



Tartalom:

Invazív esetekből izolált *Streptococcus pyogenes* molekuláris vizsgálata és klinikai vonatkozásai

Gacs Mária, Krucsó Barbara, Libisch Balázs, Pászti Judit, Füzi Miklós

***Klebsiella pneumoniae* és *Escherichia coli* izolátumok antibiotikum érzékenysége az OEK Antibiotikum Rezisztencia Surveillance 2005. évi adatai alapján**

Tóth Ákos, Gacs Mária, Végh Zsolt

A körlevél 4. számának megjelenését a **Frank DIAGNOSZTIKA** támogatta

Karácsony

III.

Ady Endre

Ha ez a szép rege
Igaz hitté válna,
Óh, de nagy boldogság
Szállna a világra.
És a gyarló ember
Ember lenne újra,
Talizmánja lenne
A szomorú útra.
Golgota nem volna
Ez a földi élet,
Egy erő hatná át
A nagy mindenséget,
Nem volna más vallás,
Nem volna csak ennyi:
Imádni az Istent
És egymást szeretni...
Karácsonyi rege
Ha valóra válna,
Igazi boldogság
Szállna a világra...

**Minden olvasónknak kellemes karácsonyi ünnepeket és
eredményekben gazdag boldog új esztendőt kívánunk!**

Invazív esetekből izolált *Streptococcus pyogenes* molekuláris vizsgálata és klinikai vonatkozásai

Gacs Mária, Krucsó Barbara, Libisch Balázs, Pásztai Judit, Füzi Miklós

Az egyik legjelentősebb Gram-pozitív gennykeltő baktérium az A csoportú β -haemolizáló *Streptococcus*, a *S. pyogenes*. A jól ismert gyakori felső légúti és bőr- lágyrész infekciók mellett, a 80-as évek végétől sorra jelentek meg közlemények, melyekben a kórokozó súlyos, gyors lefolyású, gyakran halálos kimenetelű klinikai kép, a TSS (toxikus shock syndroma) kiváltójaként szerepel (1, 2). Az egyre szaporodó klinikai esetek hatására 1993-ban a CDC Working Group on Severe Streptococcal Infections meghatározta a STSS ismérveit. (3). Magyarországon ebben a témában a 90-es évek végén Szalka A. és Ludwig E., (4) majd 2000-es év elején Gábor Zs. és mtsai (5) foglalták össze a legfontosabbakat. Az STSS esetenként jelentéktelen bőr, nyálkahártya sérülést vagy helyi infekciót követően alakul ki. A súlyos lefolyású esetek egy részében megállíthatatlan a folyamat, gyakran a bakteriológiai vizsgálatra későn kerül sor, s az ennek eredményeként indított adekvát terápia sem tud a válságos állapotban lévő betegen segíteni. A befolyásolhatatlanul gyorsan exitushoz vezető, toxikus klinikai kép leginkább immunkárosodott személyeknél alakul ki, de előfordulnak olyan esetek, ahol az anamnézisben nem található immunkárosító tényező (6).

A súlyos, invazív infekciók kialakulásának megértéséhez - a témával foglalkozó irodalom szerint - egyrészt a beteg immunállapotának, másrészt a kórokozó virulencia faktorainak vizsgálataival próbálnak közelebb jutni (7, 8).

A *S. pyogenes* M proteinje jelentős virulencia faktor a baktérium által kiváltott infekciókban adheziós és antiphagocita hatással is rendelkezve. Az M protein típus meghatározását korábban az anti-M savóval szerológiai módszerekkel végezték, ami a keresztreakciók miatt a törzsek egyharmadánál nem adott értékelhető eredményt. Ma az egyre szélesebb körben elterjedt molekuláris módszerekkel, az M proteint kódoló *emm* gén szekvencia meghatározásával jelenleg már több mint 170 genotípus ismeretes (9). Ugyanígy jelentős szerepe van a virulenciában a különböző pyrogén exotoxinoknak, melyek száma folyamatosan tovább bővül, s funkcióik bonyolult összefüggései jelenleg is immunológiai és biokémiai kutatások témái (10). A SpeA-SpeC, SpeF-J speL, speM ssa (streptococcus superantigén) smeZ (streptococcus mitogén exotoxin z), toxinokat kódoló gének kimutatására ugyancsak molekuláris eljárásokat (PCR) alkalmaznak.

A minden *S. pyogenes*-ben jelenlévő kromoszomálisan kódolt SpeB, vagyis extracelluláris cystein protease a kórokozó virulenciájának egyik jelentős tényezője, különösen a TSS-ban számos módon, a különböző host proteinek módosításával fejti ki hatását, és feltehetőleg szerepet játszik az inváziós folyamat regulációjában is (11). Az ugyancsak kromoszomálisan kódolt SpeF-ről további molekuláris vizsgálatokkal kiderült, hogy nincs szuperantigén hatása, s átnevezését javasolják (12). A SpeA, SpeC, fágasszociált exotoxinok esetében adott a lehetősége mobilis genetikai elemek révén a horizontális gén átvitelnek (13). A megbetegedés kialakulását segítik még a kórokozó más adheziós és antiphagocita, inváziós hatású termékei, mint a hialuronsav tok, a fibronectin, a fibronectin-, immunglobulin- kollagénekötő- és plazminogénkötő proteinek (7).

Bár máig sem pontosan ismert, hogy a *S. pyogenes* pathogenitási faktorai közül melyek és milyen mértékben járulnak hozzá a TSS kialakulásához, fontos meghatározni az ezekből az esetekből származó törzsek sajátosságait, a súlyos fertőzések pathomechanizmusának jobb megismeréséhez.

Az OEK Bakteriológia I. és Fágtypizálási és Molekuláris Epidemiológiai osztályán az identifikálás megerősítésén túl, ma már a beküldött invazív esetekből származó törzsek

esetében megtörténik a kórokozó M típusának és pyrogén exotoxinjai közül a Spe A-C molekuláris meghatározása. A *S. pyogenes* molekuláris M tipizálásának, az *emm* gének vizsgálatának bevezetése és a kezdeti eredmények 2004-ben, a Mikrobiológiai Körlevélben kerültek közlésre (14).

A továbbiakban, a 2004-2005-ben beérkezett törzsek közül a klinikailag leginkább lényegesnek látszó, invazív, gyors lefolyású, többnyire exitussal végződő esetekből származó törzsek molekuláris vizsgálata történt meg. Az izolált törzsekből az *emm* gén szekvencia meghatározásának, a törzsek összehasonlítására végzett PFGE vizsgálatnak, és az időközben bevezetett pyrogén exotoxinokat kódoló *speA*, *speB*, *speC* gének kimutatásának eredményeit, s az ezekből levonható következtetéseket kívánják a szerzők ismertetni.

Anyag és módszer:

Surveillance adatokból: 2004-ben 41, 2005-ben 65 invazív izolátumot jelentett 30 (nagyobb) laboratórium. Bakteriológiai vizsgálatokat 85-90 laboratóriumban végeznek Magyarországon, így a diagnosztizált invazív esetek becsült száma évente 120-140 körüli lehet.

A laboratóriumok 2004-ben összesen 76 *S. pyogenes* törzset küldtek be, ebből 23 származott invazív esetből, s ezek közül 6 izolátum molekuláris vizsgálata történt meg. 2005-ben beküldtek 99 törzset, invazív esetből volt 27, ezek közül 20 került részletes vizsgálatra.

A kiválasztott esetekből származó törzsek identifikálásának megerősítése a morfológiai sajátosságok és hagyományos biokémiai vizsgálatok mellett, a β -haemolizáló streptococcusok csoportspecifikus savóival történt („MASTASTREP” (MAST DIAGNOSTICS)). A törzsek antibiotikum érzékenységének vizsgálata 5% vértartalmú Mueller-Hinton táptalajon korongdiffúzióval (OXOID), és MIC érték meghatározással Etest-tel (AB BIODISK) történt a CLSI M100-S15 2005 évi kiadványa szerint (15). Kontroll törzs az ATCC 49619 *S. pneumoniae* volt. A vizsgált antibiotikumok: penicillin, erythromycin, clindamycin, levofloxacin, voltak.

Molekuláris vizsgálatok:

Az *emm* gén szekvencia meghatározása a CDC www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/strepindex.html szerint történt. Az ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) szekvenátorral kapott szekvenciákat a National Centre for Biotechnology Information's Basic Local Alignment Search Tool, és a Centres for Disease Control and Prevention (CDC) (www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/strepindex.html) oldalakon levő szekvenciákkal hasonlították össze (9).

Pulzátaltott-mezejű gélelektroforézis (PFGE) Vlamincx és mtsai (16) által közöltek szerint, történt. A baktériumsejtekből PCR vizsgálatokhoz genomikus DNS-t a High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) alkalmazásával izolálták.

A *speA*, *speB* és *speC* géneket PCR módszerrel mutatták ki a Vlamincx és kollégái által korábban leírt oligonukleotid primerek felhasználásával (16).

A klinikai eseteket összefoglaló 1. számú táblázatban az életkor és a nem mellett, a vizsgált minta származási helye, a klinikai tünetek és a diagnózis, a megbetegedés kimenetele, s az immunuszupprimáló tényezők szerepelnek.

Megbeszélés:

A 80-as évek 2. felében az invazív infekciók világszerte növekvő száma indokolta, hogy CDC 'súlyos streptococcus' infekciókkal foglalkozó munkacsoportja meghatározza a toxikus shock syndroma definícióját és a *S. pyogenes* által okozott egyéb invazív kórképeket, mint a nekrotizáló fasciitis, pneumonia, septicus arthritis, puerperalis sepsis, bacteriaemia (elsődleges góc nélkül) (2). Miután nyilvánvalóvá vált *S. pyogenes* okozta invazív infekciók széleskörű elterjedtsége, a WHO szorgalmazta és támogatta a streptococcus referens centrumok képviselőiből álló munkacsoport

megalakulását, s egyik fő feladatuként a invazív infekciók surveillance vizsgálatát. Ennek szellemében jött létre 2002-ben a Strep-EURO csoport, s a tevékenységét meghatározó Strep-EURO program (18, 19). Magyarországon a Strep-EURO csoport beszámolóí hatására indult meg a *S. pyogenes* okozta invazív infekciókból származó törzsek intenzívebb vizsgálata.

A molekuláris módszerekkel is vizsgált 26 *S. pyogenes* törzsből 7 TSS (toxikus shock syndroma) esetből származott. A TSS klinikai tüneteit mutató betegek közül 5 exitált. Fasciitis necrotisans volt a diagnózis 5 beteg esetében, a sepsis-ből izolált *S. pyogenes* törzsek közül 3 pyogén bőrfekélyből indult ki. A további esetekben meningitis, peritonitis, pneumonia, osteomyelitis volt a klinikai diagnózis. A 21 (5 esetben a kimenetel nem ismert) betegből összesen 11 (52,4%) exitált (lásd 1. táblázat).

1. táblázat. A 2004, 2005 évi invazív infekciókból származó *Streptococcus pyogenes* izolátumok jellemzése a klinikai diagnózis, a beteg neme, kora, és a minta forrása alapján

Törzs szám	A beteg		A minta megnevezése	Klinikai Diagnózis	A betegség kimenetele	Praedisponáló faktor
	kora (év)	neme				
1	42	F	haemokultura	abscessus, peritonitis, sepsis	exitus	nincs adat
2	5	F	mellkas punktatum	pleuropneumonia	nincs adat	nincs adat
3	35	F	haemokultura	sepsis	gyógyult	nincs adat
4	73	F	sebváladék	erysipelas	gyógyult	bőrbetegség
5	9	F	torokváladék	TSS	gyógyult	bronchitis acuta
6	66	F	liquor	meningitis purulenta	nincs adat	nincs adat
7	48	F	haemokultura, sebváladék	TSS	exitus	rossz higiénés állapot, elhanyagolt külső
8	50	F	haemokultura, liquor	meningitis, sepsis	nincs adat	nincs adat
9	65	M	hasüregi váladék	peritonitis, sepsis	exitus	hipertonia
10	55	F	sebváladék	fasciitis necrotisans	exitus	nem volt felderíthető
11	48	F	haemokultura, sebváladék (post mortem)	TSS	exitus	diabetes, hipertonia
12	49	M	sebváladék	sepsis	nincs adat	nincs adat
13	5	M	haemokultura	TSS, otitis, septicaemia	exitus	varicella
14	32	F	haemokultura, hüvelyváladék (post mortem)	TSS	exitus	IUD
15	75	M	haemokultura	fasciitis necrotisans	gyógyult	nincs adat
16	81	M	haemokultura	cellulitis, septicaemia	exitus, amputáció	diabetes, hipertonia
17	49	M	haemokultura	ulcus cruris, septicaemia	gyógyult	haemiparesis
18	69	F	sebváladék	fasciitis necrotisans	gyógyult, amputáció	bőrbetegség, hipertonia
19	76	F	haemokultura	cellulitis, TSS	gyógyult	salmonella sepsis, alkoholizmus
20	27	F	haemokultura	Pneumonia	gyógyult	műtét
21	68	M	sebváladék	fasciitis necrotisans	gyógyult	nincs adat
22	58	F	haemokultura	hypothermia, necrosis	exitus	alkoholizmus
23	61	M	haemokultura	osteomyelitis	nincs adat	nincs adat
24	44	M	sebváladék	fasciitis necrotisans	gyógyult	rovarcsípés
25	94	M	haemokultura	cellulitis, pneumonia	exitus	cardialis insuffencia
26	63	F	sebváladék	TSS	exitus	cirrhosis

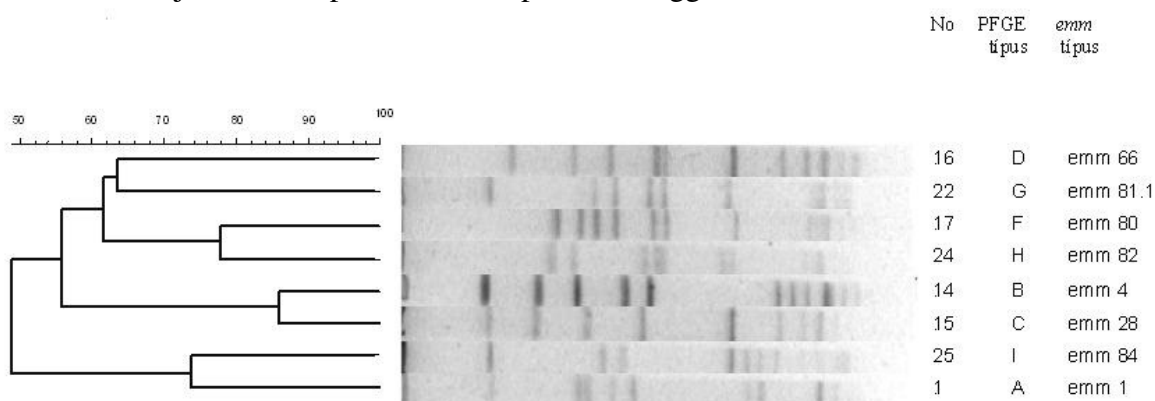
A lethális invazív infekciókban nemzetközi adatok szerint 11-34% közt változik (20), és kiemelkedően magas TSS-ben (6). Ennek fő oka az esetenként befolyásolhatatlan gyors lefolyás. A betegség felismerése, az intenzív terápia megkezdése és az ennek ellenére bekövetkező exitus közt egyes esetekben alig 24h telt el. Ilyen volt a vizsgált esetek közül 5. Az 5 beteg közül 4 személynél az élőben vett haemokulturából és a kórbonctani anyagból is *emm1* típusú *S. pyogenes* törzset izoláltak, egy esetben pedig az *emm4*-es genotípus a haemokultura mellett a hüvelyváladékból is kitenyészett.

A vizsgált invazív esetek jelentős %-ában az immunuszuppresszió megtalálható volt, de a legsúlyosabb, leggyorsabb lefolyású esetek némelyikében, semmiféle immunkárosító tényező nem volt kideríthető (lásd 1. táblázat). Utóbbira példa egy fiatal, teljesen egészséges nőbeteg, akinél IUD eltávolítás után alakult ki az STSS és 24 órán belül exitált.

A leggyakoribb immunkárosító tényezők a következők voltak: diabetes, cardialis elégtelenség, hipertonia, keringési zavar, alkoholizmus, megelőző műtét, rossz higiénés állapot. Gyermekkori esetekben prediszponáló tényező volt a varicella.

Irodalmi adatok szerint invazív infekciókban leggyakrabban előforduló *emm* típusok az M1, M3, M12, és M28 voltak (7). Magyarországon Szita és mtsai 1964-65-ben egy nemzetközi felmérés során szerológiai módszerekkel vizsgálták a *S. pyogenes* törzsek típus megoszlását. Ekkor az M1, M3, M12 típusokat találták a leggyakoribbnak (21). Bár az akkori komplex szerológiai eredmények nehezen összehasonlíthatók a 2004-2005 évben végzett molekuláris vizsgálatok eredményeivel, mégis úgy látszik, hogy a leggyakoribb M típusok sorrendjében változások történtek. Az invazív infekciókból izolált törzsek *emm* típusok szerinti megoszlása, a korábbi irodalmi és hazai adatoktól eltérő, ahogy a 2. táblázat adatai mutatják. Az M1 típus a leggyakoribb - a vizsgált törzsek mintegy 50%-a hordozott *emm1* gént - az M3 és M12 típus nem fordult elő, s több esetben a szekvenálás *emm80* és más magasabb számú *emm* géneket igazolt, pl. 5 *emm80*, 2 *emm84* és 2 *emm81.1* és 1 *emm82*. Újabban, míg egyes szerzők továbbra is az M1, M3, M12, M28 típusokat találták leggyakoribbnak légúti és invazív infekciókban is Rivera és mtsai (26), több más európai szerző az M típusok előfordulási gyakoriságában változásokról számolnak be. Pl. Dániában, 1999 és 2002 közt vizsgált 496 invazív GAS törzsből az *emm 89* típusú volt a 4. leggyakoribb, a vizsgált időszakban az M1 gyakorisága növekedett, míg az M3 előfordulása jelentősen csökkent.(20). Hollandiában 1504 invazív esetből származó törzset vizsgálva gyakoriságban az M1 és M3-t az M89 típus követte (22), míg a lengyelországi invazív esetekben az *emm81* volt az *emm1* és *emm12* után a 3. leggyakoribb (23). Az Eurosurveillance weekly-ben a Strep-EURO csoport a 2003-2004. év adatait elemezve hasonló eredményre jutott. Úgy találták, hogy az új invazív típusok *emm 77, 81, 82, 89* száma általánosan megemelkedett (24).

Az 1. ábra mutatja az *emm* típus és PFGE típus összefüggését.



1. ábra. *Streptococcus pyogenes* törzsek PFGE mintázata *Sma* I enzimmel történt emésztéssel.

Azok a törzsek, amelyek azonos PFGE típushoz tartoztak egyben azonos *emm* típusúak is voltak, vagyis minden egyes vizsgált *emm* típusra egy sajátos PFGE mintázat jellemző (2. táblázat). Megállapítható volt, hogy az azonos *emm* típusokhoz tartozó klónok különböző területeken és kórházakban, 2004 és 2005 év során is előfordultak.

A pyrogen exotoxinokat (SPE-A-C, F-J) kódoló gének közül meghatározott *speA*, *speB*, és *speC* jelenlétét az egyes M típusokkal való összefüggésben vizsgálva, a szerzők úgy találták, hogy a vizsgált M1 típusba tartozó GAS törzsek mindegyikében a *speA*, *speB* gének voltak kimutathatók. Az egyéb M genotípusok *speC*, *speB* géneket hordoztak, s ezekben *speA* nem fordult elő. Két *S pyogenes* M84, 1 M66, 1 M82 törzs volt, amelyekben sem a *speA*, sem a *speC* exotoxin nem volt kimutatható (lásd 2. táblázat). Meglepő, hogy az egyik *emm84* gént hordozó izolátum egy exitussal végződő TSS esetből származott.

2. táblázat Invazív *Streptococcus pyogenes* törzsek *emm* típusa, toxintermelése (*speA*, *B*, *C*) és PFGE mintázata

Törzs szám	<i>emm</i> típus	<i>speA</i> , <i>B</i> , <i>C</i> toxin gének	PFGE típus
1	<i>emm</i> 1	<i>speB</i> , <i>A</i>	A
2	<i>emm</i> 1	<i>speB</i> , <i>A</i>	A
3	<i>emm</i> 1	<i>speB</i> , <i>A</i>	A
4	<i>emm</i> 1	<i>speB</i> , <i>A</i>	A
5*	<i>emm</i> 1	<i>speB</i> , <i>A</i>	A
6	<i>emm</i> 1	<i>speB</i> , <i>A</i>	A
7*	<i>emm</i> 1	<i>speB</i> , <i>A</i>	A
8	<i>emm</i> 1	<i>speB</i> , <i>A</i>	A
9	<i>emm</i> 1	<i>speB</i> , <i>A</i>	A
10	<i>emm</i> 1	<i>speB</i> , <i>A</i>	A
11*	<i>emm</i> 1	<i>speB</i> , <i>A</i>	A
12	<i>emm</i> 1	<i>speB</i> , <i>A</i>	A
13*	<i>emm</i> 1	<i>speB</i> , <i>A</i>	A
14*	<i>emm</i> 4	<i>speB</i> , <i>C</i>	B
15	<i>emm</i> 28	<i>speB</i> , <i>C</i>	C
16	<i>emm</i> 66	<i>spe B</i> -	D
17	<i>emm</i> 80	<i>speB</i> , <i>C</i>	F
18	<i>emm</i> 80	<i>spe B</i> , <i>C</i>	F
19*	<i>emm</i> 80	<i>spe B</i> , <i>C</i>	F
20	<i>emm</i> 80	<i>spe B</i> , <i>C</i>	F
21	<i>emm</i> 80	<i>spe B</i> , <i>C</i>	F
22	<i>emm</i> 81.1	<i>spe B</i> , <i>C</i>	G
23	<i>emm</i> 81.1	<i>spe B</i> , <i>C</i>	G
24	<i>emm</i> 82	<i>spe B</i> -	H
25	<i>emm</i> 84	<i>spe B</i> , -	I
26*	<i>emm</i> 84	<i>speB</i> , -	I

* exitált esetek

A súlyos, gyors lefolyású klinikai esetekből kitenyésztett törzseket vizsgálva, megállapítható, hogy egy izolátum kivételével mindegyik hordozott *speA* gén-t. A *speA* gént nem hordozó

TSS esetből izolált két törzs mindegyike *speC* gén- t tartalmazott, s egy esetben sem *speA*, sem *speC* nem volt kimutatható (lásd táblázat).

Irodalmi adatok szerint a toxin gén profil szoros összefüggést mutat az egyes *emm* gén típusokkal (13). A súlyos lefolyású invazív esetekből izolált *emm1* típusú törzsek leginkább Spe-A-exotoxint kódoló *speA* gént hordoznak, míg a *speC*-t az *emm4*, *emm89* típusú törzsekben találták leggyakoribbnak.

A 2. táblázat eredményei is azt mutatják, hogy a M1 típusú törzsek *speA*-t, míg a magasabb számú M típusok *speC*-t hordoztak.

Egyes szerzők a *spe* gének előfordulási gyakoriságában is időbeli változásokat figyeltek meg, a vizsgált években, pl. az M1 típusú törzsek *speA* gén hordozása csökkent, míg a *speC* géne növekedett (20).

Az antibiotikum érzékenységet tekintve a vizsgált esetekből származó törzsek penicillin MIC értéke nagyon alacsony volt. Penicillinnel szemben rezisztens *S. pyogenes* törzsről mindeig ideig nem számoltak be, de előfordulhatnak penicillin terápiára nem jól reagáló esetek, ennek többféle magyarázata lehet (4, 25) Ma már invazív esetekben a penicillint monoterápiában nem alkalmazzák, leggyakrabban clindamycinnel kombinálják (4).

A vizsgálatban szereplő törzsek közül 2 volt erythromycinnel és clindamycinnel szemben is rezisztens. Levofloxacinra minden törzs érzékeny volt. Európában a macrolidokkal szembeni rezisztencia jelentős különbségeket mutat. Míg Itáliában, Spanyolországban nem ritka, hogy az izolált törzsek csaknem egyharmada rezisztens erythromycinnel szemben (26, 27), Norvégiában az erythromycinnel szembeni rezisztencia 2-3% közötti (28).

Magyarországon a surveillance adatok szerint a *S. pyogenes* törzsek erythromycin rezisztenciája nem túl magas, s különösen alacsony az invazív esetekből származó törzsek körében. Az összes izolált törzs erythromycin és clindamycin rezisztenciája a 2002-2005 években, 8-10% közt változott. 2004-ben a surveillance-ban szereplő 41 invazív izolátum közül 3 erythromycin és clindamycinnel szemben is rezisztens volt. 2005-ben az erythromycinnel szembeni rezisztencia 9,4% a clindamycinnel szembeni 8,3% volt az összes kitenyészett törzs vonatkozásában. A surveillance adatok szerint az invazív esetekből származó törzsek közül erythromycin rezisztens volt 65 törzsből 4, clindamycin rezisztens 3.

Az *emm*, és *spe* gének hordozásának időbeli és területi változása, az antibiotikumokkal szembeni rezisztencia alakulásának követése, és a rezisztencia mechanizmusok tanulmányozása indokolja az invazív infekciókból izolált törzsek további molekuláris vizsgálatát. Mindehhez szükséges széleskörű nemzeti surveillance vizsgálat, az invazív esetek feldolgozása és elemzése, és az ezekből az infekciókból származó izolátumok referens laboratóriumba küldése. További fontos cél a nemzetközi surveillance-hoz való csatlakozás, együttműködés ezen a téren is más európai országokkal.

Köszönetnyilvánítás:

Köszönjük munkatársainknak Tirczka Tamás, Sinka Éva, Kovács Bogáta, Vargáné Hunyadi Zsuzsanna a vizsgálatok elvégzésében nyújtott segítségét, s köszönjük mindazoknak a laboratóriumok az együttműködését, akik a törzsek beküldésével lehetővé tették ezeket a vizsgálatokat, s mindazon klinikusoknak, akik a klinikai megjelenés és lefolyás megismeréséhez nyújtottak segítséget.

A legtöbb törzset beküldők:

Szent László kórház: Dr. Konkoly Thege Marianne

Honvéd Kórház: Dr. Szentandrassy Júlia

Megyei Kórház Kaposvár: Dr. Horváth Galina

ANTSZ Laboratórium Kft Székesfehérvár: Dr. Szikra Lenke

ANTSZ Laboratórium Kft Pestmegye: Dr. Csiszár Károly

Irodalom:

1. Cone L, et al. 1987. Clinical and bacteriologic observations of a toxic-shock like syndrome due to *Streptococcus pyogenes*. *N Engl J Med* 317: 146-49
2. Stevens DL, et al. 1989. Severe group A streptococcal infections associated with a toxic shock-like syndrome and scarlet fever toxin A. *N Eng J Med* 321: 1-7
3. The Working Group on Severe Streptococcal Infections. 1993. Defining the group A streptococcal toxic shock syndrome: rationale and consensus definition. *JAMA* 269: 390-91
4. Szalka A, Ludwig E. 1999. Streptococcus okozta toxikus sokk- szindróma. *Lege Art Med* 9. 268
5. Gábor Zs, és mtsai. 2003 Pyogén coccusok okozta toxikus shock szindróma *Orv. Hetil* 144 évf. (2) 59-65
6. Smith A, et al. 2005. Invasive group A streptococcal disease: should close contacts routinely receive antibiotic profilaxis? *Lancet Infect Dis* 5: 494-500
7. Cunningham MW. 2000. Pathogenesis of group A streptococcal infections *Clin Microbiol Rev* 13(3): 470-511).
8. Norrby-Teglund A., Kolb M. 2000. Host-microbe interactions in the pathogenesis of invasive of group A streptococcal infections. *J Med Microbiol* 49 (10): 849-52
9. Beall B, 2004. *Streptococcus pyogenes* emm sequence database. *CDC* 10(11) (<http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/emmtypes.htm>)
- 10 Proft T, et al. 2003 Superantigens and Streptococcal Toxic Shock Syndrome. *Emerg Infect Dis.* 9(10) 1211-18
11. Nyberg P, et al. 2004. SpeB modulates fibronectin-dependent internalization of *Streptococcus pyogenes* by efficient proteolysis of cellwall-anchored protein F1. *Microbiology*, 150 (5): 1559-69
12. Gerlach D, et al. 2001. Basic streptococcal superantigens SPEX/SMEZ or SPEC are responsible for the mitogenic activity of the so-called mitogenic factor MF. *FEMS Immunol Med Microbiol* 30 (3):209-16
13. Schmitz FJ, et al. 2003. Toxin-gene profil heterogeneily among endemic invasive European group A streptococcal isolates. *J Infect Dis* Vol.188(10): 1578-86
14. Krucsó Barbara, és mtsai. 2004. Az invazív A csoportú streptococcus (*GAS*), (*Streptococcus pyogenes*) molekuláris tipizálásának bevezetése, mint a hazai surveillance kialakításának első lépése. *Mikrobiológiai Körlevél* 4 évf. 1. szám
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing Fifteenth Informational Supplement. 25 (1)
16. Vlamincxx BJM, Mascini EM, Schellekens J, Schouls LM, Paauw A, Fluit Ad C, Novak R, Verhoef J, Schmitz FJ. 2003. Site-specific manifestations of invasive group A streptococcal disease: type distribution and corresponding patterns of virulence determinants. *J Clin Microbiol* 41 (11):4941-4949
17. Facklam R, Beall B, Efstratiou A, Fischetti V, Johnson D, Kaplan E, Kriz P, Lovgren M, Martin D, Schwartz B, Totolian A, Bessen D, Hollingshead S, Rubin F, Scott J, Tyrell G (1999) Emm typing and validation of provisional M types for group A streptococci. *Emerg Infect Dis* 5 (2):247-253
18. Schalén C. 2002. European surveillance of severe group A streptococcal disease. *Eurosurveillance weekly.* 6 (35):25/8/2004
19. Lamagni TL. 2005. The epidemiology of severe *Streptococcus pyogenes* associated disease in Europe *Euro Surveill.*10 (9): 179-184 (<http://www.eurosurveillance.org/ew/2002/020829.asp>)

20. Ekelund K, et al. 2005. Reemergence of emm1 and a changed superantigen profile for group A streptococci causing invasive infections: results a nationwide study. *J Clin Microbiol* 43(4): 1789-96
21. Szita J and Hegyessy G. 1966. Type distribution of *Streptococcus pyogenes* strains in the years 1964-65. *Acta microbiol. Acad. Sci. Hung.* 13, 151-160
22. Vlamincx BJ M, et al. 2005. Long-term surveillance of invasive group A streptococcal disease in the Netherlands 1994-2003. *Clin Microbiol Infect.*11 (3): 226-231
23. Szczypa K, et al. 2006. Group A streptococci from invasive disease episodes in Poland are remarkably divergent at the molecular level. *J Clin Microbiol.* 44 (11): 3975-79
24. A. Jasir and C. Schalen on behalf of the Strep-EURO study group. 2005. Strep-EURO:Progress in analysis and research into severe streptococcus disease in Europe 2003-2004. *Eurosurveillance weekly* 10 (2)
25. Baldassarri L, et al. 2006. Therapeutic failures of antibiotics used to treat macrolid-susceptible *Streptococcus pyogenes* infections may be due to biofilm formation. *J Clin Microbiol* 44 (8) 2721-27
26. Rivera A, et al. 2006. Superantigen gene profile, emm type and antibiotic resistance genes among group A streptococcal isolates from Barcelona, Spain. *J Med Microbiol* 55 (8): 1115-23
27. Creti R, et al 2005. Association of group A streptococcal emm types with virulence traits and macrolide-resistance genes is independent of the source of isolation. *J Med Microbiol* 54 (10): 913-7
28. Littauer P, et al. 2006. Macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* in Norway: population structure and resistance determinants. *Antimicrob Agents* 50 (5): 1896-99

***Klebsiella pneumoniae* és *Escherichia coli* izolátumok antibiotikum érzékenysége az OEK Mikrobiológiai Surveillance 2005. évi adatai alapján**

Tóth Ákos, Gacs Mária, Végh Zsolt

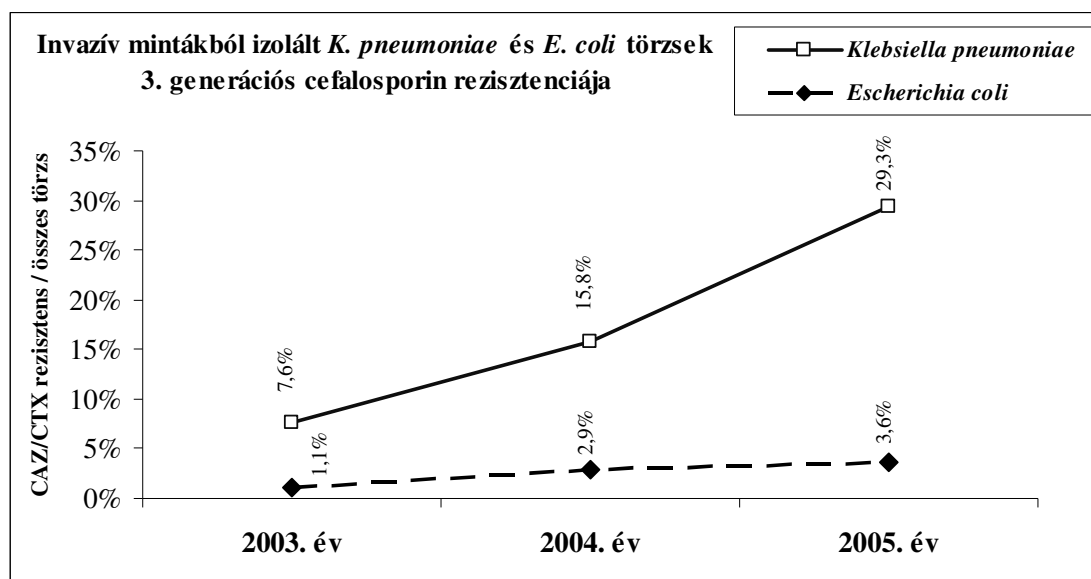
2005-ben az ESBL-termelő kórokozók Nemzeti Referencia Laboratóriumába 847 törzset küldtek be a rezisztencia-mechanizmus megerősítésére. A két leggyakoribb ESBL-termelő species: a *Klebsiella pneumoniae* (345 törzs, melyből 124 származott vizelet mintából) és az *Escherichia coli* (183 törzs, melyből 84 származott vizelet mintából) volt. A beküldött törzsek száma több mint kétszeresére nőtt 2004-hez képest.

A törzsek fenó- és genotípusos vizsgálatából kiderült, hogy kétharmaduk CTX-M-típusú ESBL-t termel. A *K. pneumoniae* törzseknél ez a típus mindig együtt fordult elő a fluoroquinolonokkal és bizonyos aminoglikozidokkal szembeni rezisztenciával. A beküldött törzsek között már 2003-ban volt néhány CTX-M-termelő és ciprofloxacinnal szemben rezisztens *K. pneumoniae* törzs, azonban csak 2005-ben nőtt számottevően az arányuk. Erről a változásról és annak jelentőségéről több fórumon beszámoltunk már. Jellemző volt, hogy ezek a multirezisztens CTX-M-termelő törzsek leginkább belgyógyászati, sebészeti és intenzív osztályokon fordultak elő, míg csecsemő és gyermekosztályokról nem kaptunk ilyen törzseket.

Felmerül azonban a kérdés: a referencia laboratóriumba beküldött törzsek esetében tapasztalt tendenciák jellemzőek-e országos szinten is? Ez igen fontos kérdés, hiszen a törzsek beküldése nem kötelező, és egy részük nagy kórházi járványokból származott. A választ az OEK Mikrobiológiai Surveillance adatainak segítségével próbáljuk megadni.

A *Klebsiella pneumoniae* és az *Escherichia coli* törzsek 3. generációs cefalosporinokkal szembeni rezisztenciáját az esetek túlnyomó többségében az ESBL-termelés okozza. Így, az OEK Mikrobiológiai Surveillance adatainak feldolgozása során potenciális ESBL-termelőnek tekintettük a ceftazidimmal (CAZ) és/vagy cefotaximmal (CTX) szemben rezisztens törzseket. Azért választottuk ezt a megoldást, mert nem minden esetben vizsgálták együttesen mindkét 3. gen. cefalosporint. Most először szerepelnek vizeletből izolált törzsek is az adatbázisban. Ezeknél a mintáknál a mikrobiológiai laborokban leggyakrabban vizsgált antibiotikumok eltérnek a többi mintánál vizsgálttól, ezért ezekkel külön foglalkozunk.

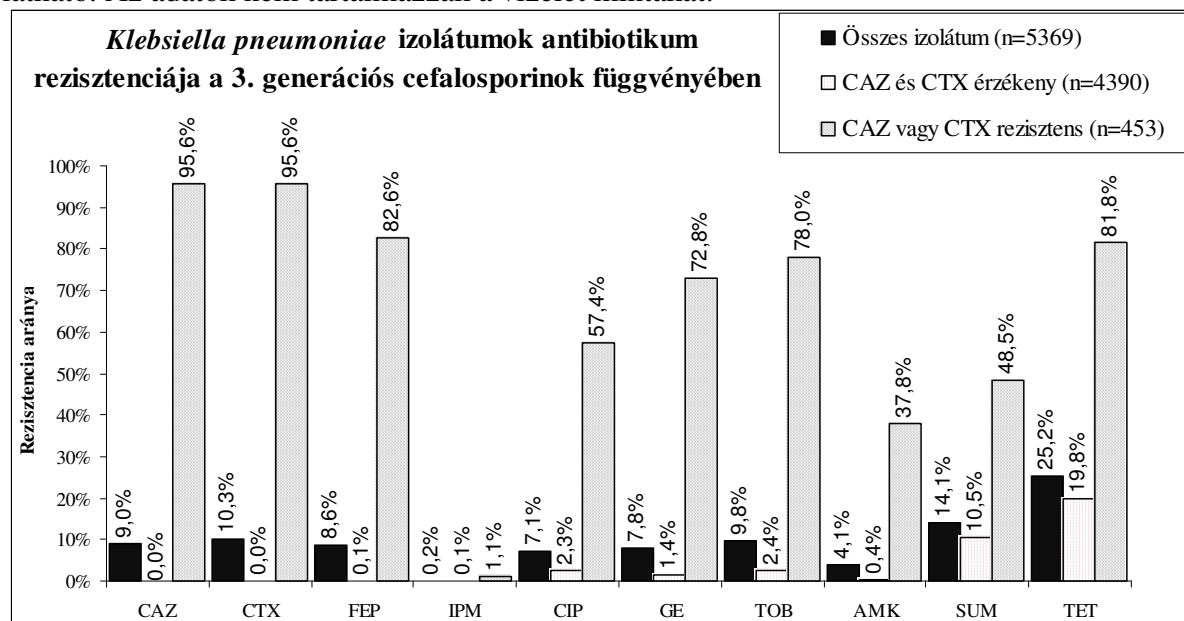
Bevezetésként bemutatjuk az invazív mintákból izolált *K. pneumoniae* és *E. coli* törzsek 3. generációs cefalosporinokkal szembeni rezisztenciájának alakulását 2003-2005 között (1. ábra).



1. ábra

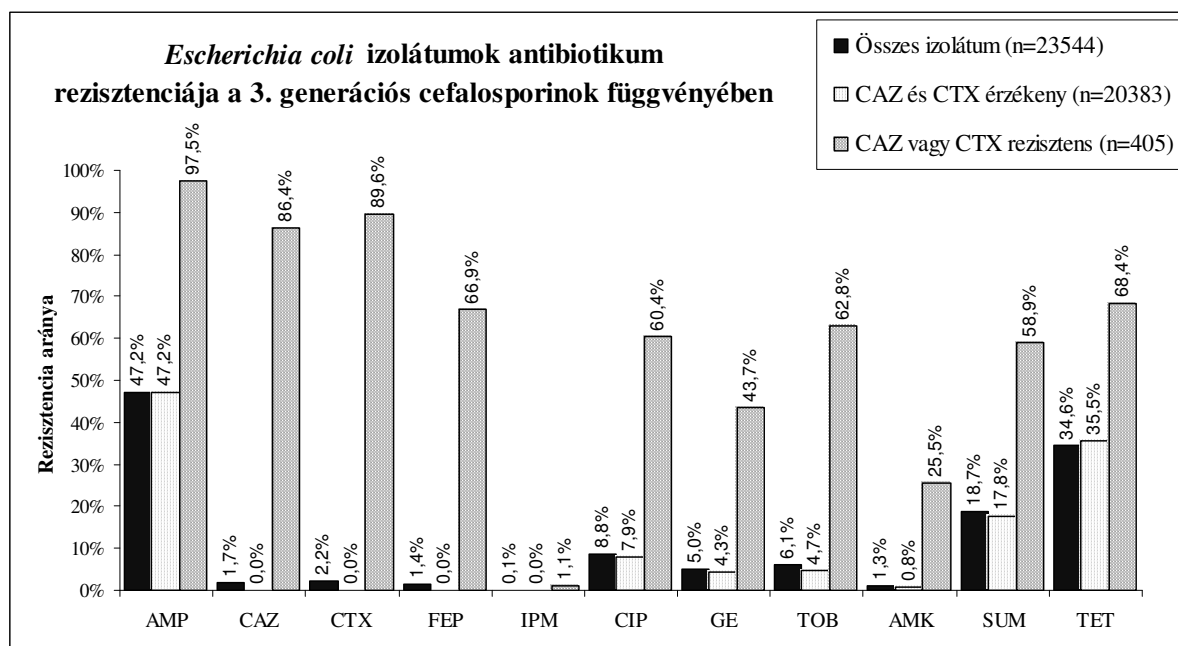
2003-ban az invazív mintákból származó *E. coli* törzsek 1,1%, míg a *K. pneumoniae* törzsek 7,6% volt CAZ/CTX rezisztens. 2005-ben mindkét speciesnél megháromszorozódott a rezisztencia mértéke.

Az 2. és 3. diagramon a mikrobiológiai surveillance-ban szereplő *K. pneumoniae* és *E. coli* törzsek antibiotikum rezisztenciáját ábrázoltuk. Minden antibiotikumnál az első oszlopban az összes izolátumra vonatkozó rezisztencia arányok, a második oszlopban a CAZ és CTX érzékeny izolátumok, míg a harmadik oszlopban a CAZ/CTX rezisztens törzsek rezisztenciája látható. Az adatok nem tartalmazzák a vizelet mintákat.



CAZ: ceftazidim, CTX:cefotaxim, FEP:cefepim, IPM:imipenem, CIP:ciprofloxacín, GE: gentamicin, TOB: tobramycin, AMK:Amikacin, SUM: sumetrolim, TET: Tetracyclin

2. ábra



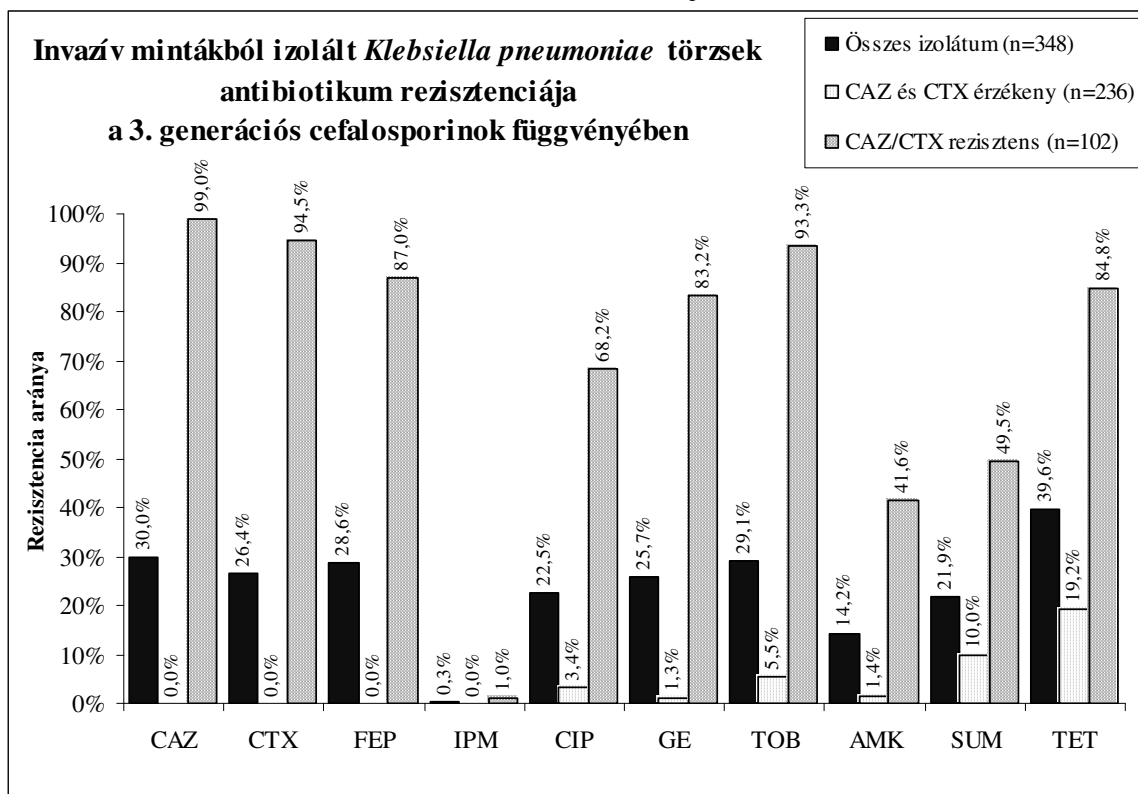
AMP: ampicillin, CAZ: ceftazidim, CTX:cefotaxim, FEP:cefepim, IPM:imipenem, CIP:ciprofloxacín,, GE: gentamicin, TOB: tobramycin, AMK:Amikacin, SUM: sumetrolim, TET: Tetracyclin

3. ábra

Az ábrából levonható következtetések:

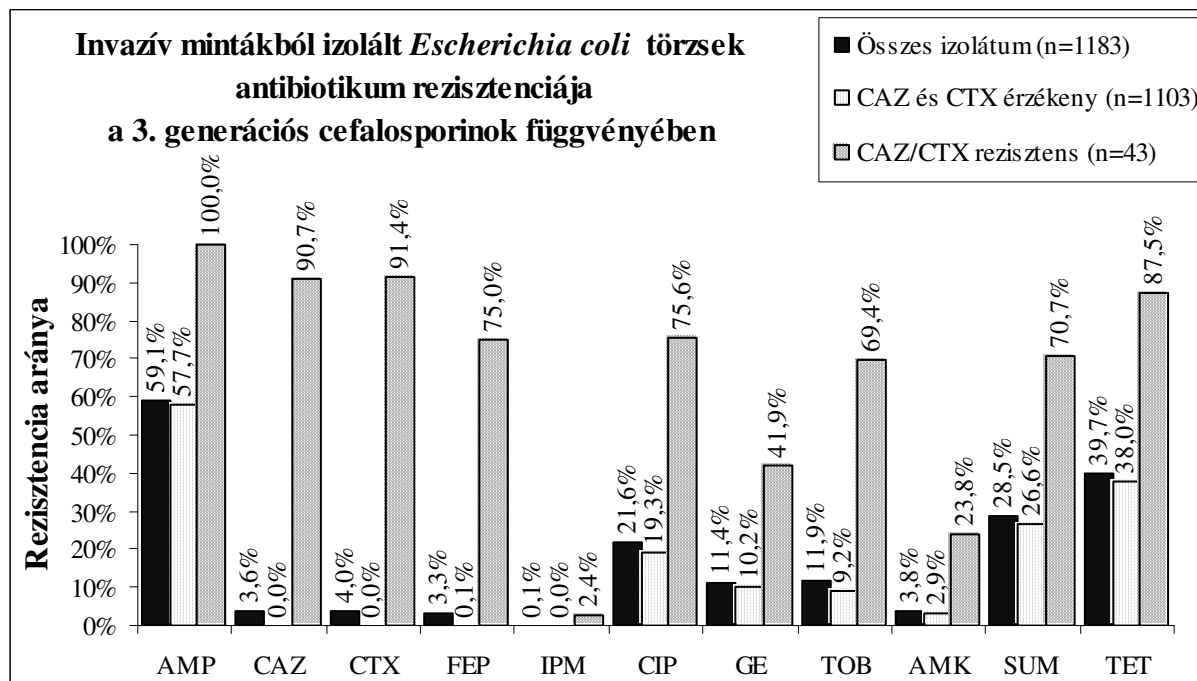
- korábbi évekhez hasonlóan az összes izolátumra vonatkozóan a *K. pneumoniae* jóval rezisztensebb a 3. gen. cefalosporinokkal szemben, mint az *E. coli*,
- az összes izolátumban a ciprofloxacín rezisztencia aránya közel azonos a két speciesnél,
- az aminoglikozidokkal szemben a *K. pneumoniae* rezisztensebb, mint az *E. coli*.
- a 3. gen. cefalosporinokra rezisztens törzseket vizsgálva (minden 3. oszlop) mindkét species igen magas rezisztenciát mutat a többi antibiotikum csoporttal szemben is.
- mindkét species esetében jóval gyakrabban fordul elő a ciprofloxacín rezisztencia a 3. gen. cefalosporinnal szemben rezisztens törzseknél, mint az érzékenyek esetében. Annak ellenére, hogy ciprofloxacín rezisztencia, az esetek döntő többségében kromoszómális mutáció eredménye, és nem kapcsolódik az ESBL-gént hordozó plazmidhoz (ami gyakran előfordul az aminoglikozid, tetracyclin, vagy a sumetrolim rezisztenciánál).

A 4. és 5. diagramon a mikrobiológiai surveillance-ban szereplő invazív mintákból izolált *K. pneumoniae* és *E. coli* törzsek antibiotikum rezisztenciáját ábrázoltuk.



CAZ: ceftazidim, CTX:cefotaxim, FEP:cefepim, IPM:imipenem, CIP:ciprofloxacín, GE: gentamicin, TOB: tobramycin, AMK:Amikacin, SUM: sumetrolim, TET: Tetracyclin

4. ábra



AMP: ampicillin, CAZ: ceftazidim, CTX:cefotaxim, FEP:cefepim, IPM:imipenem, CIP:ciprofloxacín, GE: gentamicin, TOB: tobramycin, AMK:Amikacin, SUM: sumetrolim, TET: Tetracyclin

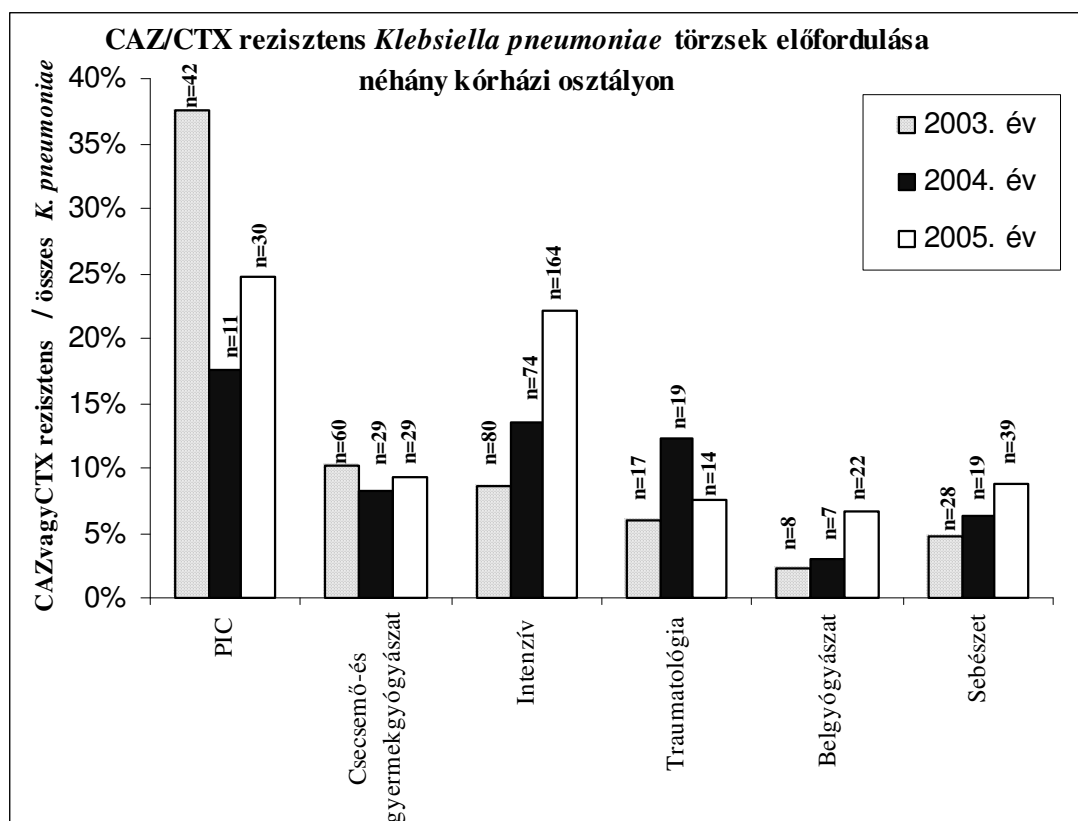
5. ábra

Összehasonlítva az invazív és az összes izolátum rezisztenciáját azt látjuk, hogy az invazív izolátumok általában rezisztensebbek. A *K. pneumoniae* esetében az összes izolátum és az invazív izolátumok rezisztenciájában jelentősebb a különbség, ezt az *E. coli* esetében nem tapasztaltuk.

Az invazív mintákból izolált *K. pneumoniae* esetében az imipenemen és az amikacinon kívül minden más vizsgált antibiotikummal szemben 20% feletti rezisztencia tapasztalható. Bár az egyes egészségügyi intézményekben a helyi rezisztencia viszonyok országos átlagtól eltérőek lehetnek, mégis ennek alapján számos helyen megkérdőjelezik ezeknek az antibiotikumoknak az empirikus terápiában való használhatóságát.

Az adatok feldolgozásánál kitűnt néhány antibiotikum rezisztencia vizsgálati eredmény, mely valószínűleg helytelen metodika/interpretálás eredménye lehetett. Többször előfordult, hogy a CAZ és a CTX rezisztencia vizsgálati eredménye eltért egymástól. Emellett előfordult néhány esetben –ez a diagramokon is látszik-, hogy karbapenem rezisztens eredményt adtak ki. Ezek jó részében a cefalosporinok érzékenyként szerepeltek, és csak egy-két esetben volt az összes vizsgált β -laktámmal szemben is rezisztens a törzs. Feltehetően az esetek egy része elírás. A lehetséges rezisztencia mechanizmusok figyelembe vételével ilyenkor meg kell ismételni a vizsgálatot. A szokatlan antibiotikum rezisztenciájú törzseket (pl. karbapenem rezisztens) kérjük, küldjék be további vizsgálatra az OEK Bakteriológiai I. osztályára.

Az 6. diagramon látható, hogyan változott 2003-2005 között a CAZ/CTX rezisztens *K. pneumoniae* törzsek aránya azokon a kórházi osztályokon, ahol az utóbbi években ESBL-termelő kórokozók okoztak járványt.



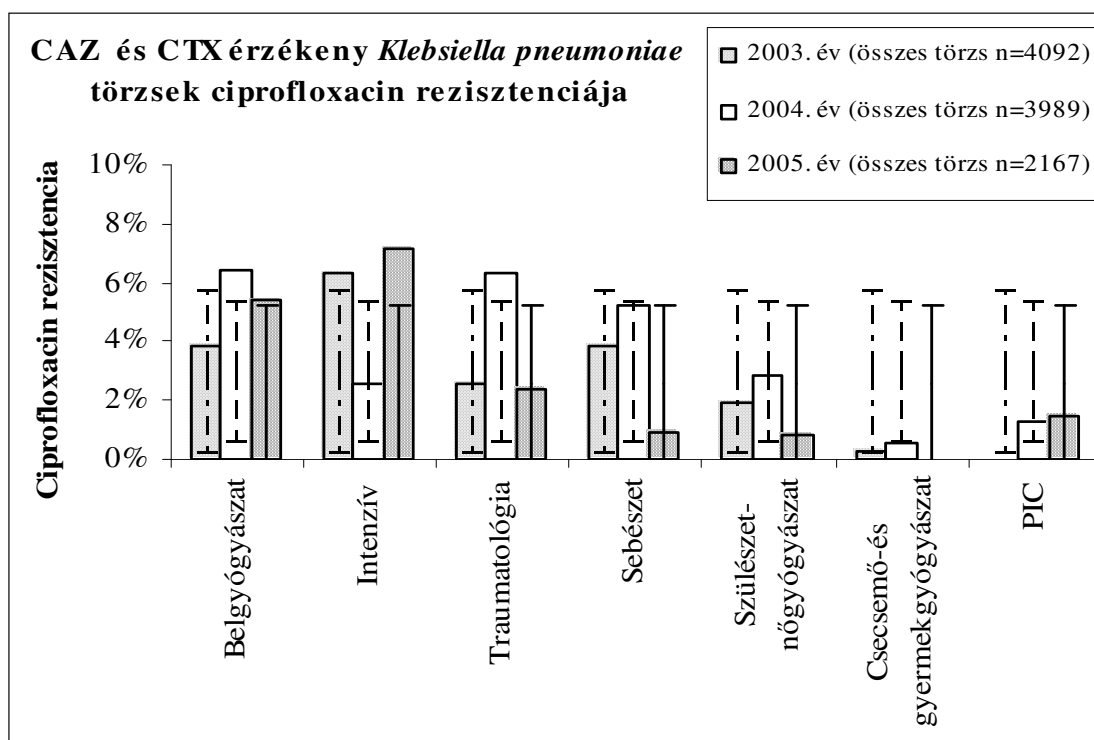
n= CAZ/CTX rezisztens *K. pneumoniae* törzsek száma az osztályon

6. ábra

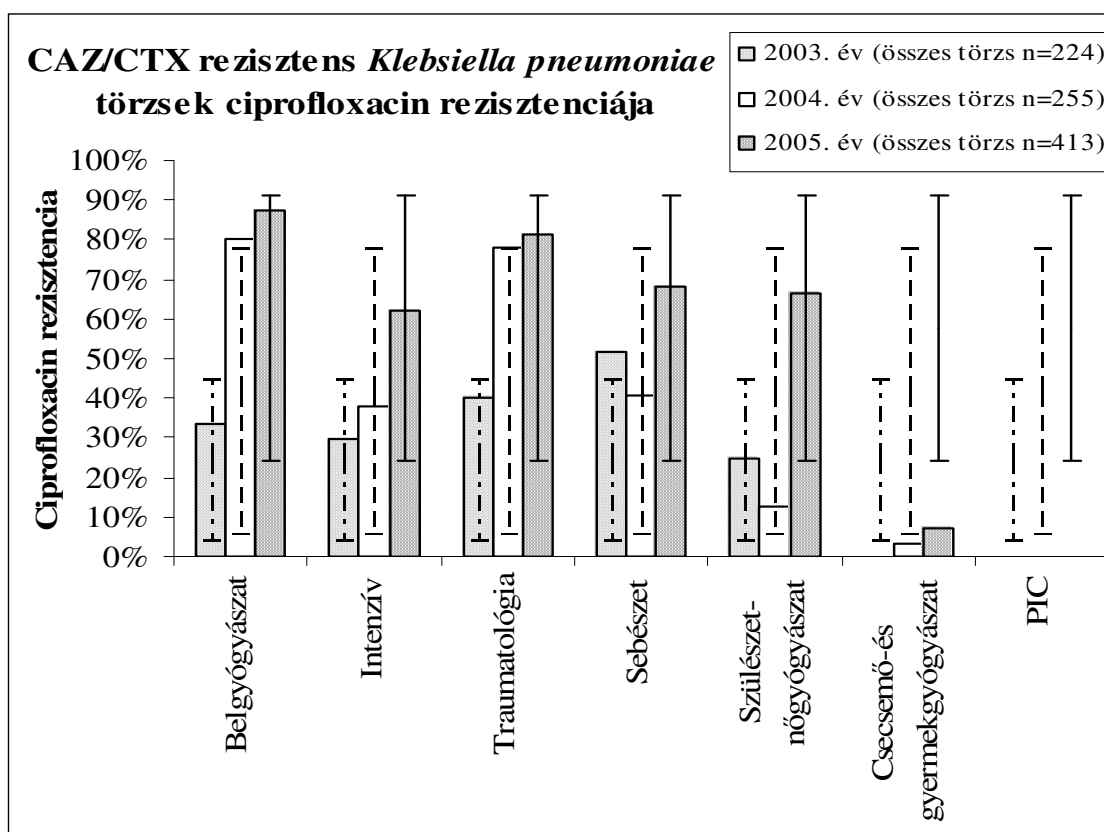
A surveillance adatai alapján az utóbbi években a PIC és intenzív osztályokon kívül nem változott jelentősen a CAZ/CTX rezisztens törzsek aránya. A PIC részlegeken 2003-ban több ESBL-járvány is volt, 2004-2005-ben a járványok száma csökkent, és ez a rezisztencia mértékében is megmutatkozik. A fenti ábrán látható, hogy az intenzív osztályokon 2005-ben az ESBL-törzsek száma emelkedett, ez összefüggésbe hozható a bejelentett járványok számának növekedésével.

A továbbiakban a CAZ/CTX rezisztens törzsek ciprofloxacinnal szembeni rezisztenciáját kívánjuk részletesen elemezni.

A 7. és 8. diagramon ábrázoltuk a 3. gen. cefalosporinokra érzékeny ill. rezisztens törzsek ciprofloxacinnal szembeni rezisztenciáját néhány kórházi osztályon. Az oszlopokon látható függőleges szakaszok az összes ciprofloxacinnal vizsgált törzs átlagos rezisztenciájától való átlagos eltérést (szórását) mutatják. Ennek mértékéből következtethetünk arra, hogy az adott évben milyen volt a ciprofloxacinnal szembeni rezisztencia az összes izolátum esetében. Minden osztálynál az első oszlop a 2003. a második oszlop a 2004. és a harmadik oszlop a 2005. év adatait ábrázolja.



7. ábra



8. ábra

K. pneumoniae esetében már 2003-ban is jóval rezisztensebbek voltak a CAZ/CTX rezisztens törzsek ciprofloxacinnal szemben, mint az érzékenyek. A 3. gen. cefalosporinokkal szemben rezisztens törzseknél –a PIC és csecsemőosztályok kivételével– évről-évre emelkedett a ciprofloxacinnal szembeni rezisztencia. A belgyógyászat és traumatológia osztályokon 2004-ben elérte ~80%-os rezisztenciát.

Ennek alapján elmondhatjuk, hogy 2003-2005 között a CAZ és CTX érzékeny *K. pneumoniae* törzseknél nem tapasztaltunk jelentős eltérést az összes izolátum ciprofloxacinnal szembeni rezisztenciájában, míg a CAZ/CTX rezisztens törzseknél évről-évre nőtt a fluoroquinolon rezisztencia. Minden csoportnál jól elválnak a csecsemő- és gyermekosztályok a többi osztálytól, a ciprofloxacinnal szembeni rezisztencia ezeken az osztályokon jóval az átlag alatt van. Ez összefügghet azzal, hogy a csecsemő- és gyermekosztályokon általában nem alkalmaznak fluoroquinolonokat, míg a felnőtt osztályokon a β -laktámok mellett igen gyakran alkalmazott szerek.

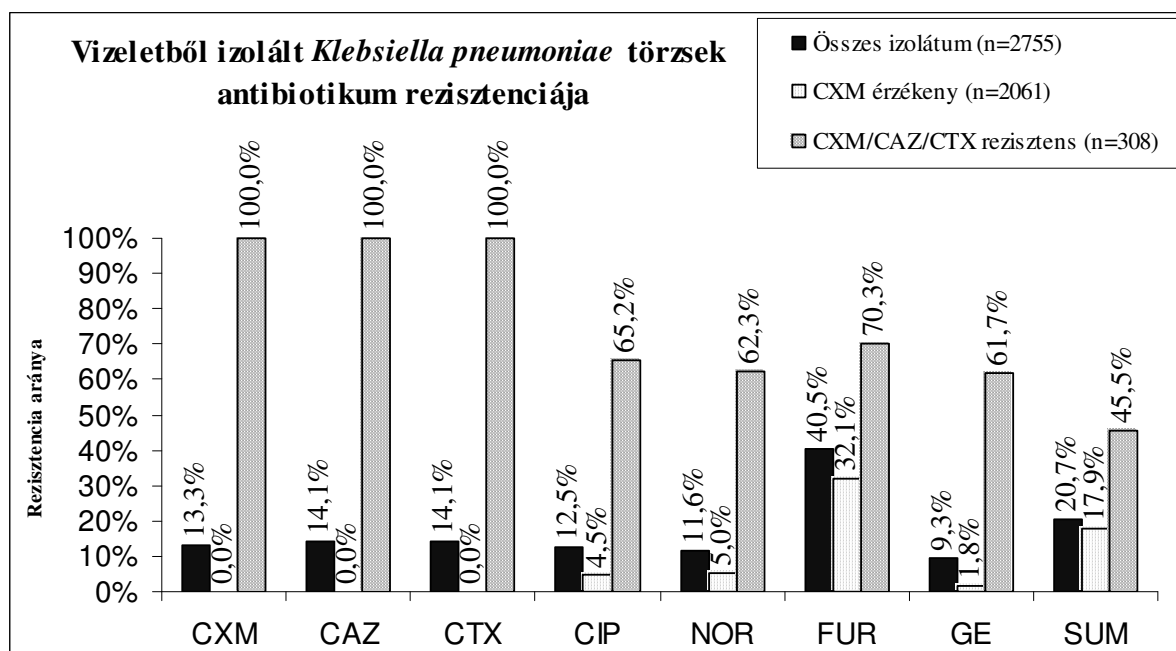
Az 6. ábrára visszautalva azt is elmondhatjuk, hogy a ciprofloxacinnal szembeni rezisztencia emelkedése a 3. gen. cefalosporinnal szemben rezisztens törzsek esetében nemcsak az ESBL-termelő izolátumok számának növekedésével magyarázható, hanem a fluoroquinolonnal szembeni rezisztens törzseknek az érzékenyekkel szembeni térhódításával is.

Az ESBL-termelés és a ciprofloxacinnal szembeni rezisztencia együttes előfordulása nemzetközi szinten is nagy problémát jelent. Külön előadás foglalkozott a témával a ESCMID ESBL Konferenciáján (Velence, 2006. május 29-31.), ahol elhangzott, hogy egy 1999-2001 között USA-ban elvégzett vizsgálat szerint az ESBL-termelő kórokozóval való fertőzésre a quinolon terápia nagyobb kockázatot jelent, mint a 3. gen. cefalosporinokkal való kezelés.

A fentiekben bemutatott mikrobiológiai surveillance adatok vizsgálata alapján tehát levonhatjuk azt a következtetést, hogy **Magyarországon az utóbbi években a 3. generációs cefalosporinokkal és ciprofloxacinnal szemben együttesen rezisztens *Klebsiella pneumoniae* törzsek terjednek, és bizonyos helyeken felváltották a korábbi, csak 3. gen. cefalosporinokra rezisztens izolátumokat.**

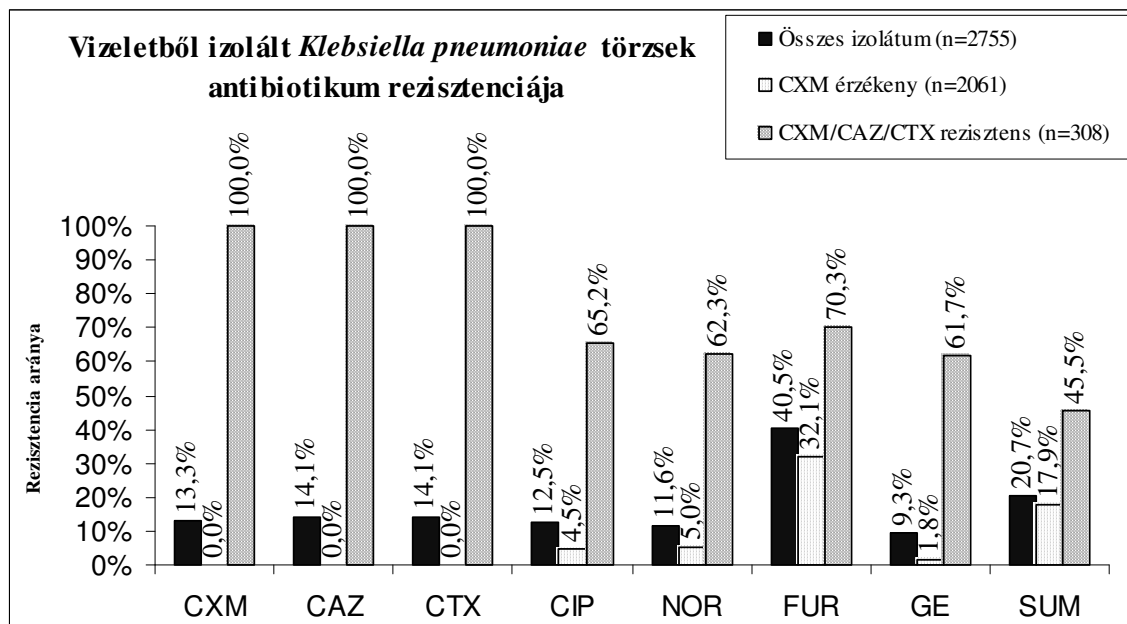
A bevezetőben feltett kérdésre válaszolva megállapíthatjuk, hogy a surveillance adatok elemzésével kapott eredmények alátámasztják az ESBL-termelő kórokozók Nemzeti Referencia Laboratóriumában és a Fágtípezési és Molekuláris Epidemiológiai osztályon végzett vizsgálatokból levonható következtetéseinket.

Végül két ábrát (9. és 10. ábra) mutatunk be a vizeletből izolált *E. coli* és *K. pneumoniae* antibiotikum rezisztenciájára. Az ESBL-termelés gyanúját ebben az esetben nehezebb behatárolni. Elsődleges szempontnak a cefuroxim (CXM) rezisztenciát választottuk, és ahol lehetett kiegészítettük CAZ/CTX rezisztenciával.



CXM:Cefuroxim, CAZ: ceftazidim, CTX:cefotaxim, CIP:ciprofloxacinn, NOR: Norfloxacinn, FUR: Nitrofurantoin, GE: gentamicinn, SUM: sumetrolim

9. ábra



CXM:Cefuroxim, CAZ: ceftazidim, CTX:cefotaxim, CIP:ciprofloxacín, NOR: Norfloxacín, FUR: Nitrofurantoin, GE: gentamicin, SUM: sumetrolim

10. ábra

A vizeleteknél az ESBL-termelés felismerésének legegyszerűbb módja a cefpodoxim rezisztencia vizsgálata. Javasoljuk a laboratóriumoknak a cefpodoxim korong felhelyezését az antibiotikum érzékenység vizsgálatára használt MH táptalajra.

A szerző elérhetősége: Tóth Ákos (tothakos@oek.antsz.hu)

Tisztelt Kollegák!

A továbbiakban szeretnénk felhívni figyelmüket a Frank Diagnosztika Kft. által forgalmazott két termékre:

1. A MAST diagnosztika, már bevezetett ESBL fenotípusos meghatározására szolgáló készítményére.
2. A Medical Wire & Equipment: Microring AN a spórát nem képző anaerob baktériumok identifikálását segítő gyors testre.

Kiterjedt spektrumú β -laktamáz (ESBL) termelést identifikáló korongok

Escherichia coli, *Klebsiella* spp. és indukálható AmpC-vel rendelkező Enterobacteriaceae speciesek ESBL termelésének kimutatására szolgálnak. Az ESBL termelő patogének okozta infekciók számának emelkedése fontossá tette, hogy a laboratóriumban gyorsan és pontosan ki tudjuk mutatni az enzim jelenlétét. Az Enterobacteriaceae családba tartozó izolátumok szűrésére a cefpodoxim javasolt (mint az ESBL enzimek legjobb szubsztrátja), vagy a cefotaxim és a ceftazidim együttesen. Ha az izolátumokat rezisztensnek találjuk ezen cefalosporinok bármelyikére, akkor meg kell vizsgálni a cefalosporin/clavulansav kombináció szinergista hatását.

Különböző módszerek léteznek a szinergizmus vizsgálatára, ezek közül egy egyszerű módszer a korong diffúzió alapuló, melyben a cefalosporin korongok körül kialakuló gátlási zóna átmérőjének nagyságát összehasonlítjuk a cefalosporin/clavulansav kombinációját tartalmazó korongéval. Azon izolátumok esetén melyeknél AmpC β -laktamáz termelésére van gyanú, használjuk a cefepim és a cefpirom szinergista tesztet.

A MAST ESBL korongok használatának előnyei:

- alacsony költségekkel jár az ESBL termelés megerősítése
- a választható az antibiotikumok kombinációk összhangban vannak a CLSI előírásaival
- a korongok felhelyezése kényelmes és könnyű

A rendelhető korong kombinációk kódjai:

- D62C 3 x cefotaxime 30
3 x cefotaxime 30/clavulansav 10
- D63C 3 x cefepime 30
3 x cefepime 30/clavulansav 10
- D64C 3 x ceftazidime 30
3 x ceftazidime 30/clavulansav 10
- D65C 3 x cefpirome 30
3 x cefpirome 30/clavulansav 7,5
- D66C 3 x cefpodoxime 10
3 x cefpodoxime 10/clavulansav 1

- D52C 1 x ceftazidime 30
- 1 x ceftazidime 30/clavulansav 10
- 1 x cefotaxime 30
- 1 x cefotaxime 30/clavulansav 10
- 1 x cefpodoxime 30
- 1 x cefpodoxime 30/clavulansav 10

A tárolás és lejárati:

2-8° C-on a címkén feltüntetett lejárati ideig tárolható. Használat előtt hagyjuk szobahőmérsékletűre felmelegedni.

Használat:

1. A baktérium friss, tiszta tenyészetéből készítsünk 0,5 McFarland sűrűségű szuszpenziót
2. Steril vattapálcával egyenletesen vigyük fel a tenyészet szuszpenzióját a rezisztencia agar felszínére (pl. MAST Mueller Hinton Agar DM170D). Alternatívaként használhatjuk a 0,5 McFarland sűrűségű szuszpenzió 1:100-as hígítását MAST Izotóniás Sensitivity Test Agar-on (DM604D) a British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) ajánlásainak megfelelően.

3. Steril tűt vagy csipeszt használva helyezük a korongokat (a csak cefalosporin és a clavulansavval kombináltat) az inokulált táptalaj felszínére úgy, hogy elegendő hely legyen a gátlási zónák kialakulására. Legfeljebb 3 pár MAST ESBL identifikáló korongot helyezünk 9 cm-es petricsészére. A MAST DISCMASTER SYSTEM diszpenzere (MDD6) kényelmessé teszi a felhelyezést.

4. Inkubáljuk a lemezeket 35-37°C-on 18-24 óráig.

5. Mérjük meg a gátlási zónákat.

Az eredmények értékelése: Hasonlítsuk össze a cefalosporin illetve a cefalosporin/clavulansav korong körüli gátlási zónákat (mérjük le az átmérők nagyságát) és értékeljük a használati útmutató kritériumainak megfelelően.

Quality kontroll:

A következő kontroll törzseket használhatjuk:

- | | | |
|--------------------------------|-------------|--------------|
| - <i>Escherichia coli</i> | NCTC 13351 | ESBL pozitív |
| - <i>Escherichia coli</i> | NCTC 13352 | ESBL pozitív |
| - <i>Escherichia coli</i> | NCTC 13353 | ESBL pozitív |
| - <i>Klebsiella pneumoniae</i> | ATCC 700603 | ESBL pozitív |
| - <i>Escherichia coli</i> | ATCC 25922 | ESBL negatív |

(ATCC=American Type Culture Collection)

A kontroll vizsgálatot legalább 1 pozitív és 1 negatív törzzsel végezzük el. Az ESBL negatív törzsnél a csak cefalosporin illetve a cefalosporin/clavulansav kombinációt tartalmazó korongok körüli gátlási zóna azonos, vagy a köztük lévő különbség nem lehet több mint +/- 2 mm. Ennél nagyobb eltérés a negatív kontroll törzsnél hibát jelez! Ne használjuk a tesztet, ha a kontroll törzzsel végzett vizsgálatunk nem megfelelő. Ne keverjük a dobozok tartalmát, csak azonos sarzsokat használjunk.

MW&E

Microrings & Rapid Strip Tests

Microring AN

Egyszerű identifikálási séma anaerob baktériumokhoz

Előnyei:

- *Kedvező árat nyújt a leggyakrabban izolált anaerob baktériumok identifikálására*
- *Könnyen alkalmazható*
- *A gátlási zónák tiszták, egyszerűen interpretálhatók*
- *Nem kíván speciális táptalajt*
- *Egyszerűen kivitelezhető a több korong egy lépésben való felhelyezése*
- *A hagyományos vizsgálatokkal megegyező eredményt ad.*

Microring AN. A gyűrűnek 6 féle antibiotikummal impregnált nyúlványa van az anaerob Gram-negatív specíesek identifikálására és a Gram-pozítív coccusok és Gram-negatív coccusok elkülönítésére.

Gram-negatív anaerob pálcák az anaerobokat is tartalmazó klinikai anyagok több mint felében megtalálhatók. Bár az anaerobok pontos meghatározása nem könnyű, a gyakorlatban a legtöbb csoport presumpatív identifikálása a jellegzetes antibiotikum érzékenységi profil alapján a Microring AN test séma segítségével megtörténhet. Újabban egy új sémát fejlesztettek ki Japánban, kombinálva a Microring AN-ot további tesztekkel, mely sokkal több anaerob identifikálását teszi lehetővé.

Az anaerob gram-pozítív coccusok ugyancsak gyakran megtalálhatók kevert infekciókban. Gyakran megtalálhatók az emberi és állati normál flóra részeként, különösen a bőr, és nyálkahártya felszíneken, úgy mint az oropharinxban, felső légúti, és urogenitális traktusban. Irodalmi adatok szerint megtalálhatók terhes nők hüvelyében 90 % és periodontális mintákban 60% körüli értékben.

Az anaerob Gram-pozítív coccusok nem mindig festődnek egyértelműen. Néhány Gram-negatív coccobacillusnak tűnhet, és egyesek elveszíthetik pozitívításukat a festési eljárás alatt. Ez az oka, hogy más módszerek, mint a **Gram-Test** (aminopeptidase), vancomycin érzékenység, és a KOH-Teszt String-test is használatosak. A Gram-pozítív coccusok pontos meghatározása gázkromatográfiával lehetséges, azonban a presumpatív identifikációra lehetőséget ad a Microring AN séma használata.

Microring® AN Identification

Species / Strain*	E	RP	CO	PG	K	VA	Aesculin hydrolysis	Growth in bile	Indole	Other details
<i>B.Fragilis</i>	S ^R	S	R ^S	R	R	R	+	+	+	
<i>Prevotella melaninogenica</i>	S	S	V	S	R ^S	R	-	-	-	Black pigmented colonies with brick red fluorescence
<i>Prevotella oralis</i>	S	S	S	S	R	R	+	-	-	
<i>B.ureolyticus</i>	S	S	S	S	S	R	-	-	-	Oxidase positive
<i>F.nucleatum</i>	S	S	S	S	S	R	-	-	+	
<i>F.necrophorum</i>	S	S	S	S	S	R	-	-	+	Lipolytic on egg yolk agar
<i>F.varium</i>	R	S	R	S	S	R	-	+	+	
<i>F.mortiferum</i>	R	S	R	S	S	R	+	+	-	
Gram-negative cocci (<i>Veillonella</i>)	S	S	S	S	S	R				
Gram-positive cocci	S	S	R	S	S	S				

E = Erythromycin, RP = Rifampicin, CO = Colistin, PG = Penicillin, K = Kanamycin, VA = Vancomycin.

Microring® AN (GIFU Method)

Recently a new identification scheme has been developed in Japan for use with Microring AN. Prepare bacterial suspension as above, but adjust turbidity to between 1 and 3 McFarland. This ensures adequate visible growth within 48 hours. Using this inoculum, resistance and sensitivity are measured as follows:

Size of zone (mm)	≤10	11-14	≥15
Interpretation	Resistant R	Intermediate I	Sensitive S

Microring® AN Identification (GIFU)

Species / Strain*	E Erythromycin	RP Rifampicin	CO Colistin	PG Penicillin	K Kanamycin	VA Vancomycin
<i>B.Fragilis</i>	V	S	R	R	R	R
<i>Prevotella melaninogenica</i>	S	S	V	S	R ^S	R
Pigmented <i>Prevotella</i>						
<i>Prevotella intermedia</i>	S	S	S	V	R ^S	R
Other Pigmented <i>Prevotella</i>	S	S	S ^R	S ^R	R ^I	R
<i>Prevotella oralis</i>	S	S	S	S	R	R
Non-pigmented <i>Prevotella</i>	S ^{IR}	S	S	R ^S	R	R
<i>Porphyromonas</i>	S	S	R	S ^R	R ^S	V
<i>B.ureolyticus</i>	S ^I	I ^S	S	I ^S	S	R
<i>F.nucleatum</i>	R	S ^I	V	S ^R	S	R
<i>F.necrophorum</i>	R	S ^I	V	S ^R	S	R
<i>F.varium</i>	R	R	V	R ^S	S	R
<i>F.mortiferum</i>	R	R	V	R ^S	S	R
Gram-negative cocci (<i>Veillonella</i>)	I/R	S	S	R	V	R
<i>Campylobacter</i>	S	R	S	R	S	R
<i>B.wadsworthia</i>	R	R	S	R	S	R
<i>Desulfovibrio</i>	S ^R	R ^S	R	R	S	R
<i>C.clostridioforme</i>	V	R ^S	R	R	S ^R	S
<i>C.symbiosum</i>	S/I	S	R	R	S	S
<i>Anaerobiospirillum</i> (isolate)	R	S	S	R	S	R
<i>D.pneumosintes</i> JCM10004T	I	I	R	R	S	R
<i>S.wadsworthensis</i> ATCC51579T	S	S	S	R	S	R
<i>L.buccalis</i> DCM1135T	R	S	S	R	S	R
<i>C.ochracea</i> DCM7272T	S	S	R	I	R	R