



2007. VII. évfolyam 3. szám

Tartalom:

Pillantás a jövőbe

Füzi Miklós

Az OKI/OEK Parazitológiai osztályának tevékenysége (1927-2006)

Az osztályon jelenleg folyó munka bemutatása

Szénási Zsuzsanna

VITEK 2 Compact automatával szerzett tapasztalataink

Szentandrassy Júlia ÁEK Központi Diagnosztikai Laboratórium

Multirezisztens *Pseudomonas aeruginosa* klinikai izolátumok molekuláris epidemiológiája és az antibiotikum terápia egyes lehetőségei

Libisch Balázs, Füzi Miklós

Az ornithosis laboratóriumi diagnosztikai módszereinek fejlesztése II.

A laboratóriumi eredmények interpretációja

Balla Eszter Petrovay Fruzsina

A Mikrobiológiai Körlevél ezen számának megjelenítését a
BIOMÉRIEUX HUNGARIA KFT támogatta

Pillantás a jövőbe

Füzi Miklós

A fényhatás erősíti egyes baktériumok pathogenitását.

A közelmúltban amerikai kutatók kimutatták, hogy egyes baktériumok olyan fényérzékeny hisztidin kináz enzimeket tartalmaznak, amelyek fényenergia hasznosításuk révén növelik a kórokozók pathogenitását. A *Brucella abortus* esetében egyértelműen igazolták, hogy a kórokozó megfelelő hullámhosszú fényvel történő besugárzása mintegy tízszeresére növeli virulenciáját. A fényérzékeny hisztidin kinázokhoz flavin molekula csatlakozik, amely döntő szerepet játszik a fényenergia megkötésében. A fény hatására a molekula konformációja megváltozik, ami egy még nem teljesen ismert mechanizmus révén, a virulencia növekedéséhez vezető láncreakciót indít el. A felfedezés kettős jelentőségű: egyrészt első alkalommal bizonyosodott be, hogy léteznek olyan baktériumok, melyek a fényenergia közvetlen hasznosítására képesek, másrészt beigazolódott, hogy ez az energianyerés igen nagyfokú virulencia növekedéshez vezethet. Mivel számos további baktérium, illetve gomba faj is tartalmaz hasonló enzimeket, könnyen elképzelhető, hogy elterjedt jelenségről van szó, ami igen sok mikroba pathogenitását befolyásolja.

Swartz, TE et al. Science 2007, 317, 1090-93

Sikerült szintetikusán előállítani a *Mycobacterium tuberculosis* különleges sejtfal polysaccharid-ját

Kanadai kutatóknak első ízben sikerült mesterséges úton előállítaniuk a *M. tuberculosis* sejtfalának kizárólag a fajra jellemző úgynevezett „arabinan domain” szakaszát. A 22 arabinan furanoz egységből álló polysaccharid in vitro szintézise különleges felkészülést igényelt. Ilyen nagyméretű polysaccharid mesterséges szintézisére eddig igen kevés példa akadt. Az „arabinan domain” előállítása jelentős előrelépésnek tekinthető a *M. tuberculosis* sejtfal szintézis természetes folyamatának megértésében, ami remélhetőleg nagyban hozzájárul majd újfajta antituberculozicikumok kifejlesztéséhez. Mivel jól ismert, hogy a *M. tuberculosis* rezisztenciája nagymértékben növekedett az elmúlt időben és olyan törzsek is izolálásra kerülnek, amelyek semmilyen antituberculozicikumra sem érzékenyek, az új szerek kifejlesztésére igen nagy szükség lenne.

Joe, M et al. J. Am. Chem. Soc., 2007, 129, 9885 -9901

Az OKI/OEK Parazitológiai osztályának tevékenysége (1927-2006) Az osztályon jelenleg folyó munka bemutatása

Szénási Zsuzsanna

Az Országos Közegészségügyi Intézet létesítéséről szóló 1925. évi XXXI. törvénycikk elfogadását követően megkezdődött a megfelelő szervezeti forma kialakítása. Első igazgatója, dr. Johan Béla kiváló érzéssel ismerte fel, hogy Magyarországnak múlhatatlanul szüksége van egy olyan intézetre, amely a tudomány és a gyakorlat közötti kapcsolaton alapszik.

Az Intézetben 1927. június 1-én kezdődő munka négy osztályra hárult. Johan Béla arra törekedett, hogy az osztályok vezetését elméleti tudással és lehetőleg gyakorlati tapasztalattal is rendelkező, általa alkalmasnak tartott személyre bízta.

A Patohistológiai és parazitológiai osztályvezetői feladatra dr. Lőrincz Ferencet (a Szegedi Tudományegyetem Orvosi Kara Kórbonctani Intézetének tanársegédét) választotta, aki dr. Kotlán Sándor (az állatorvosi parazitológia később világhírű kutatójának, a Magyar Tudományos Akadémia rendes tagjának) irányításával – az OKI-ba való belépése előtt – az Állatorvos-tudományi Főiskola Parazitológiai laboratóriumában szerzett parazitológiai gyakorlatot. Lőrincz Ferenc a feladat elvállalásakor tisztában volt azzal, hogy a humán parazitológia problémaköréről, az emberben és az emberen élősködő állati eredetű kórokozókról, azok morfológiájáról, terjedési lehetőségéről, a mikro- és makroparaziták kórtani és járványtani jelentőségéről még igen kevés ismeret áll rendelkezésre.

Jelen összeállítás a Parazitológiai osztálynak kizárólag a humán orvosi parazitológia, ezen belül a protozoológia és a helmintológia területén 80 év alatt elért eredményeiről ad áttekintést.

Dr. Lőrincz Ferenc (1927-1936)

Kezdetben a hatósági orvosok által kezelt szegény sorsú betegektől származó kórszöveti anyagok vizsgálatával foglalkoztak, majd a rutin laboratóriumi diagnosztikai vizsgálatok mellett megkezdték a főleg klinikai vizsgálatok révén már addig is ismert parazita fertőzések hazai előfordulására irányuló szűrővizsgálatokat. Felderítették a hazai parazitás megbetegedések előfordulási helyét és gyakoriságát, az általuk okozott ártalom mértékét.

Ezek eredményeként már a harmincas évek közepéig aránylag pontos adatokkal rendelkeztek a közönségesen előforduló hazánkban gyakoribb bélparazita fertőzésekről, de foglalkoztak a paraziták elleni védekezés módjaival és azok gyakorlati alkalmazási lehetőségével is.

Az enterális protozoonok közül a *Giardia intestinalis* gyermekek körében 18,3, felnőttekben 2,8%-os előfordulási arányát regisztrálták. A geohelminth fertőzöttség területén folytatott vizsgálataik során az *Ascaris lumbricoides* gyermekekben 17,6, felnőttekben 3,9%-ban, a *Trichuris trichiura* gyermekeknél 23,1, felnőtteknél 6,9%-os gyakoriságban fordult elő. Az enterális helmintek közül kiemelkedően magas volt a kontakt úton terjedő *Enterobius vermicularis* egyes iskolás gyermekközösségekben 50%-ot meghaladó aránya.

A bányászok *Ancylostoma duodenale* előfordulására vonatkozó szűrővizsgálatuk során legfertőzöttebbnek, 75,1 %-os aránnyal a brennbergi bányában dolgozók bizonyultak, a másik négy bányában 1,5-7,9 % közötti fertőzöttséget diagnosztizáltak. Tetrachlor-ethylen gyógyszeres kezelés és mézporral történt talajfertőtlenítés együttes alkalmazásával sikerült az ancylostomosis felszámolása, melynek eredményeként 1939. óta autochton *A. duodenale* fertőzés Magyarországon nem fordult elő (Lőrincz Ferenc, Makara György).

Az ancylostomosis kérdéskörével kapcsolatos hazai tapasztalatokat Lőrincz Ferenc az 1935-ben kiadott, „*Az ancylostomiasis (bányász-aszály) kérdésének mai állása Magyarországon*” című kézikönyvében foglalta össze.

Meglepetésként hatott a malária elterjedtségének megállapítására irányuló vizsgálatok eredménye. Felderítő munkájuk során mód nyílt a malária bejelentések elrendelésére, megkezdődhettek a laboratóriumi diagnosztikai vizsgálatok és lehetővé vált a plasmodiumot átvivő *Anopheles maculipennis* hazai előfordulásának tanulmányozása. A laboratóriumi diagnosztikai vizsgálatok során tisztázódott, hogy a betegségek 90 %-ában a kórokozó a *Plasmodium vivax* (Lőrincz Ferenc, Makara György). A malária elleni küzdelem későbbi sikerességét Lőrincz Ferenc: „A maláriáról” című, 1939-ban megjelent (Makara György fejezeteit is tartalmazó) monográfiája jelentős mértékben megkönnyítette.

Kidolgozták a humán parazitológiai oktatás, majd később az OKI Fiókállomásain dolgozók oktatásának és továbbképzésének tematikáját, de ezen kívül a lakosság számára készített kiadványokkal hatékony egészségnevelő tevékenységet folytattak.

Dr. Lőrincz Ferenc széles látóköre, nagy tudása, jelentős munkabírása, kiváló emberi kapcsolatai, szeretetreméltó egyénisége tette lehetővé – 1936-ban a Szegedi Tudományegyetem Közegészségtani és kórtani tanszékre történő egyetemi tanári kinevezéséig – az osztály sokszínű, nemzetközi elismerést is kiváltó sikereit. Elméleti és gyakorlati munkája, kiemelkedő oktató tevékenysége (amit a pesti Egyetem orvosi parazitológiai tárgykörű magántanári címmel honorált) alapján elvülhetetlen érdemei vannak az emberi megbetegedéseket és egészségügyi ártalmakat okozó parazita egysejtűek, férgek

és ízeltlábúak elleni küzdelem, a hazai orvosi parazitológiai munka megalapozásában és elindításában.

Az OKI-ból történő távozását követően, 1967-1972 között a Magyar Parazitológiai Társaság elnökeként, majd haláláig (1986) tiszteletbeli elnökeként bölcs, megfontolt tanácsaival élete végéig hozzájárult a hazai humán parazitológiai problémák megoldásához.

Dr. Makara György (1937-1944)

Az osztály vezetését az 1934-től Lőrincz Ferenc mellett adjunktusi beosztásban dolgozó Makara György vette át, aki részben a malária elleni küzdelemben, részben a protozoológiai és a helmintológiai kutatásban szerzett a humán orvosi parazitológiában múlhatatlan érdemeket. Szavai jellemzik leghívebben az osztálynak, – a nehéz történelmi körülmények ellenére is – töretlen, lelkes tevékenységét: „A munkának igazi lendülete volt. Minden hónapban, minden félévben történt valami nagyon fontos. Nemcsak nekem fontos, hanem az egész országnak” „Ami a közegészségügy terén történt, az bármelyik országnak, bármilyen korban becsületére vált volna.”

A malária kutatás területén, az átvivő szúnyogok tanulmányozása eredményeként bizonyítást nyert, hogy maláriát az *A. maculipennis*, a *messeae* és az *atroparvus* terjeszti. A felmérő munkát követte a malária ellenes küzdelem alapelveinek a megfogalmazása, amelyek közvetlen és közvetett eljárásokra tagolódtak. A közvetlenek közé tartoztak mindazok a módszerek, amelyek a kórokozó elpusztítását célozták, részben a betegek gyógyszerelése, részben a plasmodiummal fertőzöttek lakásában meghúzódó szúnyogok pusztítása révén. A közvetett eljárás a szúnyogtenyésztő-helyek lecsapolását, a lárvák, bábok különböző irtószerekkel, valamint természetes ellenségeikkel való pusztítását jelentette (Makara György, Zoltai Nándor, Mihályi Ferenc).

Makara György nevéhez több jelentős eredmény fűződik, így többek között az ancylostomosis elleni küzdelem befejezése (a bányász-aszály asszanációja), több hazai bélférgesség fontos epidemiológiai sajátságainak felderítése, a malária-ellenes kampányban pedig (már 1942-ben!) a DDT korszakalkotó jelentőségének felismerése, továbbá az endémiás területeken létesített 7 Malária Állomás kialakítása és működésük beindítása.

Mihályi Ferencsel közösen elkészített „Rovarok és betegségek” című, 1943-ban megjelent monográfiája mind a mai napig a hazai orvosi entomológia alapját jelenti.

Dr. Zoltai Nándor (1945-1971)

Az osztály vezetését a háborút követően Makara György munkatársa, Zoltai Nándor vette át, akinek az OKI-ban 1936-tól végzett munkáját olyan eredmények mutatják, mint a magyarországi autochton malária esetek eradikációja, illetve a Közegészségügyi-Járványügyi Állomások (KÖJÁL)

parazitológiai laboratóriumi hálózatának kialakítása. Tudományos tevékenységét a Magyar Tudományos Akadémia 1959-ben az orvostudomány kandidátusa, oktató tevékenységét az Orvostovábbképző Intézet 1968-ban címzetes egyetemi docensi címmel ismerte el.

Kezdetben a háborús körülmények a malária elleni küzdelem sikerét hátrányosan befolyásolták, sőt Békés, Bács, Pest és Veszprém megyében újabb góccok alakultak ki, ami a védekezési munka meggyorsítását indokolta. A malária gócos előfordulási területein a DDT-vel történő permetezés, valamint prolongált és recidivaellenes gyógyszeres kezelés került bevezetésre (Zoltai Nándor, Sztankayné Gulyás Magda, Mihályi Ferenc).

A munka eredményességének fokozása érdekében továbbképző tanfolyamokat szerveztek, a gyakorlati munkát pedig módszertani útmutatók kiadásával segítették (Zoltai Nándor, Sztankayné Gulyás Magda).

A komplex tevékenység hatására a malária megbetegedések száma évről-évre csökkent és 1961-től kezdve már csak import esetek fordultak elő. 1963-ban a WHO Magyarországot malária mentessé nyilvánította.

A községi kórorvos tanfolyamokon elindított parazitológiai előadások folytatódtak, majd később az Orvostovábbképző Intézetben részesültek az orvosok alap-, illetve továbbképzésben.

Az osztály szervezte meg a KÖJÁL-ban a parazitológiai laboratóriumok hálózatát, ami a helyi szükségletnek megfelelően lehetővé tette megfelelő számú parazitológus munkába állítását, akiknek kiképzése az osztályon történt.

Az 1950-es évek közepétől intenzívebb protozoológiai és helmintológiai tevékenység kezdődött, amelyhez már a KÖJÁL hálózat parazitológiai laboratóriumai is jelentős segítséget nyújtottak.

Protozoológiai témakörben az amoebosissal kapcsolatos vizsgálataik során az *Entamoeba histolytica* diagnosztikájában a tenyésztéses módszert vezették be. Megállapítást nyert, hogy a hazai *E. histolytica* törzsek fakultatív patogének, és szerepet játszanak a bakteriális dizentéria súlyos tüneteinek kialakulásában. Rámutattak a fertőzés családon belüli halmozódására. Klinikusokkal együttműködésben az amoebosis terápiás hatásfokának növelése érdekében számos gyógyszerhatékonysági vizsgálatot végeztek (Zoltai Nándor, Jankó Mária).

A *Giardia intestinalis* magas, 14,5%-os fertőzöttségi aránya indokoltá tette a kórokozó patológiai jelentőségének, klinikai tüneteinek és gyógykezelésének tanulmányozását. A metronidazol kúraszerű alkalmazásával 97,2%-os, a tinidazol egy dózisú használatával 90%-os fertőzésmentességet értek el. A kiváló hatásfokú gyógyszerek birtokában a területi intézetek parazitológiai laboratóriumai eredményes asszanációs tevékenységet folytathattak (Jankó Mária).

Vizsgálatokat végeztek a *Trichomonas vaginalis* okozta nosocomialis fertőzések gyakoriságának megállapítására, a klinikai tünetek és szöveti elváltozások mértékének felmérésére, a terápiában pedig bevezették az egydózisú kezelést. Fog- és szájbeteggek parazitológiai vizsgálata során 30%-os fertőzöttséget diagnosztizáltak, ezért e megbetegedések kialakulásában felhívták a figyelmet az *Entamoeba gingivalis* és a *Trichomonas tenax* jelentőségére (Jankó Mária).

A toxoplasmosis témakörében szeroepidemiológiai vizsgálattal a fertőzöttség mértékét határozták meg. Megállapították, hogy a *Toxoplasma gondii* fertőzések zöme 10-20 éves korban történik és 60 éves koráig hazánk lakosságának 56,8%-a fertőződik. Tanulmányozták a fertőzés jelentőségét a spontán abortuszok létrejöttében, valamint a kongenitális toxoplasmosis kialakulásában. Klinikusokkal együttműködésben képet kaptak a toxoplasmosis kórképeinek gyakoriságáról. Az ELISA IgM és IgG *Toxoplasma* ellenanyag meghatározás bevezetésével és alkalmazásával kidolgozták a terhesek szűrővizsgálatára alkalmas modellt, a fertőzés megelőzésének módjairól lakossági tájékoztatót készítettek. A parazitológiai laboratóriumok közreműködésével több megyében végeztek vizsgálatot, melynek eredményeként megállapították, hogy a terhesség folyamán az anyák 0,6%-a fertőződik, míg a fertőzést átvészeltek aránya 44,7% (Zoltai Nándor, Jankó Mária).

Az osztály helmintológiai munkájának alapját a parazitológiai laboratóriumokkal együttműködésben az enterális helmintek országos elterjedtségének felmérése képezte. A vizsgálat eredménye azt mutatta, hogy hazánkban az *E. vermicularis* fertőzés a leggyakoribb. A peték szóródása következtében, az auto-reinfekció tartós fennállása miatt, nem volt ritka a gyermekközösségek 40-60%-os fertőzöttsége. A gyógyszerhatékonysági vizsgálatokat követően először a piperazin-adipát, majd a mebendazol kezelést vezették be. Az utóbbi, kiváló hatásfokú anthelmintikum birtokában az osztályon kidolgozott periodikus kezelési eljárással eredményes asszanációs munka vált lehetővé (Bánki György, Lengyel Anna).

A geohelmintek között a *Trichuris trichiura* fertőzés gyakorisága dominált, egyes területeken endémiás közösségek fordultak elő. A fertőzések felszámolásában – a féreg biológiai és patogenitási sajátásaiból adódóan – legfőbb gondot a használt terápeutikumok alacsony hatásfoka jelentette. Megoldást a mebendazol megjelenése hozott, melynek hazai bevezetését megelőzően a gyógyszer hatásfokának, valamint adagolásának megállapítására klinikusok közreműködésével végeztek vizsgálatokat. A kidolgozott eljárással a gyakorlatban 72%-os parazitamentesség volt elérhető (Lengyel Anna).

A felmérő munka során kiderült hogy hazánk hegyes-dombos területein gyakori az *Ascaris lumbricoides* göcos előfordulása, melynek csökkentése érdekében a féregpete embrionálódásának paramétereit modell és területi

kísérletekben vizsgálták. Kidolgozták a levamizol tömegkezelésre!?! alkalmas módszerét, melynek eredményeként, a talajfertőtlenítéssel kiegészített gyógyszeres kezeléssel az endémiás településeken sikerült a fertőzés előfordulási arányát 71%-ról 5%-ra csökkenteni (Lengyel Anna).

A geohelmintek csoportjába tartozó *Strongyloides stercoralis* észak-magyarországi halmozott előfordulása indokolta a parazita járványügyi sajátosságainak, klinikai tüneteinek és terápiájának vizsgálatát. A KÖJÁL-ok parazitológiai laboratóriumaival együttműködve megállapították, hogy hazánkban a fertőzés létrejöttében elsősorban a széklettel való közvetlen érintkezésnek és nem a talajban lefolyó indirekt szaporodási ciklusnak van jelentősége. A strongyloides göcöket, klinikusok közreműködésével, a hazánkban első alkalommal használt thiabendazollal sikerült felszámolni (Bánki György, Lengyel Anna).

Dr. Jankó Mária (1972-2001)

Zoltai Nándor váratlan halálát követően az osztály vezetését Jankó Mária vette át, amit megkönnyített, hogy az osztály széleskörű rutin tevékenysége alapján a parazitológia minden szakágára kellő rálátása volt. Nevéhez, az Intézetben (OKI/OEK) eltöltött közel 50 éves (1952-2001) munkaviszonyához fűződik a vér és szöveti egzotikus parazitózisok korszerű vizsgáló eljárásainak, valamint a klinikusokkal együttműködésben az asszanációs céllal történő gyógyszerhatékonysági vizsgálatok bevezetése, a parazitózisok előfordulási gyakoriságának megállapítására szolgáló országos szűrővizsgálatok megszervezése és az ún. körvizsgálatok kezdeményezése. Tudományos munkásságáért és oktató tevékenységéért az Orvostovábbképző Intézet 1983-ban címzetes egyetemi docensi címet adományozott.

Irányításával a szöveti helminthosis diagnosztikájának fejlesztése került előtérbe. Trichinellosisban a szerodiagnosztika bevezetését hazánk enzoociás területeiről (Borsod, Heves, Szabolcs, Veszprém és Pest megyéből) kiinduló járványok indokolták. A különböző (IHA, KKR, lárva mikroprecipitáció) reakciókkal végzett összehasonlító vizsgálatok eredménye alapján legmegfelelőbbnek a mikroprecipitációt találták. A szerodiagnosztika alkalmazása lehetővé tette a fertőzés korai felismerését és alapul szolgált a még csak enyhe tüneteket mutató betegek thiabendazol kezelésének időben történő megkezdéséhez. A trichinellosis korai diagnózisának felállítása, valamint a thiabendazol terápia bevezetése óta hazánkban halálos kimenetelű trichinella fertőzés nem fordult elő. Az ELISA IgG technika bevezetésével mód nyílt nagyobb számú vizsgálat egyidejű végzésére, mely lehetővé tette a korábbiakban fertőzöttek specifikus ellenanyag szintjének felmérését. Vizsgálataik eredményei alapján megállapították, hogy az átvészelték 64,7%-

ában, a fertőzést követő harmadik évben is, különböző értékben antitest mutatható ki (Bánki György, Lengyel Anna, Danka József).

Az echinococcosis szerodiagnostikát KKR vizsgálatokat – amit az OKI Szerológiai osztálya már 1934-től végezett – 1978-tól az osztály vett át. A mindössze 50%-os diagnosztikai hatásfok indokoltta tette újabb módszerek kipróbálását. A KKR és az IHA módszerrel, majd később az ELISA IgG technikával összehasonlító vizsgálatokat végeztek. Az eredmények arra utaltak, hogy az echinococcus fertőzés igazolása, 80%-os hatásfokkal, leginkább az IHA és az ELISA IgG módszer parallel alkalmazásával közelíthető meg (Lengyel Anna, Danka József).

Az 1970-es évek közepén került az érdeklődés homlokterébe a humán larvális toxocarosis kóroktani és járványügyi jelentősége. A *Toxocara* sp. fertőzés diagnosztikája érdekében a lárva mikroprecipitációt, majd az ELISA IgG technikát vezették be. A módszerek birtokában a diagnosztikai munkán túlmenően vizsgálták az ellenanyag perzisztenciát, az életkori incidenciát, valamint a klinikai tünetek megoszlását. A későbbiekben az ország különböző területeiről érkezett vérmintákból szeroepidemiológiai szűrővizsgálatot végeztek. A vizsgálat eredményei arra utaltak, hogy a fertőzöttség a 3-10 éves korúak körében a leggyakoribb (9,5 %), de a hátrányos helyzetűek esetén a 23,5 %-ot is eléri (Lengyel Anna, Danka József).

A hazánkban is diagnosztizált AIDS-es betegek növekvő száma előtérbe helyezte a korábban nem patogénnek minősített opportunistá protozoonok (*Pneumocystis carinii* /most: *Pneumocystis jirovecii*/, *Cryptosporidium* sp.) kimutatásának tanulmányozását. A *P. carinii* morfológiáját és diagnosztikáját patkányokban mesterséges úton létrehozott fertőzés alapján vizsgálták, a *Cryptosporidium* sp. kimutatásának módszerét pedig az állatorvosokkal együttműködésben dolgozták ki (Jankó Mária).

Az osztály látta el a vér és szöveti egzotikus parazitózisok (pl. malária, trypanosomosis, schistosomosis stb.) diagnosztikáját. E munkán túlmenően részt vettek a trópusi és szubtrópusi területekről hosszabb időtartamra hazánkba érkező külföldiek, valamint a tartós kiküldetésből szabadságra vagy véglegesen hazaérkezett magyarok enterális parazita fertőzöttségi vizsgálatában.

A hazai szennyvíztisztító berendezések parazita ellenes hatékonyságának vizsgálatával összefüggésben, az új magyar szennyvízvizsgálati szabványhoz a parazitológiai vizsgálatok normáit világviszonylatban elsőként készítették el.

Megszervezték és 25 éven át folytatták a KÖJÁL-ok parazitológiai laboratóriumainak rendszeres helyszíni ellenőrzését, végezték az ott dolgozók alap- és továbbképzését.

Dr. Szénási Zsuzsanna (2002-)

Az osztályon jelenleg folyó munka bemutatása

Jankó Mária nyugdíjba vonulását követően az osztály vezetését Szénási Zsuzsanna a Szegedi Orvostudományi Egyetem Mikrobiológiai tanszékének egyetemi docense vette át, aki 1978-84-ig a Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem Központi Klinikai Mikrobiológiájának szerológiai fejlesztő laboratóriumában dolgozott biológusként. Tudását az OKI-ban Koller Miklós és Mezei Ilona mellett mélyítette el, akiknek szakmai tudása és emberi magatartása példaképül szolgált a kezdő diplomás számára. 1985-1993 között az ÁNTSZ (KÖJÁL) Csongrád Megyei Intézetében főmunkatársként a megyei Parazitológiai Laboratóriumot vezette. Parazitológiai ismereteit az OKI Parazitológiai osztályán szélesítette, majd Jankó Mária bevonta az általa felügyelt KÖJÁL-ok parazitológiai laboratóriumainak ellenőrzésébe. 1993-ban Nagy Erzsébet visszahívta az általa vezetett Központi Klinikai Mikrobiológiai Laboratóriumba, ahol 1993-98 között egyetemi adjunktusként, majd 1999-től kezdve egyetemi docensként a Parazitológiai-Szerológiai Laboratórium munkáját vezette. 1983-ban „summa cum laude” minősítéssel egyetemi doktori címet szerzett. 1984-ben angol, 1989-ben pedig orosz nyelvből középfokú állami nyelvvizsgát tett. 1998-ban Ph.D. fokozatot szerzett. Tudományos érdeklődése a parazitológia, bakteriológia és mikológia egyes immunológiai, epidemiológiai és infektológiai problémáira terjedt ki. A parazitológia területén foglalkozott a toxoplasmosis immunológiájával és epidemiológiájával: ennek keretében új szerológiai (western blot módszer, P30 specifikus IgA kimutatás) és molekuláris biológiai módszereket honosított meg és sikeresen megszervezte és -17 éven keresztül vezette- a terhességi és újszülöttkori toxoplasmosis szűrővizsgálatát és prevencióját Szegeden. Az opportunistá patogén „szabadon-élő” amoebák magyarországi előfordulását, a törzsek izolálhatóságát és azonosíthatóságát, humán patogenitását, valamint az amoebák endoszimbiontáinak jelentőségét, új molekuláris biológiai módszerek bevezetésével nemzetközi együttműködés keretében tanulmányozta. Vizsgálta az *Entamoeba*, a *Giardia*, a *Trichomonas* és az *Echinococcus* spp okozta fertőzések laboratóriumi diagnosztikájának és epidemiológiájának egyes problémáit, továbbá a *Legionella* törzsek modern molekuláris biológiai módszerekkel történő kimutatásának és a szabadon-élő amoebákkal való kapcsolatuknak kérdéseit. Tudományos kutatásait több kutatási téma vezetőjeként, hazai és külföldi (japán, koreai, angol, belga) kollaborációk keretében végezte. Többször volt tanulmányúton az NDK-ban, Japánban, Koreában, az Egyesült Királyságban. A Magyar Parazitológusok Társasága főtítkárnak választotta meg, mely tiszteletet jelenleg is gyakorolja. 1992-94 között

tagja volt a Mikrobiológiai Szakmai Kollégium Ellenőrző Bizottságának, 1996-tól tagja a magyarországi laboratóriumok minőségellenőrzését végző QualiCont-nak, 2001-től a Nemzeti Akkreditáló Testület orvosi diagnosztikai laboratóriumminősítő/szakértőinek egyike. 2006-tól a World Federation of Parasitologists elnökségi tagja. 1978 óta részt vesz az orvostanhallgatók magyar, illetve angol nyelvű oktatásában. Több diákkörös hallgatója tartott díjnyertes előadást diákköri konferenciákon és „felnőtt” kongresszusokon is.

Munkatársaival, kezdetben dr. Danka József és dr. Kucsera István szakorvosok, majd Orosz Erika biológus közreműködésével, továbbá PhD hallgatójával közösen az osztály vizsgálati gyakorlatát teljes mértékben átalakította, korszerűsítette.

Felismerte, hogy az orvosi parazitológiai laboratóriumi vizsgálatok végzésének megkerülhetetlen követelménye a klasszikus parazitológiai vizsgáló eljárások tökéletes szintű alkalmazásán túlmenően a modern immunszerológiai és molekuláris biológiai módszerek rutinszerű alkalmazása.

Ennek szellemében a malária mikroszkópos diagnózisának alátámasztására, a vérben levő parazita antigének kimutatására immunkromatográfiás gyorsdiagnosztikai tesztek, a *Plasmodium* DNS kimutatására species specifikus PCR vizsgálatokat vezettek be. A módszertani kiegészítést az indokolta, hogy a mikroszkópos kimutatással a négy *Plasmodium* faj megkülönböztethető ugyan, de a módszer nagy gyakorlatot és sok időt igényel, mivel a mikroszkópos kimutatás érzékenysége a paraziták számának csökkenésével drasztikusan lecsökken. Emellett a mikroszkópos vizsgálat során a kevert fertőzések ritkábban kerülnek felismerésre. Az érzékenyebb PCR vizsgálat nemcsak a malária kórokozója kimutatásának hatékonyságát, hanem a kettős fertőzések diagnosztizálását is jelentősen növelheti. A leishmaniosis és a schistosomosis kimutatására WB IgG módszert vezettek be.

A zoonotikus parazita fertőzések közül:

(1) Az akut és a krónikus *Toxoplasma* fertőzés megbízhatóbb elkülönítésére az IgG aviditási vizsgálatokat, a congenitalis toxoplasmosis hatékonyabb diagnosztizálására molekuláris biológiai vizsgálatokat vezettek be. Régóta ismeretes, hogy a különböző *Toxoplasma* törzsek eltérő virulenciával rendelkeznek. A vizsgálati mintákból származó *Toxoplasma* DNS izolátumok törzstípusának megismerése a kezelés és a lehetséges végkifejlet miatt, továbbá epidemiológiai szempontból igen nagy jelentőségű. Ezért bevezették a SAG2 lókuszt genetikai analízisét is. Adataik azt mutatják, hogy a congenitalis esetekben a megbetegedések többségét a legvirulensebbnek tartott I típusú törzs okozza. Újszülötteknél veleszületett toxoplasmosis gyanúja esetén az anya és az újszülött WB sávmintázatának összehasonlítására a fenti módszereken kívül összehasonlító WB immunprofil módszert is alkalmaznak, amely vizsgálatot 1985-ben Szegeden, a KÖJÁL-ban kezdte el Szénási Zsuzsanna „home made”

western blot rendszert alkalmazva. A congenitalis toxoplasmosis egész Európában komoly problémát jelent. Ez magyarázza, hogy a terhességi *Toxoplasma* (szerológiai) szűrés eredményeire támaszkodva a congenitalis toxoplasmosis anyai-gyermeki átvitelének, klinikai megnyilvánulásainak és a kezelés hatékonyságának tanulmányozására létrejött a **Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis (SYROCOT)** európai szintű tudományos bizottság. A megbízható következtetések levonásához szükséges, igen magas tudományos és gyakorlati kivitelezési követelményeket támaztó válogatás során kritikai analízisre érdemesnek és alkalmasnak tartott 6 tanulmány között volt a Szénási Zsuzsanna által szervezett és végzett szegedi *Toxoplasma* szűrés-sorozat, amely 32.000 várandós anya szerológiai szűrésének eredményét tartalmazta és az ÁNTSZ Csongrád, Fejér és a Megyei Intézetében végzett, több mint 30.000 szűrés adatával egészült ki. Az analízis eredményét a SYROCOT a *Lancet* folyóiratban (2007, 369: 115-122) közölte.

(2) A toxocarosis diagnosztizálására a házilag készített ELISA helyett kereskedelmi forgalomban kapható ELISA módszert vezettek be. Ezentúl, elsősorban az ocularis toxocarosis üvegtesti folyadékából történő igazolására, gyermekeknél pedig az alsó légúti tünetek eredetének tisztázására rátértek a még érzékenyebb Western blot vizsgálat alkalmazására.

(3) Az echinococcosis diagnosztizálásánál az *E. granulosus* és az *E. multilocularis* differenciál diagnosztizálására, valamint a viszonylag gyakori fals negatív vagy fals pozitív szerológiai eredmények kizárására bevezetett Western blot módszerrel Magyarországon emberi *Echinococcus multilocularis* fertőzést elsőként sikerült kimutatniuk.

(4) A *Taenia solium* cysticercosis laboratóriumi diagnosztizálásához az IgG ELISA és IgG WB módszert alkalmazták.

(5) Bevezették a *Giardia intestinalis* 18S rRNS génjére specifikus PCR módszert. Magyarországon kevésbé ismert a kedvenc-állatok *Giardia* fertőzésének prevalenciája. Vizsgálataikkal kimutatták, hogy Magyarországon a kutyákban a *Giardia* gyakori parazita. Mivel ezek szoros közelségben élnek az emberrel, illetve a házi- és haszonállatokkal, így a lehetséges cysta-ürítés nemcsak valamennyi emlős környezetét szennyezi, hanem az ember számára is potenciális fertőzést jelent. Ezért közegészségügyi szempontból szükségesnek tartották a DNS izolátumok molekuláris biológiai karakterizálásával az ember fertőződésének jelentős kockázatát képviselő, zoonotikus potenciállal rendelkező A és B genotípusba tartozó *Giardia* törzsek magyarországi előfordulási arányának és földrajzi elterjedtségének meghatározását. Ennek során olyan izolátumokat találtak, amelyeknek zoonotikus potenciálja lehet.

A további bélprotozoonok székletből történő kimutatása esélyének növelése céljából bevezették a *Cryptosporidium* copro antigén immunkromatográfiás

gyorstesztrel történő kimutatását, továbbá az *Entamoeba histolytica* hemolysint kódoló génjére specifikus PCR módszert.

A humán patogén szabadon-élő amoebák idegrendszeri, szemészeti betegségekben való kimutatására szintén új tenyésztési módszereket alkalmaztak.

Évek óta az osztályon történik a kereskedelmi forgalomban lévő parazitológiai diagnosztikumok tesztelése a használatukra történő javaslattétel érdekében.

Az Orvosi Mikrobiológiai Szakmai Kollégium felkérésére Szénási Zsuzsanna által 2001-ben elkészített és a Kollégium által jóváhagyott a „Szerzett toxoplasmosis laboratóriumi diagnózisa” és a „Várandós anyák *Toxoplasma* szűrése” című protokollokat követően az osztályon folytatták a 2003. óta működő hét, a Nemzeti Referencia Laboratórium tevékenysége körébe tartozó leggyakrabban előforduló parazitózisok:

- I. Toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*)
- II. Trichomonosis (*Trichomonas vaginalis*)
- III. Enterális Protozoon Betegségek (*Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Cryptosporidium parvum*)
- IV. Humán-patogén „Szabadon-élő” Amoebák (*Acanthamoeba* sp., *Naegleria fowleri*, *Balamuthia mandrillaris*)
- V. Enterális helminthosisok (*Enterobius vermicularis*, *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *Strongyloides stercoralis*, *Taenia* sp., *Hymenolepis* sp., *Fasciola hepatica*, *Dicrocoelium dendriticum*)
- VI. Helminthozoonózisok (*Toxocara* sp., *Trichinella* sp., *Echinococcus* sp., *Cysticercus cellulosae*, *Dirofilaria* sp.)
- VII. Egzotikus paraziták okozta megbetegedések (*Plasmodium* sp., *Trypanosoma* sp., *Leishmania* sp., *Onchocerca volvulus*, *Loa loa*, *Wuchereria bancrofti*, *Schistosoma* sp., egyéb mótelyek: *Fasciolopsis buski*, *Paragonimus westermani*, *Opistorchis felineus*, *Clonorchis sinensis*, *Heterophyes heterophyes*, *Metagonimus yokogawai*)

laboratóriumi diagnosztizálására vonatkozó irányelvek kidolgozását.

Ezekbe lehetőség szerint beépítették a referencia, a regionális és az egyéb laboratóriumok közötti munkamegosztást is, amelyeket bizonyos esetekben a fertőző betegségek és a járványok megelőzése érdekében szükséges járványügyi intézkedésekről szóló, a 33/2006. (VIII. 23.) EüM rendelettel módosított 18/1998. (VI. 3.) NM (járványügyi) rendelet is szabályoz.

Külön elkészítették a bejelentendő parazitózisoknál elvégzendő laboratóriumi vizsgálatokra vonatkozó útmutatót, – figyelembe véve az EU esetdefiníciókban szereplő valószínűsítő és megerősítő vizsgálati módszereket – a bejelentendő parazitózisok szerinti felosztásban. (a vizsgálatok regionális és referencia laboratóriumok közötti általuk javasolt megosztását is tartalmazza.) A

parazitológiai vizsgálati anyagokkal és beküldési módjukkal kapcsolatos információkat külön táblázatba foglalták össze (Mikrobiológiai Körlevél, 2006. 6: 2.).

Az osztály működési feltételei folyamatosan javultak, annak köszönhetően, hogy átépítéssel jelentős műszaki átalakítás történt, a berendezések felújítása mellett pedig a műszerállomány mennyiségi, de különösen minőségi megsokszorozása és korszerűsítése is megvalósult. Mindezek a fejlesztések elképzelhetetlenek lettek volna a számítógépes informatikai rendszer modern igényeket kielégítő kiépítése nélkül. Az igen nagy anyagi áldozatokat követelő modernizálás végrehajtásában a PHARE és egyéb pályázati támogatások elnyerése nyújtott segítséget.

Az osztály jelenleg is az ország humán parazitológiai centruma. Regionális, csúcs és referencia laboratóriumként egyaránt működik, ugyanis a humán parazitológiával kapcsolatos vizsgálatok teljes skálája egyedül csak itt található meg. Számos esetben (pl. malária, leishmaniosis, trypanosomosis, trichomonosis, humán patogén „szabadon-élő” amoebák által okozott megbetegedések, entamoebosis, giardiosis, filariosis, dirofilariosis, trichinellosis, strongyloidosis, echinococcosis, schistosomosis, stb.) olyan diagnosztikai és verifikáló vizsgálatot végez, amelyekre a többi parazitológiai laboratórium nincs kellően felkészülve.

A műszerezettség fejlesztése és a személyi állomány felkészítése az osztály egyik legfontosabb feladatának, az akkreditálásának nélkülözhetetlen követelménye volt. Az akkreditálás célja egy olyan minőségirányítási rendszer kialakítása, mely összhangban van a nemzetközi szabványokkal, illetve megfelel az Európai Unió és a Nemzeti Akkreditáló Testület követelményeinek. Ehhez a feladathoz tartozik szorosan az orvosi diagnosztikai laboratóriumi akkreditáló minősítők képzése is. Az ország parazitológiai laboratóriumai közül ezideig csak az osztály 2 munkatársa (Szénási Zsuzsanna, Kucsera István) szerzett akkreditálói minősítő képesítést, de az akkreditálás feltételeinek számító széles módszer-spektrumok is csak az osztályon valósultak meg.

A minőségbiztosítás érdekében rendszeresen részt vesznek a Magyarországon és külföldön szervezett immunológiai és mikroszkópos parazitológiai, illetve molekuláris biológiai körvizsgálati programokban, továbbá hazai (egyetemi, kórházi, ÁNTSZ hálózati) intézetekkel, és nemzetközi tudományos intézményekkel rendszeres, aktív kapcsolatot tartanak fenn.

A humán parazitológusok képzése e szakterület egyre égetőbb problémája. Ugyanis az orvosi karokon a képzés, más tantárgy keretében, legtöbbször nem is parazitológus által tartott (!), csupán néhány órás tantermi oktatásra és ugyancsak néhány órás gyakorlati bemutatásra korlátozódik. Ezért a szakemberképzéshez az osztály többféle szakmai továbbképzési formát alakított ki. Egyetemi hallgatónak, magyar, és angol nyelven a parazitózisok

diagnosztikájáról-járványtanáról elméleti és gyakorlati oktatást tartanak, illetve diákkörös és Ph.D. hallgatók témáit vezetik. A szakorvosok, biológusok, szakdolgozók képzését és továbbképzését posztgraduális, akkreditált pontszerző továbbképző kurzusok, előadások és gyakorlatok formájában évi rendszerességgel végzik.

Az osztály vezetője eredményeit rendszeresen hazai és nemzetközi tudományos fórumokon ismerteti, illetve hazai és külföldi folyóiratokban publikálja. Kiemelt figyelmet fordít a lakosság kiadványokkal, ismeretterjesztő előadásokkal, illetve médián keresztül tájékoztatására. Ellátja a Magyar Parazitológusok Társaságának főtítkári teendőit és tagja a Parazitológusok Világszövetsége (World Association of Parasitologists Executive Board) elnökségének.

A patinás Rockefeller Alapítvány művés architektúrájú Pasteur épületének III. emeletén elhelyezkedő OKI/OEK Parazitológiai osztály működését áldozatkész, hivatásukat magas szinten művelő generációk sorozata biztosította, akiknek 1927. óta közölt publikációiról az alábbi táblázat ad áttekintést:

Az osztály által írt könyvek/könyvfejezetek, hazai/külföldi tudományos közlemények

1927-1944		1945-1973		1974-1997.		1998-2006		1927-2006	
Könyv, könyv-fejezet	Közle-mény	Könyv, könyv-fejezet	Közle-mény	Könyv, könyv-fejezet	Közle-mény	Könyv, könyv-fejezet	ményKözle-	Könyv, könyv-fejezet	ményKözle-
9	103	30	131	20	54	16	45	75	333

Minden igyekezetünk arra irányul, hogy jeles elődeink hagyományaira építve, szívvel-lélekkel biztosítsuk, hogy az osztály kisugárzó ereje továbbra is ne csak országosan, hanem nemzetközi szinten is érvényesülhessen.

VITEK 2 Compact automatával szerzett tapasztalataink

Szentandrassy Júlia ÁEK Központi Diagnosztikai laboratórium

Összefoglaló

Laboratóriumunk Mikrobiológiai osztályának több mint 2 éves tapasztalata van a VITEK 2 Compact (bioMerieux) automata használatával. A készülék alkalmazásával átlagosan 5-6 óra alatt tudunk mikrobiológiai eredményt kiadni. Nyújtott munkaidőben, illetve a két műszakban dolgozó laboratóriumokban az automata működtetésével 24 órával lehet meggyorsítani a mikrobiológiai diagnózist, illetve antibiotikum rezisztencia adatok kiadását. A készülék által kiadott eredmények jól reprodukálhatóak és valósak. A rutin mikrobiológiai gyakorlatban előforduló törzseket jól identifikálja, az AES (Advanced Expert System) segítségével a mért MIC értékeket összehasonlítja az adatbázisban tárolt MIC értékekkel. A rezisztencia mechanizmusok jelentős részét felismeri. Mind gyorsaságban, mind megbízhatóságban a manuális módszereknél lényegesen többet nyújt.

Bevezetés

A mikrobiológiai laboratóriumban működő automaták a következő elvárásoknak kell, hogy megfeleljenek (1)

- egyszerre /egyidőben / legyen lehetőség az identifikálási és a rezisztencia eredmények kiadására
- a lehető leggyorsabban adjon eredményt
- széles adatbázissal rendelkezzen
- legyen a készülék megbízható (95% feletti confidence)
- a felhasznált kitek legyenek hosszú ideig eltarthatók
- az 1 db analízisre fordított költség legyen alacsony
- összeköthető legyen a már meglévő informatikai rendszerrel
- megbízható szerviz-lehetőséggel rendelkezzen
- ne legyen a készüléknek túl nagy helyigénye

Minden mikrobiológiai automatánál a legkritikusabb az antibiotikum érzékenység vizsgálata. A forgalomban levő készülékek vagy egy éjszakán át történő inkubálással, vagy < 16 óra alatti inkubálással adnak rezisztencia eredményt. Mindkét eljárás mikrodilúciós módszeren alapul.

A mérések elvi alapjai a következők lehetnek:

- a készülék méri a baktériumok növekedésének **végpontját**
- különböző antibiotikum koncentrációknál méri a baktériumok növekedési **rátáját**

Az automaták mérési technikái a következők lehetnek:

- turbidimetria mérés (antibiotikum jelenlétében a turbiditás csökken, vagy nem változik)
- fluorogén szubsztát hidrolízisének mérése (jelző médium közbeiktatásával)

A VITEK 2 Compact automata leírása:

A készüléket 2005-ben fejlesztették ki a mai formájában.(2)

Jellemzői:

- 64 tesztmélyedés
- bárkódos kártyák
- teljes automatizáltság
- tartozékok (denzitométer, diszpenzer)
- fotométere 3 hullámhosszon mér
- végpontos és kinetikus mérésekre van lehetőség
- rendelkezik az AES (Advanced Expert System)-el, ami több mint 2000 hivatkozás alapján működik

1. táblázat A VITEK 2 Compact kártyák jellemzői régi és újonnan kifejlesztett módszereken alapulnak

Kártyatípus	GN	GP	YST	BCL	AST
Wellek száma	64	64	64	64	64
Biokémiai tesztek száma	47	43	43	46	-
Leletkiadáshoz szükséges idő	10 óra	8 óra	18 óra	14 óra	18 óra
Tenyésztési követelmények	CBA CPS ID3 CHO CHO PVX	CBA CPS ID3 CHO CHO PVX	CBA SDA IMA	TSA	CBA CPS ID2
Kontroll törzzsel való ellenőrzés	új kártyák esetén	új kártyák esetén	új kártyák esetén	új kártyák esetén	-
Kiegészítő teszt	+	+	+	+	

Rövidítések: GN: Gr-negatív GP: Gr-pozitív, YST- gomba, BCL: Bacillus, AST: antib. érzékenység CBA: Columbia véres agar (5% birkavér), CHO: Csokoládé agar, SDA: Sabouraud dextróz agar, IMA: Penészgomba gátló agar, TSA: Tripkáz-szója agar, PVX: Polyvitex, és CPS ID3: Chromogén szelektív agar (*E.coli*, *Proteus spp.*, *Enterococcus spp.*), CPS ID2: Chromogén szelektív agar élesztő gombák és *C.albicans* kimutatására

A készülék az identifikálásokat minősíti (2 táblázat):

2. táblázat

Excellent	96 - 99 % valószínűség
Very good	93 - 95 % valószínűség
Good	89 - 92 % valószínűség
Acceptable	85 - 88 % valószínűség
Low discrimination	2 - 3 taxon azonos mintázatot mutat
Unidentified	3 taxon azonos mintázatot mutat, vagy nem felel meg a mintázat az adatbázis egyik taxonjának sem
Contraindicating test	olyan teszteredmény, amely a megadott taxonnál szokatlan

A készüléknek identifikálási problémát jelentő törzsek- Funke és mtársai szerint- a következők (3.táblázat)

3. táblázat

Strains identified with low discrimination and misidentified strains (1)

Reference method identification(no. of strains)	NGNC identification
Strains identified with low discrimination	
<i>Acinetobacter lwoffii</i> (2)	Nonreactive biopattern, <i>Acinetobacter lwoffii</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i> (1)	<i>Acinetobacter lwoffii</i> , <i>Moraxella</i> group
<i>Klebsiella oxytoca</i> (3)	<i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i> (1)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1)	<i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (3)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas putida</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (2)	<i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Acinetobacter lwoffii</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (1)	<i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>
Misidentified strains	
<i>Acinetobacter lwoffii</i> (1)	<i>Moraxella</i> group
<i>Enterobacter amnigenus</i> (1)	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Pseudomonas stutzeri</i> (1)	CDC group EO-2 or <i>Psychrobacter</i> sp.
<i>Rahnella aquatilis</i> (1)	<i>Pantoea</i> spp.

J Clin Microbiol. 2004 September; 42(9): 4067-4071.

doi: 10.1128/JCM.42.9.4067-4071.2004.

Copyright © 2004, American Society for Microbiology

Az un. AST kártyák (antibiotikum rezisztencia vizsgálat) miniaturizált, rövidített változatai mikrodilúciós módszereken alapszanak. A készülék megadja a MIC értékeket. A rezisztenciavizsgálat alapja az, hogy tesztmélyedésekbe szárítják a táptalajokat a megfelelő antibiotikumokkal együtt. A munkafolyamatban rehidratálás történik.

Az AST kártyák a következő speciális tesztekkel rendelkeznek:

- OX1: oxacillin MIC NCCLS
- OX5: az oxacillin érzékenység gyors jelzésére szolgál (a szűrőműszerekhez hasonlóan)
- ESBL teszt: minden olyan ESBL enzim jelenlétéről tájékoztat, amely clavulánsavval gátolható. Jelző antibiotikumként cefotaxim, ceftazidim, cefepim van a rendszerbe építve

Az eredmények többféle szintű ellenőrzés után adhatók ki.

- összes eredmény kiadása
- problémás eredmények visszatartása
- vaglyagos eredmények
- low discrimination
- antibiogram elemzésével kapcsolatos problémák
- bizonyos fenotípusok észlelése
- betegadatokkal kapcsolatos problémák
- ellenőrzendő eredmények körének kijelölése
- jóváhagyandó eredmények körének kijelölése

A biokémiai tesztek eredményeinek minősítése pozitív, gyengén pozitív, illetve gyengén negatív lehet.

A rezisztenciapanel fő erőssége a készülékbe épített AES: továbbfejlesztett szakértői program az antibiotikum érzékenységi eredmények interpretálására. Használatával megtörténik az eredmények automatikus hitelesítése, a **rezisztencia fenotípusok felismerése**. A készülék a leolvasott MIC értéket összehasonlítja a program adatbázisával. Az összehasonlítás alapja a megadott baktérium adott antibiotikum esetében mért MIC értéke, illetve az erre a baktériumra és antibiotikumra az AES adatbázisában megadott, jellemző eloszlást mutató MIC értékek. Így tudja a rendszer felismerni a jellegzetes rezisztencia mintázatot, illetve rezisztencia mechanizmust. A program konfidencia szintet ad meg a kiadott eredményeket illetően.

KONFIDENCIA SZINTEK, AZ AES JELENTŐSÉGE

- Konzisztens (a mért MIC értékeken nem kellett változtatni)
- Konzisztens, de korrekciókkal egy esetben történt MIC érték változtatás, amely az előbb említett elemzés eredményeként megadta a fenotípusokat.
A felismert fenotípus minősítése
- * lehetséges fenotípus
- ** felismert fenotípus
- *** legjobb fenotípus

- Description of findings: magyarázat, hogy miért javasol változtatást az AES.
- Ellentmondó (Inkonzisztens): nem lehet fenotípusokat felismerni.
- Szakértői elemzés nem történt: (a kimutatott baktériumra jellemző fenotípus nem szerepel az AES adatbázisában).

Több mint 2 éves (2005-2006 év) használat tapasztalatai alapján a következő kérdésekre kerestünk választ.

- Biztonsággal felismeri-e a készülék a *Morganella*, illetve a *Citrobacter* specieseket?
(Az automata rendszereknél ezeknek a specieseknek a felismerése problémát jelenthet)
- Mennyire biztonságos az *Enterococcus faecalis* és az *Enterococcus faecium* elkülönítése?
- Kiváncsiak voltunk arra, hogy saját anyagunkban mennyire sikeres az *Acinetobacter lwoffii* identifikálása
- Mennyire eredményes a glycopeptid rezisztencia felismerése?
- Mennyire megbízható a staphylococcusok oxacillin rezisztenciájának megítélése?
- Hogy detektálja a rendszer az ESBL termelést?
- Adott esetben kimutatható-e a *Pseudomonas aeruginosa* törzsek MBL enzim termelése?

A VITEK 2 Compact működésének verifikálását kontroll törzsekkel, illetve saját archívumból való törzsekkel, - amelyeket már előzőleg, más módszerrel vizsgáltunk - végeztük. Kontroll törzsekkel egy héten át parallel méréseket végeztünk (reprodukálhatóság és megbízhatóság vizsgálata).

Az összes vizsgált törzset bioMerieux 5% birkavért tartalmazó Columbia agar lemezről 24-48 óras, 36,9° C-on történő incubálás után vittük az automatára. Felhasznált kártyatípusok: 1. táblázat. A parallel méréseket a következő kontroll törzsekkel végeztük: *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, ATCC 33591, *Shigella sonnei* ATCC 9290.

Valamennyi esetben 95% feletti confidence szinttel, valós eredményeket kaptunk. A mérési sorozat különböző helyeire tett izolátumok egyezése 100%-os volt. *Stenotrophomonas maltophilia* törzsek esetében az antibiotikum érzékenységet E-teszt-tel (Etest AB Biodisk) vizsgáltuk, és a törzs jellegzetes rezisztencia képét figyelembe véve adtuk ki az eredményeket.

Az archivált törzseket előzőekben bioMerieux API rendszerrel határoztuk meg, a rezisztencia vizsgálatokat E-teszt-tel, illetve korongdiffúziós módszerrel végeztük a szokásos 16-24 ill. 32-48 óra alatt. Az automatával az identifikálások

és rezisztencia vizsgálatok átlagos lefutási ideje 5-6 óra volt. Funke és munkatársai az identifikálásokra és rezisztencia vizsgálatokra 6-10 órát fordítottak- fermentálók esetében, nem fermentálók esetében pedig 8-10 órát (3). *A. lwoffii* törzset 2 év alatt 46 beteg esetében izoláltunk, valamennyi esetben 95% feletti fiducia szinttel. Arra a kérdésre, hogy a készülék milyen sikerrel ad ki *Morganella*, illetve *Citrobacter* specieseket, saját tapasztalatunk azt mutatta, hogy a VITEK 2 Compact igen nagy biztonsággal (99% fiducia) adta ki ezeket az eredményeket.

A rezisztencia kép igazodott az identifikálások eredményéhez. Kórházi anyagunkban 21 beteg esetében adtuk ki *Citrobacter freundii*, 67 beteg vizsgálati anyagából pedig *Morganella morganii* –t

Eredményeink az irodalmi adatokkal megegyeznek (1)

Az enterococcusok identifikálása probléma lehet a VITEK 2 Compact automatával.

Leginkább az *Enterococcus faecium* felismerése okozhat gondot; *Enterococcus faecalis*nak, illetve *Enterococcus gallinarum*nak adta ki -irodalmi adatok szerint – néhány esetben a rendszer (4). Saját vizsgálatainkban ezt az anomáliát nem tapasztaltuk. *E. faecium*ot 25 beteg esetében izoláltunk a vizsgált időszakban.

Ezen törzsek glycopeptid rezisztenciájának vizsgálata azonban minden automatánál probléma lehet a heterorezisztencia miatt.

Irodalmi adatok alapján a VanB és a VanC rezisztencia vizsgálata megbízható a VITEK 2 Compact automatával *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*, illetve *Enterococcus casseliflavus* törzsek esetében (5). Az *Enterococcus faecium* törzsek VanA típusú rezisztenciájának megítélése – a fenti szerzők esetében - 98,5%-ban sikeres. A MIC értékeket vizsgálva a szerzők azt állapították meg, hogy 8,0 µg/ml és ennél magasabb MIC értékek esetében a VITEK2 Compact által megadott vancomycin MIC érték egyezik a standard módszerrel. A teicoplanin MIC értékek a 4µg/ml, illetve ennél magasabb MIC értékek esetében egyeznek jól a standarddal.

Saját tapasztalataink szerint a következőket állapíthatjuk meg:

2005-ben 5 beteg esetében mértünk vancomycin iránt csökkent érzékenységet *Enterococcus faecalis* törzseknél. 2006-ban 2 ilyen betegünk volt. Mindegyik esetben az automata a vancomycin MIC értéket 2 µg/ml–nek adta meg. A MIC értékeket E-teszttel (Etest AB Biodisk) is mértük, a vancomycin MIC értékek 6-8 µg/ml között mozogtak. (Szerk. megjegyzés: a vizsgálatok BHI agaron 2 MacFarland sűrűségű szuszpenzióval történtek, az enterococcusok vancomycin MIC értékének meghatározásáról, s ennek interpretációjáról következő számunkban részletes információt adunk.) Az Országos Epidemiológiai Központ (OEK) Bakteriológia I. osztály PCR vizsgálatai alapján a törzsek 3 kivételével, nem hordoztak vancomycin rezisztencia gént. Ezek az eredmények egyben azt is mutatják, vancomycin E-teszttel vizsgált, emelkedett MIC értékének megítélése

is óvatosságot igényel, molekuláris vizsgálat nélkül csak a VRE gyanú adható meg.

Tanulságnak azt tudtuk leszűrni, hogy enterococcusok esetében az automatával kapott 2 µg/ml vancomycin MIC érték esetén a törzseket más módszerekkel kell tovább vizsgálni.

A staphylococcusok oxacillin rezisztenciájának mérésére a készülék kiválóan alkalmas, használatával a screen-lemez alkalmazása mellőzhető. 2005-2006. évben 142 beteg vizsgálati anyagából izoláltunk MRSA törzset, az OEK Bakteriológia I. osztálya valamennyit megerősítette. A rezisztenciakártyán levő; OX5 lyuk lehetőséget ad az oxacillin rezisztencia gyors észlelésére, és az oxacillin MIC értéke további információt nyújt.

A rezisztencia mechanizmusok szempontjából az ESBL termelés kimutatása a készülék egyik legnagyobb előnye. Osztályunkon 2006-ban az ESBL termelő törzsek közül *Escherichia coli*-t 18 betegnél, *Klebsiella pneumoniae*-t 9 betegnél, *Enterobacter cloacae*-t 10 betegnél találtunk. Valamennyi identifikálás molekuláris biológiai módszerrel igazolt volt.

Az *Escherichia coli* és a *Klebsiella pneumoniae* törzsek ESBL termelésének kimutatása a laboratóriumok számára ma már rutin feladat, de *Enterobacter cloacae* törzsek esetében az ESBL termelés jelzése manuális módszerrel nehezen kivitelezhető. A VITEK 2 Compact használata nélkül valószínűleg nem ismertük volna fel ezen a törzsek ESBL termelését, ahogy a *Morganella morganii ssp morganii*, illetve a *Citrobacter freundii* törzsek esetében sem.

(1. ábra és 1/b. ábra: lásd a következő oldalakon)

Irodalmi adatok szerint (6) a VITEK 2 Compact *Escherichia coli* esetében SHV, TEM, CTX-M típusú ESBL enzimeket ismer fel. (Nem minden törzsnél és nem minden típusú ESBL enzim felismerése kivitelezhető az automatával, csak a leggyakoribbaké).

Az ESBL, MBL termelő és az *Enterobacter cloacae* törzsek esetében a VITEK 2 Compact által kiadott eredményeket felül kell vizsgálni, és a szakmai ajánlások alapján kell interpretálni, mivel az AES képes a mért érzékenységi eredményeken változtatni, de a mért eredménynél csak 1 hígítási fokkal ad ki magasabb értékeket a korrekció alapján.

Kórházi anyagunkban MBL termelő *Pseudomonas aeruginosa* törzsek is előfordultak. 2005-2006-ban, mindössze 1 betegnél izoláltunk ilyen törzset, de az ezután eltelt időszakban számuk emelkedett. (2007 01 01 – 2007 09 20 között eltelt időszakban 16 betegnél találtunk MBL termelő *Pseudomonas aeruginosa* törzset, a halmozódás kivizsgálására a kórházhygiénés vizsgálatok folyamatban vannak). Ezeknél az izolátumoknál minden esetben elvégeztük az MBL E-teszt (AB Biodisk), illetve az imipenem-imipenem /EDTA korong vizsgálatotokat (7).

MH KHK MIKROBIOLOGIAI LABORATORIUM

bioMérieux Customer:
System #: VTK2C 1343

Laboratory Report

Printed Jan 23, 2007 15:16 CET
Printed by: katalin

Isolate Group: 23515-2006 EV-1

Bench: SZOMBAT

Bionumber: 0007010300542211

Selected Organism: *Morganella morganii* ssp *morganii*

Comments:	
-----------	--

Identification Information	Card: GN	Lot Number.: 241008740	Expires: Mar 11, 2007 12:00 CET
	Completed: Jan 20, 2007 17:46 CET	Status: Final	Analysis Time: 6.00 hours
Selected Organism	99% Probability <i>Morganella morganii</i> ssp <i>morganii</i>		
	Bionumber: 0007010300542211	Confidence: Excellent identification	
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Analysis Messages: The following antibiotic(s) are not claimed: ESBL,			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			

Susceptibility Information	Card: AST-N041	Lot Number.: 163036340	Expires: Dec 12, 2007 12:00 CET		
	Completed: Jan 20, 2007 18:16 CET	Status: Final	Analysis Time: 6.50 hours		
Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL			Imipenem	1	S
Ampicillin	>= 32	R	Amikacin	8	*I
Amoxicillin/Clavulanic Acid	>= 32	R	Gentamicin	>= 16	R
Piperacillin	>= 128	R	Netilmicin	4	*I
Piperacillin/Tazobactam	>= 128	R	Ciprofloxacin	>= 4	R
Cefazolin	>= 64	R	Norfloxacin	>= 16	R
Cefoxitin	8	*R	Tetracycline	>= 16	R
Cefotaxime	>= 64	R	Nitrofurantoin	128	R
Ceftazidime	>= 64	R	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	>= 320	R
Cefepime	>= 64	R			

+ = Deduced drug * = AES modified ** = User modified

VITEK 2 compact Version: 01.01b
MIC Interpretation Guideline: Copy of GLOBAL, 2002
AES Parameter Set Name: Copy of Global+Phenotypic

Therapeutic Interpretation Guideline: Copy of PHENOTYPIC
AES Parameter Last Modified: Jun 15, 2005 14:46 CEST

1. ábra



MH KHK MIKROBIOLOGIAI LABORATORIUM
AES Detail Report

BioMérieux Customer:
System #: VTK2C 1343

Printed by: katalin
Printed: Jan 23, 2007 15:16 CET

Accession Number: 23515-2006 EV-1

Date Tested: Jan 20, 2007 18:16 CET

Selected Organism: *Morganella morganii* ssp *morganii* (99%)
AES Confidence: Consistent

ID Confidence: Excellent identification

Phenotypes

Antibiotic Family	Detected Phenotypes
BETA-LACTAMS	EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE
AMINOGLYCOSIDES	HETEROGENEOUS (?+AAC(6')), RESISTANT (ANT(2')), RESISTANT (AAC(3-I)), RESISTANT (AAC(3-II))
QUINOLONES	RESISTANT
TETRACYCLINES	WILD
FURANES	WILD
TRIMETHOPRIM/SULFONAMIDES	RESISTANT

Therapeutic Interpretations

Antibiotic	Interpretation Changes	Reason (rule or phenotype)
Cefoxitin	Change S to R	EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE
Amikacin	Change S to I	HETEROGENEOUS (?+AAC(6'))
Netilmicin	Change S to I	HETEROGENEOUS (?+AAC(6')), RESISTANT (AAC(3-II))

MIC/Test Differences
None

Antibiotic Deductions
None

VITEK 2 compact version: 01.01b

Page 1 of 1

AES Parameter Set: Copy of Global+Phenotypic
Last Modified: Jun 15, 2005 14:46 CEST
Basis: Global+Phenotypic

MIC Interpretation Guideline: Copy of GLOBAL, 2002
Basis: GLOBAL, 2002
Therapeutic Interpretation Guideline: Copy of PHENOTYPIC
Basis: PHENOTYPIC

1/b. ábra

Az MBL termelő törzsek molekuláris biológiai igazolása (az első öt törzs az OEK Bakteriológiai osztályán, a továbbiak a Semmelweis Orvostudományi Egyetem Mikrobiológiai Intézetében) megtörtént.

Irodalmi adatok alapján *Pseudomonas aeruginosa* törzsek esetében az egyezés a mikrodilúciós módszer és a VITEK 2 Compact között imipenem és meropenem érzékenység tekintetében 85-86%. Tovább analizálva a kérdést, az imipenem érzékeny törzseknél az egyezés a standard módszerrel imipenem esetében ennél jobb (93,8%), meropenem esetében rosszabb (81,2%). Imipenem rezisztens törzsek esetében imipenemnél és meropenemnél 95,4% az egyezés a mikrodilúciós módszerrel (8).

Saját gyakorlatunkban a VITEK 2 Compact imipenem MIC értékeket E-teszt MIC értékekkel hasonlítottuk össze. Magas MIC értékeknél *Pseudomonas aeruginosa* törzsek esetében az E-teszt magasabb MIC értékeket adott imipenemre, mint az automata. Mindemellett a VITEK 2 Compact-tapasztalatunk szerint- helyesen ismeri fel a *Pseudomonas aeruginosa* törzsek imipenem rezisztenciáját, s jelzi a magas szintű carbapenem rezisztenciát. (2/a. és 2/b. ábra).



MH KHK MIKROBIOLOGIAI LABORATORIUM

Laboratory Report

bioMerieux Customer:
System #: VTK2C 1343

Printed Apr 10, 2007 10:29 CEST
Printed by: edit

Isolate Group: 4390-1

Bench: HETFO

Bionumber: 1043453243500040
Selected Organism: Pseudomonas aeruginosa

Comments:	
-----------	--

Identification Information	Card: GN	Lot Number.: 241022840	Expires: Jul 30, 2007 13:00 CEST
	Completed: Apr 2, 2007 16:00 CEST	Status: Final	Analysis Time: 5.00 hours
Selected Organism	91% Probability Pseudomonas aeruginosa Bionumber: 1043453243500040 Confidence: Good identification		
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s) Pseudomonas aeruginosa URE(16),dTRE(8),APPA(1).			

Susceptibility Information	Card: AST-N022	Lot Number.: 144052610	Expires: May 23, 2008 13:00 CEST		
	Completed: Apr 3, 2007 00:59 CEST	Status: Final	Analysis Time: 14.00 hours		
Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Ticarcillin	>= 128	R	Amikacin	4	S
Ticarcillin/Clavulanic Acid	>= 128	R	Gentamicin	>= 16	R
Piperacillin	32	*I	Isepamicin	8	S
Piperacillin/Tazobactam	64	*I	Netilmicin	16	I
Ceftazidime	16	I	Tobramycin	>= 16	R
Cefepime	8	*I	Ciprofloxacin	>= 4	R
Cefpirome	16	I	Pefloxacin	>= 16	R
Aztreonam	16	I	Colistin	<= 0.5	S
Imipenem	>= 16	R	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	>= 320	R
Meropenem	8	I			

+ = Deduced drug * = AES modified ** = User modified

VITEK 2 compact Version: 01.01b
MIC Interpretation Guideline: Copy of GLOBAL, 2002
AES Parameter Set Name: Copy of Global+Phenotypic

Therapeutic Interpretation Guideline: Copy of PHENOTYPIC
AES Parameter Last Modified: Jun 15, 2005 14:46 CEST

MH KHK MIKROBIOLOGIAI LABORATORIUM
 AES Detail Report

bioMérieux Customer: System #: VTK2C 1343 Accession Number: 4390-1 Selected Organism: Pseudomonas aeruginosa (91%) AES Confidence: Consistent	Printed by: edit Printed: Apr 10, 2007 10:29 CEST Date Tested: Apr 3, 2007 01:27 CEST ID Confidence: Good identification
---	---

Phenotypes

Antibiotic Family	Detected Phenotypes
BETA-LACTAMS	HIGH LEVEL R + RESISTANT CARBAPENEMS
AMINOGLYCOSIDES	RESISTANT (TOB GEN NET R)
QUINOLONES	RESISTANT
POLYPEPTIDES	WILD
TRIMETHOPRIM/SULFONAMIDES	WILD

Therapeutic Interpretations

Antibiotic	Interpretation Changes	Reason (rule or phenotype)
Piperacillin	Change S to I	HIGH LEVEL R + RESISTANT CARBAPENEMS
Piperacillin/Tazobactam	Change S to I	HIGH LEVEL R + RESISTANT CARBAPENEMS
Cefepime	Change S to I	HIGH LEVEL R + RESISTANT CARBAPENEMS

MIC/Test Differences

None

Antibiotic Deductions

None

VITEK 2 compact version: 01.01b

Page 1 of 1

 AES Parameter Set: Copy of Global+Phenotypic
 Last Modified: Jun 15, 2005 14:48 CEST
 Basis: Global+Phenotypic

 MIC Interpretation Guideline: Copy of GLOBAL, 2002
 Basis: GLOBAL, 2002
 Therapeutic Interpretation Guideline: Copy of PHENOTYPIC
 Basis: PHENOTYPIC

2/b. ábra

A vizsgált időszakban 1 betegnél imipenem rezisztens *Acinetobacter baumannii* törzset találtunk. A Semmelweis Egyetem Mikrobiológiai Intézetében a kiadott eredményeket igazolták.

A VITEK 2 Compact –tal kapcsolatos tapasztalataink során a készülék előnyei a következők:

- gyors, pontos identifikálás
- a standard módszert jól megközelítő antibiotikum érzékenységi eredmények
- a rezisztencia fenotípusok felismerése
- kis helyigény
- a készülék használata nemzetközi vonatkozásban igen elterjedt

Pozitívan értékelhető még:

- gyors, rugalmas reagens szállítás,
- a reagens jó eltarthatóság
- gyors, megbízható szerviz
- magyar nyelvű kézikönyv

Feltétlen szükséges az eredményes működtetéshez:

- Színtenyészet használata
- BioMerieux Columbia 5% birkavéres agarlemez alkalmazása a színtenyészetek nyéréséhez
- A sterilitási próba elvégzése
- Az eredmények kritikus elemzése (minden automata, vagy félautomata rendszer alkalmazásakor elengedhetetlen)

Irodalomjegyzék:

1. P.R. Murray editor in chief. *Manual of Clinical Microbiology- 8 th ed.*
2. VITEK 2 Compact Felhasználói Kézikönyv Rev. 11/2005
3. G. Funke, P. Funke-Kissling: *Evaluation of the New VITEK 2 Card for Identification of Clinically Relevant Gram-Negative Rods. J. Clin. Microbiol. 2004 42:4067-4071*
4. F. Garcia-Garrote, E. Cercenado, and E. Bouza: *Evaluation of a New System, VITEK 2, for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Enterococci, J. Clin. Microbiol. 2000 38: 2108-2111*
5. M. Abele-Horn, L. Hommers, R. Trabold, and M. Frosch. *Validation of VITEK 2 Version 4.01 Software for Detection, Identification, and Classification of Glycopeptide Resistant Enterococci, J. Clin. Microbiol. 2006. 44: 71-76*
6. T. Spanu, M. Sanquinetti, M. Tumbarello, T. D. Juzeo, B. Fiori, B. Posteraro, R. Santangelo, R. Cauda and G. Fadda: *Evaluation of New VITEK 2 Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Test for Rapid Detection of ESBL Production in Enterobacteriaceae Isolates. J. Clin. Microbiol 2006 44:71-76*
7. P. Joyanes, M. del Carmen Conejo, L. Martinez-Martinez, and E. J. Perea. *Evaluation of the VITEK 2 System for the Identification and Susceptibility testing of Three Species of Non-fermenting Gram-Negative Rods Frequently Isolated from Clinical Samples. J. Clin. Microbiol. 2001 39: 3247-3253*
8. Libisch Balázs: *A szerzett metallo- β -laktamáz (MBL) termelő Gram-negatív aerob kórokozók jelentősége és kimutatása Mikrobiológiai Körlevél 2003.3.évf. 4. szám*

Multirezisztens *Pseudomonas aeruginosa* klinikai izolátumok molekuláris epidemiológiája és az antibiotikum terápia egyes lehetőségei

Libisch Balázs, Füzi Miklós

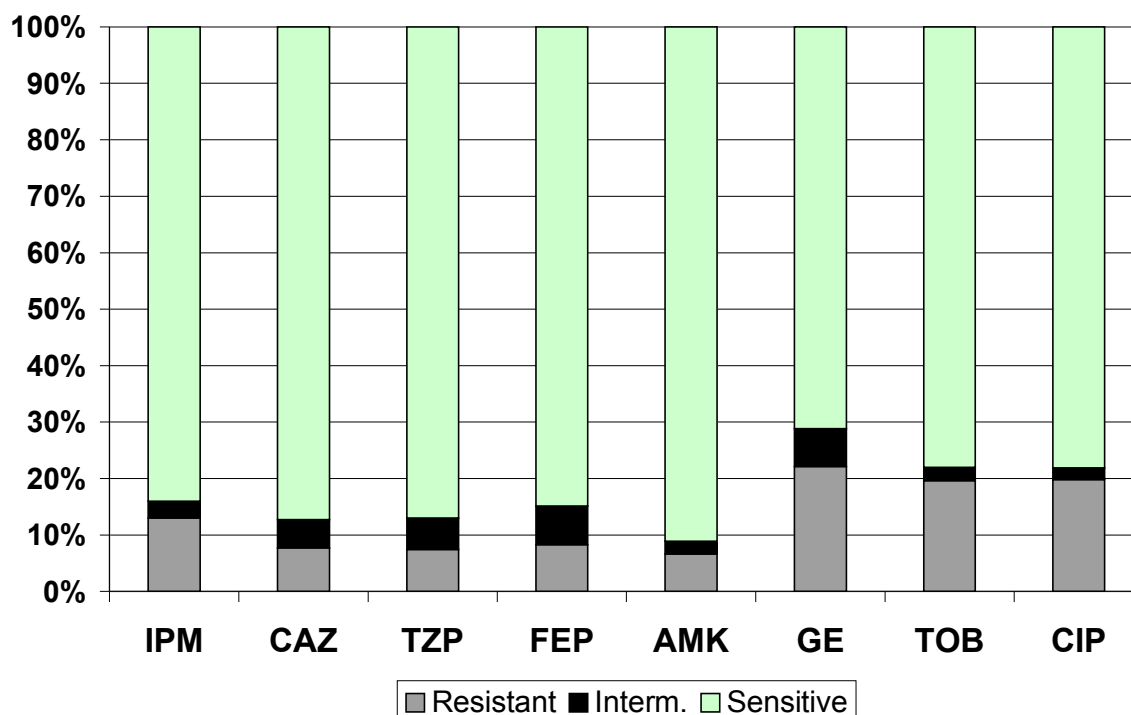
Az OEK Bakteriológia I osztályán 2003 óta vizsgáljuk a hazai multirezisztens *Pseudomonas aeruginosa* klinikai izolátumok szerzett rezisztencia mechanizmusait, az ezek terjedésben szerepet játszó fontosabb nosocomialis klónok tulajdonságait valamint a multirezisztens izolátumokkal szemben hatékony antibiotikumokat. A 2002 és 2005 közötti időszakban 52 darab O11 vagy O12 szerotípusú VIM metallo- β -laktamáz (MBL) termelő *P. aeruginosa* izolátumot karakterizáltunk, melyek az ország 7 kórházában kezelt 19 beteg esetében okoztak kolonizációt vagy infekciót. PFGE analízis igazolt egy VIM-termelő *P. aeruginosa* járványt melyben Északnyugat-Magyarország 3 különböző kórháza volt érintett. Kísérletes eredményeink alapján a VIM-termelő izolátumok arányát a karbapenem-rezisztens *P. aeruginosa* klinikai izolátumok között 0,4 illetve 6,5%-ra becsültük 2004-ben illetve 2005-ben azon intézményekre vonatkoztatva, melyek részt vettek a törzsek gyűjtésében. A tapasztalt emelkedés főleg a fent említett járványnak volt köszönhető.

VIM-termelő *P. aeruginosa* izolátumok összehasonlító vizsgálata magyar, svéd, olasz és görög törzsek MLST tipizálása alapján két nemzetközi *P. aeruginosa* klonális komplex (melyeket BG4 illetve a BG11 kóddal jelölünk) kiemelt szerepét tárta fel a szerzett MBL gének terjedésében. M. Gniadkowski, D. M. Livermore és munkatársaik által végzett további molekuláris epidemiológiai analízis kimutatta a BG11-es komplex jelenlétét Lengyelországban, Oroszországban és Törökországban is, és bizonyították szerepét a PER-1 típusú ESBL gének disszeminációjában.

Metallo- β -laktamáz (MBL) termelő *P. aeruginosa* járványokat világszerte leírtak az utóbbi években, többek között Lengyelországban, Olaszországban, Görögországban, Kanadában, az USA-ban, Brazíliában, Koreában, Japánban és Ausztráliában. Egy friss publikáció 67 darab IMP-7 típusú MBL termelő *P. aeruginosa* klinikai izolátum azonosításáról számol be legközelebbi szomszédunkban, Szlovákiában, ahol a tanulmány egy O15-ös szerotípusú MBL termelő klón országos elterjedését írja le. A hazai és európai antibiotikum rezisztencia surveillance adatok alapján megállapítható, hogy az utóbbi években a *P. aeruginosa* rezisztenciája a legfontosabb klinikailag alkalmazott antibiotikumokkal szemben nem növekedett számottevően, de a multirezisztens klinikai izolátumok aránya emelkedést mutat. Ez feltehetően a szerzett rezisztencia génekkel (pl. ESBL, MBL) rendelkező, fokozott virulenciát mutató és hatékonyan terjedő nemzetközi klónoknak tudható be. Az OEK vizsgálatai alapján azt tapasztaltuk, hogy a MBL-ok országos elterjedésű jelenlétével szemben az ESBL termelő (klavulánsavval gátolható rezisztenciájú)

Pseudomonas spp. izolátumok egyelőre sporadikusan, alacsony prevalenciával fordulnak elő azokban az intézményekben, melyek a törzsek beküldésében részt vesznek. PER-1 típusú ESBL termelő *P. aeruginosa* izolátumokat azonosítottunk 2 budapesti kórházban, melyek esetében a PER-1 gén *in vitro* konjugálható volt egy recipiens Rif^R *P. putida* törzsbe. Ez a PER-1 gén konjugatív plazmidon, mint mobilis genetikai elem való elhelyezkedésére és a horizontális terjedés lehetőségére utal.

Az 1. ábra a hazai Bakteriológiai Surveillance (BS) adatbázis adatai alapján mutatja be a *P. aeruginosa* klinikai izolátumok antibiotikum rezisztenciáját 2006-ban. A jelenleg elfogadott definíció értelmében multirezisztens izolátumnak tekintjük azokat a törzseket, melyek egyidejűleg rezisztensek 3 különböző antibiotikum osztályhoz tartozó hatóanyagra (mint a cefalosporinok, karbapenemek, fluorokinolonok és aminoglikozidok). A hazai BS adatbázisban 2006-ban azon izolátumok között, ahol a gentamicin, imipenem és ciprofloxacinnal szembeni érzékenységet egyaránt vizsgálták (n=8525) 790 izolátum (9.26%) volt egyszerre nem-érzékeny erre a három antibiotikumra. Ez a kereszt-rezisztencia magas arányára utal, és a terápia szempontjából problémát jelentő multirezisztens *P. aeruginosa* izolátumok jelentős prevalenciáját mutatja.



1. ábra A hazai bakteriológiai surveillance adatbázisban szereplő *P. aeruginosa* izolátumok rezisztenciája a legfontosabb anti-pseudomonas antibiotikumokkal szemben 2006-ban.

A keresztrezisztencia létrejöttében több mechanizmus kombinálódása játszik szerepet. Egyes mobilis genetikai elemek (integron, R-plazmid, transzpozon) egyszerre több rezisztencia gént hordozhatnak kapcsolatosan, melyek 1 lépésben multirezisztenciát okoznak. Ezek jellemzően szerzett β -laktám rezisztencia gének (szerin aktív centrummal például az OXA, PER, VEB, GES, BEL enzimek, fémion aktív centrummal a VIM, IMP, SIM, SPM, GIM enzimek) illetve szerzett aminoglikozid rezisztencia gének, melyek Európában akár a klinikai *P. aeruginosa* izolátumok 20%-ában is jelen lehetnek. A multirezisztencia kialakulásában további fontos szerepet töltenek be azok az efflux-pumpa rendszerek, melyek széles szubsztrát-specifitással rendelkeznek, pl. a MexAB-OprM rendszer.

A nemzetközi szakirodalomban évek óta az egyik legfontosabb problémaként tartják számon a multirezisztens Gram-negatív pathogének (pl. *Acinetobacter* spp, *Enterobacter* spp, *Pseudomonas* spp.) terjedését, és a velük szemben alkalmazható antibiotikumok szűk körét, illetve a kifejlesztés alatt álló új hatásmechanizmusú gyógyszerek hiányát. Saját vizsgálataink alapján megállapítható, hogy az MBL termelő hazai *P. aeruginosa* törzsek jellemzően rezisztensek az összes szokásosan használt anti-pseudomonas antibiotikummal szemben, de a vizsgált törzsek jelentős aránya érzékeny maradt aztreonamra (60%, 18/30) és polymyxin B-re (76%, 23/30) a jelenlegi CLSI breakpointok alapján. Ezen multirezisztens izolátumok okozta fertőzések kezelésére újabban ismét több tanulmány vizsgálja a colistin (polymyxin E) klinikai alkalmazhatóságát. Ezt az antibiotikumot az 50-es évek elején fedezték fel, de alkalmazását felfüggesztették a korábban tapasztalt toxikus mellékhatások következtében. A colistin hatásmechanizmusa (a citoplazma membrán gyors permeabilizációja) megóvja a kereszt-rezisztencia kialakulásától más antibiotikumokkal, és elősegíti azok penetrációját és aktivitását. *In vitro* vizsgálatok a colistin és rifampicin szinergikus hatását mutatták ki, és ezzel a kombinációval baktericid aktivitást és klinikai hatékonyságot tapasztaltak multirezisztens *P. aeruginosa* izolátumokkal szemben.

A jelenleg kifejlesztés alatt álló antibiotikumok közül a doripenem és a sitafloxacin érdemel említést, mint anti-pseudomonális aktivitással rendelkező hatóanyagok. A doripenem a meropenem egyik szerkezeti származéka, és enyhén hatékonyabb *P. aeruginosa* ellen, mint a meropenem. A doripenem a US Food and Drug Administration (FDA) által kijelölt (de még nem jóváhagyott) hatóanyag alsó-légúti fertőzések kezelésére cisztikus fibrózisban szenvedő betegeknél, és klinikai vizsgálatok folynak komplikált húgyúti és mellkasi fertőzések kezelésére doripenemmel.

A sitafloxacin a vad típusú *P. aeruginosa* törzsekkel szemben a ciprofloxacinnal összehasonlítható aktivitást mutat, de alacsonyabb MIC értékekkel rendelkezik *gyrA* és *parC* mutáns törzsekkel szemben. A jelenleg

folyó klinikai vizsgálatok azonban gram-pozitív baktériumok okozta fertőzések kezelésére irányulnak.

Az OEK Bakteriológia I. osztályán jelenleg egy az Európai Unió által támogatott kutatás keretében a mobilis genetikai elemek szerepét vizsgáljuk az antibiotikum rezisztencia terjedésében (DRESP2 FP6 projekt). E munka során elsősorban a hazai multirezisztens *P. aeruginosa* izolátumok szerzett rezisztencia génjeit és a kapcsolt genetikai elemeket karakterizáljuk, és jellemezzük a fontosabb hordozó klónokat is. Ezen kívül a karbapenem nem-érzékeny Enterobacteriaceae izolátumok molekuláris vizsgálatát tűztük ki célul.

A hazai és nemzetközi szakirodalomban közölt multi- és pánrezisztens *P. aeruginosa* klinikai izolátumok okozta infekciók és járványok komoly problémát jelentenek az antibiotikum terápia szempontjából, ezért fontos valamennyi érintett szakember együttműködése az országos és nemzetközi epidemiológiai vizsgálatok elvégzése és a szerzett rezisztencia mechanizmusok elterjedésének megakadályozása céljából.

E munka elősegítése érdekében kérjük a laboratóriumokat, hogy számunkra a ceftazidim + imipenem nem-érzékeny *Pseudomonas* spp. és a karbapenem (imipenem vagy meropenem) nem-érzékeny Enterobacteriaceae izolátumokat legyenek szívesek beküldeni az OEK Bakteriológia I. osztályra.

Irodalom:

1. Libisch B, Muzslay M, Gacs M, Minarovits J, Knausz M, Watine J, Ternak G, Kenez E, Kustos I, Rokusz L, Szeles K, Balogh B, Fuzi M. Molecular epidemiology of VIM-4 metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas* sp. isolates in Hungary. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50 (12):4220-3.
2. Libisch B, Gacs M, Csiszar K, Muzslay M, Rokusz L, Fuzi M. Isolation of an integron-borne *bla*_{VIM-4} type metallo-beta-lactamase gene from a carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in Hungary. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48(9):3576-8.
3. Giske CG, Libisch B, Colinon C, Scoulica E, Pagani L, Fuzi M, Kronvall G, Rossolini GM. Establishing clonal relationships between VIM-1-like metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains from four European countries by multilocus sequence typing. *J Clin Microbiol.* 2006;44(12):4309-15.
4. Empel J, Filczak K, Mrowka A, Hryniewicz W, Livermore DM, Gniadkowski M. Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* Infections with PER-1 Extended-Spectrum- β -Lactamase in Warsaw, Poland: Further Evidence for an International Clonal Complex. *J Clin Microbiol.* 2007 Sep;45 (9):2829-34.
5. B. Libisch, Z. Lepsanovic, B. Krucso, M. Muzslay, B. Tomanovic, Z. Nonkovic, V. Mirovic, G. Szabo, B. Balogh and M. Füzi. Characterisation of PER-1 extended-spectrum β -lactamase producing *P. aeruginosa* clinical isolates from Hungary and Serbia. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Volume 29, Supplement 2, March 2007, Page S162

6. Ohlasova D, Kmet V, Niks M. First report of the carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing IMP-7 metallo- β -lactamase in Slovakia. *Int J Antimicrob Agents*. 2007 Oct; 30(4):370-1.
7. Mesaros N, Nordmann P, Plesiat P, Roussel-Delvallez M, Van Eldere J, Glupczynski Y, Van Laethem Y, Jacobs F, Lebecque P, Malfroot A, Tulkens PM, Van Bambeke F. *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. *Clin Microbiol Infect*. 2007 Jun; 13 (6):560-78.
8. T. R. Walsh, M. A. Toleman, L. Poirel, P. Nordmann Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? *Clin. Microbiol Rev*. 18 (2005) 306-325.
9. Timurkaynak F, Can F, Azap OK, Demirbilek M, Arslan H, Karaman SO. *In vitro* activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units. *Int J Antimicrob Agents*. 2006 Mar; 27(3):224-8.

Az ornithosis laboratóriumi diagnosztikai módszereinek fejlesztése II.

A laboratóriumi eredmények interpretációja

Balla Eszter, Petrovay Fruzsina

A Mikrobiológiai Körlevél 2007. VII. évf./2. számában megjelent írásunkban esetismertetések kapcsán részleteztük a *Chlamydothila psittaci* fertőzések humán rizikócsoportjait; a laboratóriumunkban alkalmazott diagnosztikus módszereket, a mintavétel és a megelőzés lehetőségeit. (Az irodalomjegyzék nyomdatechnikai okok miatt sajnálatos módon lemaradt a közlemény végéről, melyet ezúton pótolunk.)

1.) Közvetlen kimutatás

A laboratóriumunkban alkalmazott, korábbiakban részletezett nested PCR technika pozitív eredménye nem szorul különösebb magyarázatra, hiszen ez az akut fertőzés legbiztosabb támpontjaként szolgálhat (lásd CDC esetdefiníció). A kórokozó tünetmentes hordozása ismert a legkülönfélébb szárnyasok körében⁵, ugyanakkor emberben is okozhat banális felső légúti tüneteket. Mivel ezt a vizsgálatot súlyos légúti infekcióban szenvedő betegek mintáin végezzük, a sikeres közvetlen kimutatás egyúttal etiológiai diagnózist is nyújt.

A negatív PCR elsősorban az invazív módon vett alsó légúti minták; ill. boncolás során eltávolított tüdőbiopsziák kapcsán csökkenti az ornithosis diagnózisának valószínűségét, bár ismert tény, hogy a kórokozó közvetlen kimutatása meglehetősen nehéz feladat, és az erre irányuló módszerek érzékenysége alacsony^{6,7}.

2.) Ellenanyagvizsgálatok

A CDC 1996-os esetdefiníciója⁸ a korábban „gold standard”-ként alkalmazott komplementkötési reakcióval kapcsolatban (KKR) felhívja a figyelmet arra, hogy az ez eljárás nem elég specifikus, mivel a *C. pneumoniae*, ill. *C. trachomatis* keresztreakciók álpozitív eredményt adhatnak.⁷ A mikroimmunfluoreszcens (MIF) tesztet specifikusabb eljárásként említik, ugyanakkor sokkal költségesebb vizsgálóeljárás, és az összehasonlító sorozathígításos eljárás nagy mennyiségű mintán rutinszerűen nem alkalmazható. A módszer előnye, hogy a KKR-rel szemben a betegség jóval korábbi fázisában (általában a 10.-14. naptól) eredményesen alkalmazható szerodiagnosztikai módszer, és külön-külön vizsgálhatók az egyes immunglobulin-izotípusok titerei (IgA, IgG, ill. IgM). Laboratóriumunk a fertőzés korai szakaszában a specifikus IgA-t 1:32-es; az IgG-t 1:256-os és az IgM-et a CDC kritériumoknak megfelelően 1:16-os hígításban vizsgálja. Az eredmények interpretációjához fontos, hogy tudjuk, mennyi idő telt el a tünetek jelentkezése és a mintavétel között. Az inkubációs idő általában 5-19 nap között változhat. Az ornithosisgyanús megbetegedés korai szakaszában (első két hétben) beküldött mintákkal kapcsolatban összefoglalásképp megállapítható:

A *C. pneumoniae* negatív/*C. psittaci* negatív minták esetében csak a savópár vizsgálatával derülhet fény a kórkép etiológiai tényezőjére. A negatív szerológiai lelet önmagában nem kizáró tényező. A túl korai mintavétel mellett arra is gondolni kell, hogy az antibiotikus kezelés is késleltetheti a specifikus ellenanyagválasz kialakulását.⁹

A *C. pneumoniae* pozitív/*C. psittaci* negatív esetekről a hetekkel később beküldött savópár vizsgálata után kiderülhet, hogy *C. psittaci* pozitív (*C. pneumoniae*-vel csak keresztreakciót adó) minták, ezért ezekről kezdetben csak óvatosan nyilatkozhatunk.

A *C. psittaci* pozitív esetek igazolhatják a járvány etiológiáját; itt a savópároknál IgG titeremelkedésre számítunk. (A gyakori *C. pneumoniae* pozitivitást nem koinfekciónak, hanem fentiekhez hasonlóan keresztreakciónak tartjuk.¹⁰)

A pozitív eredményeket az alábbiak szerint értékeljük:

Igazolt friss eset:

- *C. psittaci* specifikus IgM 1:16 ≤ szérumhígításban pozitív (első vagy második minta) és/vagy
 - a savópárok párhuzamosan történő sorozathígításos vizsgálata során *C. psittaci* specifikus IgA/IgG/IgM titeremelkedés észlelhető (második minta)
 - önmagában az IgG titeremelkedés is diagnosztikus értékű (második minta)
- Ezekben az esetekben az „**Aktuális *C. psittaci* fertőzés (ornithosis) igazolható**” eredményt közöljük.

Valószínű friss eset:

Az első szérumminta *C. psittaci* specifikus IgA ÉS IgG pozitívítást észlelünk (kérdés, hogy ez átfertőzöttségéből eredő, perzisztáló antitestek jelenlétére utal-e, vagy a fertőzés korai stádiumára, ami csak ismételt, összehasonlító vizsgálattal dönthető el.) Ezekben az esetekben az „**Aktuális C. psittaci fertőzés (ornithosis) valószínűsíthető**” eredményt közöljük.

Kérdéses friss eset:

Abban az esetben, ha csak *C. psittaci* specifikus IgA VAGY IgG pozitívítást találunk, az „**Ornithosis?**” megjegyzéssel egészítjük ki a leletet. (első minta)

Összegezve megállapíthatjuk, hogy az ornithosis laboratóriumi diagnosztikájában a vizsgált beteg anamnézise, az alkalmazott antibiotikus terápia, az infekció feltételezhető stádiuma és a rendelkezésre álló klinikai minták függvényében eltérő súllyal esnek latba a szerológiai és a közvetlen kimutatási módszerek; a kapott eredmények interpretálásához pedig hangsúlyozottan szükséges az előbbi adatok ismerete.

Irodalom:

Az ornithosis laboratóriumi diagnosztikai módszereinek fejlesztése I.

1. Geens, T. et al: Development of a *Chlamydophila psittaci* species-specific and genotype-specific real-time PCR. Vet. Res. (2005) 36, 787-797
2. Gear, J. H. et al: Psittacosis in the RSA. S. Afr. Med. J. (1986) 69, (11): 689-93
3. Verweij, P. E et al: Severe human psittacosis requiring artificial ventilation: case report and review. Clin. Infect. Dis. (1995) 20 (2): 440-2
4. Haas, L. E. et al: Severe pneumonia from psittacosis in a bird-keeper. Ned. Tijdschr. Geneesk. (2006) 21 (3):117-21

Az ornithosis laboratóriumi diagnosztikai módszereinek fejlesztése II.

5. Greco, G. et al: Detection of *Chlamydophila psittaci* in Asymptomatic Animals. J. Clin. Microbiol. (2005) 43, (10):5410-5411
6. Toyokawa, M. et al: Severe *Chlamydophila psittaci* pneumonia rapidly diagnosed by detection of antigen in sputum with immunochromatography assay. J. Infect. Chemother. (2004) 10:245-249
7. Messmer, T. O. et al: Application of a Nested, Multiplex PCR to Psittacosis Outbreaks. J. Clin. Microbiol. (1997) 35, (8):2043-2046
8. Case Definitions for Infectious Conditions under Public Health Surveillance - Psittacosis, CDC, 1996
9. Psittacosis – Division of Bacterial and Mycotic Diseases; CDC, Oct 13. 2005
10. Wagenvoort, JHT et al: How useful is the Chlamydia micro-immunfluorescens test for the gynaecologist? Eur. J. Obstet. Gynaecol. (1999) 84:13-15