Collections of Cultures of Microorganisms*. New York: John Wiley Sons, Inc., 1972.
2. Janssens, D., Arahall, D. R., Bizet, C., Garay, E.: The role of public biological resource centers in providing a basic infrastructure for microbiological research. *Res Microb* 161, 422-429, 2010.
3. NCTC celebrates its 90th Anniversary:
<http://www.hpacultures.org.uk/news/nctccelebrates90years.jsp>
4. Bacterial nomenclature up-to-date (Approved lists, validation lists). Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) GmbH, Braunschweig, Germany
<http://www.dsmz.de>
5. Euzéby J. P.: List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature.
<http://www.bacterio.cict.fr>
6. Lányi B., Konkoly-Thege, M.: A vizsgálatok ellenőrzésére szolgáló baktériumtörzsek és fenntartásuk. pp. 509-514. In: Járványügyi és klinikai bakteriológia. Módszertani útmutató. Lányi, B. (Szerk.), Országos Közegészségügyi Intézet, Budapest, 1980.
7. Konkoly Thege, M., Lányi, B.: A baktériumtörzsek fenntartása. pp. 779-784. In: Járványügyi és klinikai bakteriológia. Kézikönyv. Czirók, É. (Szerk.), Melánia Kiadó, Budapest, 1999.

8. Szabó Zs.: Minőségbiztosítás a mikrobiológiai laboratóriumokban: kontroll törzsek fenntartása és kezelése. Mikrobiológiai Körlevél, IX évf. 3.sz., 2009.
9. Lányi B., M. Ádám, M.: A Törzsközpont katalógusa. Országos Közegészségügyi Intézet, Budapest, 1964.
10. Lányi B., Konkoly-Thege, M.: Orvosi Baktériumok Magyar Nemzeti Gyűjteménye. Törzsjegyzék. Második kiadás, Országos Közegészségügyi Intézet, Budapest, 1978.
11. The Approved List of biological agents. Advisory Committee on Dangerous Pathogens, Health and Safety Executive, Norwich, 2004.
12. OECD Best Practice Guidelines for Biological Resource Centres – General Best Practice Guideline for all BRCs. OECD, Paris, 2007.