

Tartalom:

Szakmai tájékoztató az EUCAST antibiotikum érzékenység vizsgálati rendszerére való áttéréshez – Útmutató aerob és mikroaerofil baktériumok antibiotikum érzékenységének korongdiffúziós meghatározásához – EUCAST v4.0 verzió alapján

Tóth Ákos, Kristóf Katalin, Nikolova Radka, Tirczka Tamás

Szakmai tájékoztató az EUCAST antimycoticum érzékenység vizsgálati rendszerre való áttéréshez – Útmutató az EUCAST 6.1verzió alapján

Nikolova Radka

Az EUCAST ajánlásai a klinikai és/vagy epidemiológiai jelentőségű rezisztencia mechanizmusok és rezisztenciák detektálására – magyar fordítás
Eredeti dokumentum szerzői: „Detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance” EUCAST albizottság tagjai

A magyar fordításban közreműködtek: Berta Brigitta, Jánvári Laura, Pongrácz Júlia, Tóth Ákos, Ungvári Erika

Carba NP teszt- a karbapenemáz-termelés gyors fenotípusos kimutatása

Jánvári Laura, Tóth Ákos

Kiadja: Országos Epidemiológiai Központ

A kiadó és a szerkesztőség székhelye: 1097 Budapest, Albert Flórián út 2-6.

Felelős kiadó: Dr. Visontai Ildikó, főigazgató-helyettes főorvos

Alapító szerkesztők:

Dr. Füzi Miklós (Ph.D.)

Dr. Gacs Mária

Felelős szerkesztő:

Dr. Visontai Ildikó

Szerkesztő:

Dr. Csire Márta (Ph.D.)

Dr. Tirczka Tamás

Dr. Tóth Ákos (Ph.D.)

Technikai szerkesztő:

Ertlne Czinege Ildikó

Huszár Csilla

Olvasó szerkesztő:

Dr. Gacs Mária

Készült az Országos Tisztifőorvosi Hivatal nyomdájában
220 példányban

Nyomdavezető: Novák Anikó

ISSN 2063-9805 (Nyomtatott)

ISSN 2063-9813 (Online)

A Mikrobiológiai Körlevelek az OEK honlapján

www.oek.hu elérhetőek

Tisztelt Olvasó!

A Mikrobiológiai Körlevél jelen számának első felében az EUCAST aerob és mikroaerofil baktériumok korongdiffúziós érzékenységi vizsgálataira, valamint az antifungális érzékenységi vizsgálatokra vonatkozó legújabb ajánlásai alapján készült útmutatók olvashatóak. Az anaerob baktériumok érzékenységi vizsgálataira vonatkozó ajánlásban nem történt jelentős változás a tavalyi évhez képest, ezért nem került ebben a számban újra publikálásra. Az útmutató a Mikrobiológiai Körlevél XIII. évf. 1. számában olvasható.

A szám második felében az EUCAST klinikai és/vagy epidemiológiai jelentőségű rezisztencia mechanizmusok és rezisztenciák detektálására vonatkozó ajánlásának magyar fordítása olvasható - kiegészítve a referencia laboratóriumok megjegyzéseivel. Továbbá a szám végén egy rövid összefoglaló található a Carba NP módszerről, ami egy nagyon ígéretes új fenotípusos módszer az *Enterobacteriaceae* izolatumok karbapenemáz-termelésének kimutatására.

Fontos kiemelni, hogy az EUCAST honlapján publikált minden dokumentum szerzői joga az EUCAST-nál marad, és ezek mindegyike ingyenesen elérhető az EUCAST honlapjáról. A dokumentumok és az adatok felhasználhatóak, amennyiben ezek a továbbiakban is ingyenesek maradnak, és az EUCAST honlapjára történő hivatkozás feltüntetésre kerül. Az adatok bármilyen másodlagos publikációjánál a következő nyilatkozatot kell tenni:

„Ezeket az adatokat (vagy ezeket a dokumentumokat) az Európai Betegségmegelőzési és Járványügyi Központtal (ECDC) kötött szolgáltatási szerződés részeként hozták létre, és az EUCAST tette ingyenesen elérhetővé. Az EUCAST honlapján (www.eucast.org) szabadon hozzáférhetőek az eredeti változatok. Az EUCAST ajánlásait rendszeresen frissítik, és a legújabb verziók a www.eucast.org honlapon érhetőek el.”

Dr. Visontai Ildikó
A Mikrobiológiai Körlevél felelős szerkesztője

Szakmai tájékoztató az EUCAST antibiotikum érzékenység vizsgálati rendszerére való áttéréshez – Útmutató aerob és mikroaerofil baktériumok antibiotikum érzékenységének korongdiffúziós meghatározásához – EUCAST v4.0 verzió alapján

Utolsó frissítés: 2014.03.07. (kiemelések: változások a legutóbbi dokumentumhoz képest)

Első változatot összeállította: Tóth Ákos¹, Kristóf Katalin², Füzi Miklós²

2013 évi frissítésben közreműködtek: Tóth Ákos¹, Kristóf Katalin², Nikolova Radka³, Konkoly Thege Marianne³

2014 évi frissítésben közreműködtek: Tóth Ákos¹, Kristóf Katalin², Nikolova Radka³, Tirczka Tamás¹

¹Országos Epidemiológiai Központ, ²Semmelweis Egyetem, ³Egyesített Szent István és Szent László kórház

Antibiotikum érzékenységi vizsgálatokhoz ajánlott táptalajok:

Baktérium	Táptalaj/Inokulum sűrűség
<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Acinetobacter</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Enterococcus</i> spp.	Mueller-Hinton agar (MH)/ 0,5 McFarland
<i>Streptococcus pneumoniae</i> * <i>Streptococcus</i> A, B, C és G csoport Egyéb streptococcusok <i>Haemophilus</i> spp. <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Campylobacter jejuni</i> és <i>C. coli</i> <i>Pasteurella multocida</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Corynebacterium</i> spp.	Mueller-Hinton agar + 5% defibrinált lóvér + 20 mg/L β-NAD (MH-F)/ 0,5 McFarland (* <i>S. pneumoniae</i> esetében ha csokoládé agarról készül a szuszpenzió: 1,0 McFarland)
Egyéb tápanyagigényes baktériumok	Még nincs meghatározva

Antibiotikum érzékenységi vizsgálatok minőségellenőrzéséhez használandó törzsek listája:

- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- *Haemophilus influenzae* NCTC 8468
- *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619
- *Campylobacter jejuni* ATCC 33560

Breakpoint táblázatban található rövidítések magyarázata (http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/):

1. „-„: Az érzékenységi vizsgálat elvégzése nem ajánlott. Mivel a baktérium gyenge célpontja az antibiotikumnak, ezért ha a kiadott antibiotikumok között szerepel ilyen hatóanyag, **akkor vizsgálat nélkül rezisztensnek kell kiadni.**
2. „IE” – Insufficient evidence: nincs elegendő bizonyíték az antibiotikum terápiás hatékonyságáról; a MIC érték kiadható megjegyzéssel, de érzékenységi kategóriák (É, M, R) nélkül
3. „IP” – In Preparation: meghatározása folyamatban
4. „NA” – Not Applicable: nem alkalmazható – pl. korábban (CLSI ajánlásban) érzékenység/rezisztencia szűréséhez használt antibiotikum, melyet most nem ajánlanak (pl. *Salmonella* spp. – nalidixsav)

Korongdiffúziós vizsgálatok

Fontos szabály:

Az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok eredményeinek helyes értékeléséhez elengedhetetlen, hogy a vizsgálat kivitelezése az EUCAST ajánlásainak megfelelően történjen.

(http://www.eucast.org/eucast_disk_diffusion_test/disk_diffusion_methodology/)

A vizsgálat kivitelezése alapvetően megegyezik a CLSI-ban ajánlottakkal.

Néhány kiemelő tudnivaló:

1. A baktériumszuszpenzió készítése nem szelektív, antimikróbás szert nem tartalmazó táptalajon kinőtt telepekből történjen (pl. MRSA, ESBL chromagarról nem lehet közvetlenül antibiotikum érzékenységi vizsgálatot végezni).
2. Azonban csak differenciáló táptalajról (pl. Uriselect) készíthető szuszpenzió.
3. Baktérium szuszpenzió készítése: 0,5 McFarland 0,85% fiziológiás sóoldatban (az EUCAST nem ajánlja az előtenyésztést)
4. „15-15-15 perces szabály” betartása!
5. Az EUCAST 16-20 órás inkubálást ír elő (megfelelő hőmérsékleten (35 ± 1 °C,) és atmoszférában).
(*Campylobacter jejuni* és *C. coli* esetében: 24 órás inkubáció, 41 ± 1 °C, mikroaerofil környezet.)

Az antibiotikum érzékenység megfelelő interpretációjához a vizsgált izolátum megfelelő identifikálása szükséges. Az interpretálásnál figyelembe kell venni a természetes rezisztenciát, a ritka, különleges rezisztenciákat, illetve a szerzett rezisztencia mechanizmusok alapján készült interpretációs szabályokat.

Ezeket az információkat az EUCAST szakértői szabályai tartalmazzák, melynek 2011. október 29-től érvényes változata az EUCAST honlapjáról elérhető: http://www.eucast.org/expert_rules/

A táblázatokban található értékek, megjegyzések az **EUCAST 2014. január 1-jétől érvényben lévő aerob baktériumok antibiotikum érzékenységi határértékeit (v4.0)** [1] tartalmazó ajánlása alapján, illetve a **2011. október 29-én érvénybe lépett** EUCAST szakértői ajánlás alapján készültek [2].

Antibiotikum tartalmú korongok CLSI-től eltérő hatóanyagtartalma:

Általános változások:

Hatóanyag	CLSI (µg)	EUCAST (µg)
Piperacillin	100	30
Piperacillin/tazobactam	100/10	30/6
Cefotaxim	30	5
Ceftazidim	30	10
Netilmicin	30	10
Nitrofurantoin	300	100
Penicillin	10 U	1 U
Linezolid	30	10

Egyes baktériumcsoportokra érvényes változások

Baktériumcsoport	Hatóanyag	CLSI (µg)	EUCAST (µg)
Haemophilus, Enterococcus	Ampicillin	10	2
Enterococcus	Gentamicin	120	30
Enterococcus, Streptococcus	Vancomycin	30	5
<i>H. influenzae</i> <i>M. catarrhalis</i>	Amoxicillin/klavulánsav	20/10	2/1

Adott baktériumcsoport esetében vizsgálható antibiotikumok körét mindig az aktuális EUCAST ajánlás tartalmazza! [1]

Egyes baktérium csoportoknál ebben az összeállításban az identifikálást segítő antibiotikumok is ajánlásra kerülnek, mint „diagnosztikus korongok” (pl. polymyxin B, novobiocin). Ezek az EUCAST ajánlásában nem szerepelnek.

A CLSI-től eltérő hatóanyagtartalmakat tartalmazó korongok kiemelve láthatóak a táblázatokban (**félkövér, nagyobb betűméret**)

A) Ajánlott antibiotikumok a nem vizeletből és nem enterális fertőzésből származó *Enterobacteriaceae* izolátumok érzékenységének vizsgálatához.

Minimálisan vizsgálandó antibiotikumok köre:

A1. lemez (az antibiotikumok felsorolása a felhelyezés ajánlott sorrendjében történik)

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Ampicillin	10	≥14	-	<14	2. pont
Cefuroxim	30	≥18	-	<18	3. pont
Ertapenem	10	≥25	24-22	<22	11. pont
Ceftazidim	10	≥22	21-19	<19	7., 8., 9. pont
Amoxicillin/klavulánsav	20/10	≥19	-	<19	7., 9. pont
Ceftriaxon	30	≥23	22-20	<20	7., 8., 9. pont

A2. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Piperacillin/tazobactam	30/6	≥20	19-17	<17	7., 9. pont
Aztreonam	30	≥27	26-24	<24	
Tigecyclin	15	≥18	17-15	<15	5. pont
Trimethoprim-sulfamethoxazol	1.25-23.75	≥16	15-13	<13	
Cefepim	30	≥24	23-21	<21	7., 9. pont
Polymyxin B	300	diagnosztikus			16. pont

A3. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Imipenem	10	≥22	21-16	<16	4. pont
Meropenem	10	≥22	21-16	<16	
Ciprofloxacín	5	≥22	21-19	<19	13., 14. pont
Amikacin	30	≥16	15-13	<13	15. pont
Tobramycin	10	≥17	16-14	<14	15. pont
Gentamicin	10	≥17	16-14	<14	15. pont

Vizsgálatra ajánlható további antibiotikumok:

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Cefotaxim	5	≥20	19-17	<17	8., 9. pont
Cefoxitin	30	≥19	-	<19	AmpC-termelés szűrésére

B) Ajánlott antibiotikumok a vizeletből izolált *Enterobacteriaceae* izolátumok érzékenységének vizsgálatához.

B1. lemez – Megegyezik az A1 lemezzel!

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Ampicillin	10	≥14	-	<14	2. pont
Cefuroxim	30	≥18	-	<18	3. pont
Ertapenem	10	≥25	24-22	<22	11. pont
Ceftazidim	10	≥22	21-19	<19	7., 8., 9. pont
Amoxicillin/klavulánsav	20/10	≥16	-	<16	7., 9. pont
Ceftriaxon	30	≥23	22-20	<20	7., 8., 9. pont

B2. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Cefixim	5	≥17	-	<17	
Ciprofloxacín	5	≥22	21-19	<19	13. pont
Norfloxacin	10	≥22	21-19	<19	
Trimethoprim-sulfamethoxazol	1.25-23.75	≥16	15-13	<13	
Polymyxin B	300	diagnosztikus			16. pont
Gentamicin	10	≥17	16-14	<14	

Vizsgálatra ajánlható további antibiotikumok:

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Nitrofurantoin	100	≥11	-	<11	6. pont
Cefoxitin	30	≥19	-	<19	AmpC-termelés szűrésére
Cefalexin	30	≥14	-	<14	enyhe, alsó húgyúti infekció esetében

Multirezisztens izolátum gyanújánál ajánlott, az A2. és A3. lemezen található antibiotikumok érzékenységét is vizsgálni.

Enterobacteriaceae izolátumok esetében korongdiffúziós vizsgálattal nem vizsgálható antibiotikumok és azok MIC határértékei:

Hatóanyag	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Colistin	≤2	-	>2	
Tigecyclin	≤1	2	>2	5. pont
Fosfomicin	≤32	-	>32	korongdiffúziós határértékek meghatározása folyamatban

Megjegyzések az *Enterobacteriaceae* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

1. Az egyes *Enterobacteriaceae* fajok természetes rezisztenciáját az "EUCAST Expert Rules in Antimicrobial Susceptibility Testing" cikk 1. táblázata mutatja [2].
2. Ampicillin érzékenységet csak *E. coli* és *Proteus mirabilis* esetén szabad kiadni.
3. Nem húgyúti fertőzések esetében a cefuroxim érzékenység csak *E. coli*-nál, Klebsiella fajoknál és *Proteus mirabilis*-nél adható ki.
4. *Proteus*, *Providencia* és *Morganella* fajok imipenem vizsgálati eredményét nem ajánlott kiadni, helyette a meropenem vizsgálati eredményét kell jelezni.
5. A tigecyclin antibiotikum koronggal történt vizsgálat eredménye csak *E. coli* esetében adható ki. Egyéb *Enterobacteriaceae* családba tartozó fajoknál (kivéve: *Morganella*, *Proteus*, *Providencia* fajok, melyeknél vizsgálata nem ajánlott, vagy rezisztensnek interpretálandó) MIC meghatározás végzendő.

6. Nitrofurantoin vizsgálati eredménye csak *E. coli* esetében adható ki, és megjegyzésben ajánlott feltüntetni, hogy a nitrofurantoin csak alsó húgyúti infekcióban adható.
7. A kombinált β -laktamáz gátlót is tartalmazó szerek és a 3. generációs cefalosporinok korongjait célszerű egymás mellé helyezni az esetleges ESBL termelés kimutatására.
8. Enterobacter és Serratia fajok, valamint *Citrobacter freundii* és *Morganella morganii* esetében, ha az izolátumok érzékenyek cefotaximra, ceftriaxonra vagy ceftazidimre az eredmény kiadáskor megjegyzésként írja oda, hogy a szerek használata monoterápiában nem ajánlott, mivel rezisztens mutánsok nagyon könnyen kiszelektálódhatnak. Javasolt kombinációs antibiotikum: aminoglikozid származékok (gentamicin, amikacin). Súlyos klinikai kép esetén infektológiai konzílium javasolt.
9. Ha a vizsgált izolátum bármelyik 3. vagy 4. generációs cefalosporinra rezisztens vagy mérsékelten érzékeny, de az amoxicillin/klavulánsav, ampicillin/sulbactam vagy piperacillin/tazobactam korongok körül érzékenyek megfelelő gátlási zóna látható, akkor ezt az érzékeny eredményt csak alsó húgyúti infekcióban szabad kiadni. Egyéb anatómiai lokalizációjú infekcióban az aminopenicillin kombinációkat rezisztensnek, a piperacillin/tazobactamot mérsékelten érzékenynek kell tekinteni.
10. Amennyiben a vizsgált izolátum ESBL-termelő és van olyan cefalosporin származék, amelyre érzékenységet mutat, az érzékeny eredményt csak MIC meghatározás mellett szabad kiadni, és ajánlott a klinikus figyelmét felhívni, hogy cefalosporinok alkalmazásának terápiás sikere kérdéses, a terápia megválasztásához infektológiai konzílium javasolt.
11. Karbapenemáz-termelés szűrésére az ertapenem vagy a meropenem korong használata ajánlott [3].
12. Amennyiben a vizsgált izolátum gyanítottan karbapenemáz enzim termelő, de korongdiffúziós módszerrel karbapenemekkel szemben *in vitro* érzékenységet vagy mérsékelt érzékenységet mutat, akkor az érzékeny eredményt csak MIC meghatározás mellett szabad kiadni, és ajánlott a klinikus figyelmét felhívni, hogy karbapenem antibiotikumok alkalmazásának terápiás sikere kérdéses. A terápia megválasztásához infektológiai konzílium javasolt.
13. Ha az izolátum rezisztens ciprofloxacinnra, akkor a többi fluorokinolonnal szemben is rezisztensnek kell kiadni.
14. ***Salmonella spp.*** esetében már az alacsony szintű ciprofloxacinnal szembeni rezisztencia (MIC érték >0,06 mg/L) is sikertelen terápiához vezethet szisztémás fertőzések esetében, ezért MIC meghatározás ajánlott. **A salmonellák ciprofloxacinnal szembeni érzékenységét pefloxacin (5 μ g) koronggal is lehet vizsgálni. Ha a pefloxacin korong körüli gátlási zóna ≥ 24 mm, akkor az izolátum kiadható ciprofloxacinnal szemben érzékenynek, illetve ha <24 mm, akkor rezisztensnek. Pefloxacin érzékenységet nem kell kiadni!**

15. Szerzett aminoglikozid rezisztenciákra vonatkozó interpretálási szabályok:

szabály	in vitro eredmény			eredmény interpretálása		
	gentamicin	tobramycin	amikacin	gentamicin	tobramycin	amikacin
A	É	M	É	É	M	M
	É	R	É	É	R	M
B	M	É	É	R	É	É
C	R	M	É	R	R	É
D*	R	R	É	R	R	M

*D szabály: A hazai ESBL és/vagy karbapenemáz-termelő *Enterobacteriaceae* törzsekkel végzett vizsgálatok alapján a tobramycinnel szemben rezisztens izolátumok hordozzák az *aac(6')-Ib/aac(6')-Ib-cr* gént. Ezért az „A” szabályt figyelembe véve a „D” szabállyal kerül kiegészítésre az EUCAST ajánlása. [5-9]

16. Polymyxin B (diagnosztikus korong): *Proteus* spp. *Morganella*, *Providencia* spp. izolátumoknál a legtöbb esetben nincs gátlási zóna, míg a *Serratia* spp. izolátumok rezisztenciáját általában a gátlási zónán belül megjelenő telepek mutatják.

C) Ajánlott antibiotikumok a *Pseudomonas* spp. izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységeinek vizsgálatához

C1. lemez. Összeállítása megegyezik az A3. jelű lemezzel, de az értékelés eltér!

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Imipenem	10	≥20	19-17	<17	
Meropenem	10	≥24	23-18	<18	
Ciprofloxacin	5	≥25	24-22	<22	
Amikacin	30	≥18	17-15	<15	7. pont
Tobramycin	10	≥16	-	<16	7. pont
Gentamicin	10	≥15	-	<15	7. pont

C2. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Piperacillin/tazobactam	30/6	≥18	-	<18	2. pont
Ceftazidim	10	≥16	-	<16	
Cefepim	30	≥19	-	<19	4. pont
Levofloxacin	10	≥20	19-17	<17	
Polymyxin B	300	Diagnosztikus			
Doripenem	10	≥25	24-22	<22	5. pont

Korongdiffúziós vizsgálattal nem vizsgálható antibiotikumok és azok határértékei:

Hatóanyag	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Colistin	≤ 4	-	> 4	6. pont

Megjegyzések a Pseudomonas izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

1. A pseudomonas izolátumok természetes rezisztenciáját az "EUCAST Expert Rules in Antimicrobial Susceptibility Testing" cikk 2. táblázata mutatja [2].
2. Piperacillin/tazobactam határértékek magas dózisú terápiára vonatkoznak (4x4g piperacillin).
3. A piperacillin/tazobactam MIC meghatározáshoz a tazobactam koncentrációnak 4mg/L kell lennie.
4. A cefepim határértékek magas dózisú terápiára vonatkoznak [4].
5. A doripenem határértékek magas dózisú terápiára vonatkoznak [4].
6. Multirezisztens izolátum esetében a colistin MIC meghatározása ajánlott.
7. Szerzett aminoglikozid rezisztenciákra vonatkozó interpretálási szabályok:

szabály	<i>in vitro</i> eredmény			eredmény interpretálása		
	gentamicin	tobramycin	amikacin	gentamicin	tobramycin	amikacin
A	É	R	É/M	É	R	R

D) Ajánlott antibiotikumok *Acinetobacter* spp. izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységének vizsgálatához:

D1. lemez **Összeállítása megegyezik az A3. lemezzel, de az értékelés eltér!**

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Imipenem	10	≥23	22-17	<17	
Meropenem	10	≥21	20-15	<15	
Ciprofloxacin	5	≥21	-	<21	
Amikacin	30	≥18	17-15	<15	5. pont
Tobramycin	10	≥17	-	<17	5. pont
Gentamicin	10	≥17	-	<17	5. pont

D2. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Trimethoprim-sulfamethoxazol	1.25-23.75	≥16	15-13	<13	
Levofloxacin	5	≥21	20-18	<18	
Doripenem	10	≥23	22-20	<20	4. pont

Korongdiffúziós vizsgálattal nem vizsgálható antibiotikumok és azok határértékei:

Hatóanyag	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Colistin	≤ 2	-	> 2	3. pont

Megjegyzések az *Acinetobacter* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

1. Az acinetobacterek természetes rezisztenciáját az "EUCAST Expert Rules in Antimicrobial Susceptibility Testing" cikk 2. táblázata mutatja [2].
2. Az ampicillin/sulbactam és tigecyclin határértékeket nem határoztak meg, ezért ezen a listán nem szerepelnek.
3. A colistin érzékenység meghatározása csak MIC vizsgálat alapján történhet. Elvégzése karbapenem rezisztencia esetén javasolt.
4. **A doripenem határértékek magas dózisu terápiára vonatkoznak [4].**

Szerzett aminoglikozid rezisztenciákra vonatkozó interpretálási szabályok:

szabály	<i>in vitro</i> eredmény			eredmény interpretálása		
	gentamicin	tobramycin	amikacin	gentamicin	tobramycin	amikacin
A	É	R	É/M	É	R	R

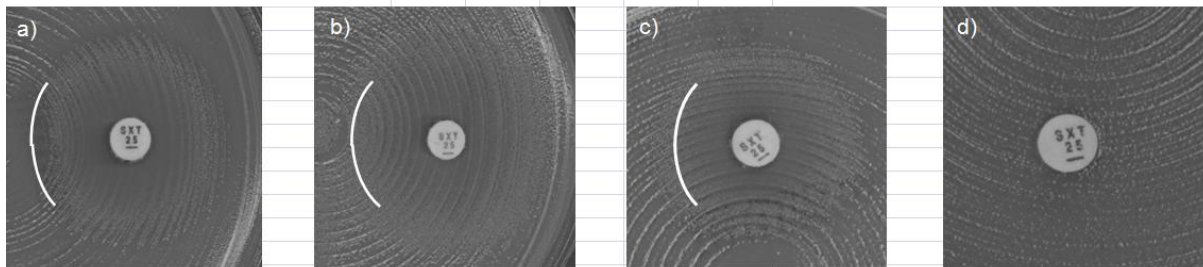
E) Ajánlott antibiotikumok *Stenotrophomonas maltophilia* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységének vizsgálatához

E1. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Trimethoprim-sulfamethoxazol	1.25-23.75	≥16	-	<16	1., 2.

Megjegyzések a *Stenotrophomonas maltophilia* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

1. A korongdiffúziós vizsgálat kiértékelése:



a-c) Ha látszik valamilyen gátlási zóna és az ≥ 16 mm, akkor érzékenynek kell kiadni az izolátumot

d) Ha teljes a benövés a korongig, és nincs semmilyen gátlási zóna, akkor rezisztensnek kell interpretálni.

2. *Stenotrophomonas maltophilia* izolátumok természetes rezisztenciát mutatnak minden β -laktám antibiotikummal és az aminoglikozidokkal szemben. Az *in vitro* antibiotikum érzékenységi vizsgálati eredmények és az *in vivo* hatékonyság között csak trimethoprim-sulfamethoxazol esetében találtak jó összefüggést, ezért az EUCAST csak erre az antibiotikumra határozott meg klinikai határértékeket. [10]

F) Ajánlott antibiotikumok *Staphylococcus* spp. izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységének vizsgálatához

Minimálisan vizsgálandó antibiotikumok köre:

F1. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)		Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
			Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Cefoxitin	30	<i>S. aureus</i> , <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. saprophyticus</i>	≥22	-	<22	2. pont
		<i>S. pseudintermedius</i>	≥35	-	<35	2. pont
		koaguláz-negatív Staphylococcus	≥25	-	<25	2. pont
Erythromycin	15		≥21	20-18	<18	5., 6., 7. pont
Clindamycin	2		≥22	21-19	<19	6., 7. pont
Gentamicin	10	<i>S. aureus</i>	≥18	-	<18	10. pont
		koaguláz-negatív Staphylococcus	≥22	-	<22	10. pont
Tobramycin	10	<i>S. aureus</i>	≥18	-	<18	9. pont
		koaguláz-negatív Staphylococcus	≥22	-	<22	9. pont
Amikacin	30	<i>S. aureus</i>	≥18	17-16	<16	
		koaguláz-negatív Staphylococcus	≥22	21-19	<19	

F2. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Norfloxacin	10	≥17	-	<17	12. pont
Tetracyclin	30	≥22	21-19	<19	20. pont
Tigecyclin	15	≥18	-	<18	
Trimethoprim-sulfamethoxazol	1.25-23.75	≥17	16-14	<14	
Mupirocin	200	≥30	29-18	<18	16. pont
Rifampicin	5	≥26	25-23	<23	

További javasolt vizsgálandó antibiotikumok, elsősorban **methicillin rezisztens *Staphylococcus* spp. izolátumok** esetében:

F3. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Fusidinsav	10	≥24	-	<24	
Linezolid	10	≥19	-	<19	
Ciprofloxacin	5	≥20	-	<20	13., 15. pont
Moxifloxacin	5	≥24	23-21	<21	14. pont
Quinupristin/dalfopristin	15	≥21	20-18	<18	8., 17. pont

Vizsgálatra ajánlható további antibiotikumok:

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Penicillin (<i>S. aureus</i>)	1 U	≥26	-	<26	21. pont
Penicillin (<i>S. lugdunensis</i>)	1 U	≥26	-	<26	
Vizelet minta esetében					
Novobiocin	5	Diagnosztikus			18. pont
Nitrofurantoin (<i>S. saprophyticus</i>)	100	≥13	-	<13	19. pont
Ampicillin (<i>S. saprophyticus</i>)	2	≥15	-	<15	2. pont

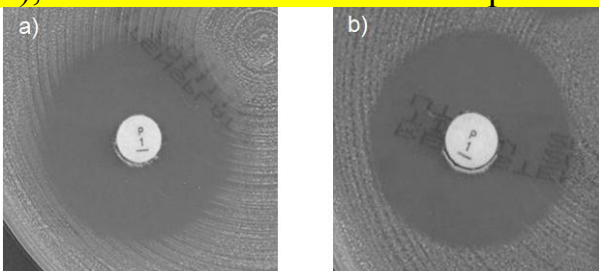
Korongdiffúziós vizsgálattal nem vizsgálható antibiotikumok és azok határértékei:

Hatóanyag		MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Vancomycin	<i>S. aureus</i>	≤2	-	>2	3. pont
	coag. neg, <i>Staphylococcus</i>	≤4	-	>4	3. pont
Teicoplanin	<i>S. aureus</i>	≤2	-	>2	3. pont
	coag. neg, <i>Staphylococcus</i>	≤4	-	>4	3. pont

Megjegyzések a *Staphylococcus* sp. izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

1. A *Staphylococcus* sp. izolátumok természetes rezisztenciáját az "EUCAST Expert Rules in Antimicrobial Susceptibility Testing" cikk 4. táblázata mutatja [2].
2. A cefoxitin érzékenység vizsgálata az oxacillin rezisztencia megállapítására szolgál, ezért a cefoxitin rezisztens izolátumokat MRSA-nak (illetve methicillin-rezisztens *Staphylococcus* spp.-nek) kell tekinteni és valamennyi β -laktám származékra rezisztensnek kell kiadni (kivéve az MRSA ellen is használható cefalosporinokkal szemben: pl. ceftarolin). **Ajánlott az oxacillin érzékenység/rezisztencia interpretálása a bakteriológiai leleten!**
S. saprophyticus izolátumok esetében vizsgálható az ampicillin érzékenység, és az ampicillin érzékeny izolátumok oxacillin/methicillinre is érzékenyek interpretálhatók (cefoxitin érzékenységi vizsgálat nem szükséges).
3. Valamennyi methicillin rezisztens staphylococcus esetén vancomycin (és helyi klinikusi igény alapján teicoplanin) érzékenységi vizsgálatot el kell végezni MIC meghatározással. Ha *S. aureus* izolátumok esetében a vancomycin MIC értéke 2 mg/L, a leletet azzal a megjegyzéssel adjuk ki, hogy csökkent klinikai hatás fordulhat elő. A terápia megválasztásához infektológiai konzílium javasolt.
4. Methicillin érzékeny *Staphylococcus aureus* izolátumok glikopeptid érzékenységének vizsgálatára 5 mg/L teicoplanin tartalmú szűrőlemez használata ajánlott (lsd. Mikrobiológiai Körlevél IX. évf. 1. szám)
5. Az erythromycin érzékenység alapján az azithromycin, clarithromycin és roxithromycin érzékenység is kiadható.
6. Az erythromycin korong közelébe helyezett clindamycin korong lehetővé teszi az indukálható clindamycin rezisztencia detektálását. Azonban ha a diszpenzerrel felhelyezett korongok esetében egy erythromycin rezisztens és clindamycin érzékeny izolátumoknál nem tapasztalható az indukálhatóság, akkor D-teszt elvégzése ajánlott. **D-teszt kivitelezése:** A teszt kivitelezésében és az inokulum beállításában a standard korong diffúziós eljárást kell alkalmazni. A clindamycin (2 μ g) és erythromycin (15 μ g) korongokat egymástól 12-20 mm távolságra kell elhelyezni. Pozitív eredmény esetén a clindamycin korong körül az erythromycin korong oldali gátlási zóna torzul („D” betű alakú lesz). (lsd. 7. pont)
7. A D-teszt eredményének interpretálása:
 - a. Ha a D-teszt eredménye negatív: Az izolátum clindamycin érzékeny.
 - b. Ha a D-teszt eredménye pozitív, **AKKOR:**
az izolátumot clindamycinnel szemben **rezisztensnek** kell interpretálni, és **szükség esetén** a megjegyzésben hozzáfűzni: „A clindamycin használható enyhe bőr és légyszövet fertőzések rövid ideig tartó kezelésére, mivel a rezisztencia kialakulásával ilyenkor nem kell számolni.”
8. Ha az izolátum clindamycin rezisztens, **AKKOR** a quinupristin/dalfopristin érzékeny eredményhez megjegyzést kell fűzni: „A quinupristin/dalfopristin csökkent baktericid hatással rendelkezik.”

9. Ha az izolátum tobramycin rezisztens, akkor kanamycinnel és amikacinnal szemben is rezisztens.
10. Ha az izolátum gentamicin rezisztens, akkor minden aminoglikoziddal szemben rezisztens.
11. Az amikacin érzékenység meghatározására a kanamycin korong lenne a legalkalmasabb, erre vonatkozóan azonban még nem rendelkezünk EUCAST határértékekkel.
12. Norfloxacin (10 µg) érzékenység esetén az izolátum kiadható érzékenynek ciprofloxacinra, levofloxacinra, moxifloxacinra és ofloxacinra. Amennyiben a norfloxacin gátlási zóna <17 mm, akkor ciprofloxacin és moxifloxacin érzékenység meghatározása ajánlott. **Norfloxacin érzékenységet nem kell kiadni!**
13. Ha az izolátum ofloxacin/ciprofloxacin rezisztens, de levofloxacin/moxifloxacin érzékeny, akkor meg kell jegyezni, hogy a kinolon terápia során rezisztencia alakulhat ki.
14. Ha az izolátum levofloxacin/moxifloxacin rezisztens, akkor minden fluorokinolonra rezisztens.
15. A ciprofloxacin határértékek magas dózisu terápia (orális terápia napi 2x750mg, intravénás terápia napi 3x400mg) vonatkoznak [4].
16. Mupirocin: az eredmény a nasalis dekolonizáció sikerességére utal. Mérsékelt érzékeny izolátumoknál a mupirocin kezelés kezdetben sikeres lehet, de gyakori a rekolonizáció.
17. Quinupristin/dalfopristin: amennyiben az izolátum korong diffúzióval nem-érzékenynek bizonyul, az eredményt MIC meghatározással kell megerősíteni.
18. *Staphylococcus saprophyticus* törzsek természetes rezisztenciával rendelkeznek novobiocinnal szemben. (A korong körül nincs gátlási zóna.)
19. Nitrofurantoin határértékek csak *Staphylococcus saprophyticus*-ra vonatkoznak.
20. A tetracyclinre érzékeny az izolátumok doxycyclinre és minocyclinre is érzékenyek. Előfordulhat, hogy tetracyclinnel szemben rezisztens izolátum doxycyclinre és/vagy minocyclinre érzékeny marad. Ilyen esetben a doxycyclin érzékenység meghatározása csak MIC érték alapján történhet.
21. *Staphylococcus aureus* esetében a penicillináz termelők kimutatására a korongdiffúziós érzékenységi vizsgálat a legalkalmasabb. **Amennyiben a gátlási zóna átmérő ≥ 26 mm, és a zónahatár elmosódott (lsd. a) ábra), akkor az izolátumot penicillin érzékenynek kell kiadni.** Amennyiben a gátlási zóna átmérő <26 mm, vagy ≥ 26 mm, de a zónahatár éles (lsd. b) ábra), akkor rezisztensnek kell interpretálni.



G) Ajánlott antibiotikumok *Enterococcus* spp. izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységének vizsgálatához

Minimálisan vizsgálandó antibiotikumok köre:

G1. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Ampicillin	2	≥10	9-8	<8	2., 3. pont
Imipenem	10	≥21	20-18	<18	3. pont
Gentamicin	30			<8	4. pont
Streptomycin	300			<19	4. pont
Vancomycin	5	≥12	-	<12	5. pont
Nitrofurantoin	100	≥15	-	<15	6. pont

További javasolt vizsgálandó antibiotikumok:

G2. lemez

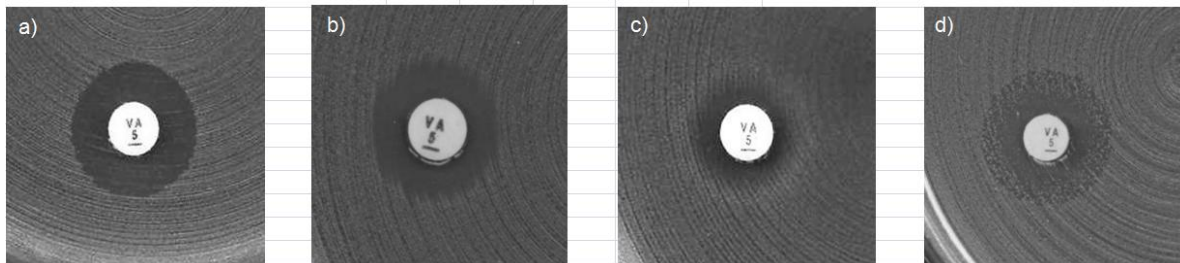
Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Teicoplanin	30	≥16	-	<16	
Linezolid	10	≥19	-	<19	
Tigecyclin	15	≥18	17-15	<15	
Quinupristin/dalfopristin	15	≥22	21-20	<20	7. pont
Norfloxacin	10	≥12	-	<12	8. pont

Megjegyzések a *Enterococcus* spp. izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

1. Az *Enterococcus* spp. izolátumok természetes rezisztenciáját az "EUCAST Expert Rules in Antimicrobial Susceptibility Testing" cikk 4. táblázata mutatja [2].
2. Az ampicillin érzékenységi vizsgálat alapján az izolátum amoxicillin, piperacillin, ampicillin/sulbactam, amoxicillin/klavulánsav és piperacillin/tazobactam érzékenysége is kiadható.
3. Amennyiben az *E. faecium* izolátum ampicillin rezisztens, valamennyi β-laktám szerrel szemben rezisztensnek kell tekinteni.
4. Az aminoglikozid típusú szerek monoterápiában nem hatásosak enterococcus fertőzésben. β-laktám/ glikopeptid antibiotikumokkal kombinálva hatásosak lehetnek, de csak abban az esetben, ha a kórokozó nem rendelkezik szerzett

aminoglikozid rezisztencia mechanizmussal (HLAR – magasszintű aminoglikozid rezisztencia).

- a. Ha gentamicin (30 µg) <8 mm, az izolátum aminoglikozidokkal szemben magasszintű rezisztenciával rendelkezik, kivéve streptomycint, ami még hatékony lehet. Ezért külön kell tesztelni az érzékenységét.
 - b. Ha streptomycin (300 µg) <19 mm, az izolátum streptomycinnel szemben magasszintű rezisztenciával rendelkezik.
5. A glikopeptid érzékeny enterococcus törzsek vancomycin gátlási zónájának határa éles. Ha a gátlási zóna határa elmosódott vagy benövések láthatóak, akkor az izolátum glikopeptid rezisztenciával rendelkezhet, és meg kell határozni a vancomycin és teicoplanin MIC értékeit. A vancomycin korong körüli gátlási zóna kiértékelését segítő ábrák:



a) A gátlási zóna átmérője ≥ 12 mm és éles a határa: az izolátum érzékeny vancomycinnel szemben.

b-d) Elmosódott zóna, illetve benövések a gátlási zónába. Rezisztensnek kell interpretálni akkor is, ha a gátlási zóna ≥ 12 mm.

A glikopeptid érzékenységet szigorúan 24 órás inkubáció után kell kiértékelni.

6. A nitrofurantoin érzékenység esetén ajánlott megjegyezni, hogy a várható hatékonyság csak alsó húgyúti infekcióra vonatkozik. Nitrofurantoin határértékek csak *E. faecalis*-ra vonatkoznak!
7. Quinupristin/dalfopristin határértékek csak *E. faecium*-ra vonatkoznak!
8. A norfloxacin a fluorokinolon érzékenység szűrésére szolgál. Amennyiben a norfloxacin korong (10 µg) körüli gátlási zóna ≥ 12 mm, akkor az izolátumot ciprofloxacin és levofloxacin iránt érzékenynek kell tekinteni. A ciprofloxacin és levofloxacin érzékenységi eredményt csak enyhe, alsó húgyúti infekció esetében szabad kiadni. Amennyiben a norfloxacin korong körüli gátlási zóna <12 mm, akkor ajánlott az alkalmazni kívánt fluorokinolon MIC értékét meghatározni. **Norfloxacin érzékenységet nem kell kiadni!**

Hatóanyag	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Ciprofloxacin	≤ 4	-	> 4	enyhe, alsó húgyúti infekció esetében
Levofloxacin	≤ 4	-	> 4	enyhe, alsó húgyúti infekció esetében

H) Ajánlott antibiotikumok A, B, C és G csoportú streptococcus izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységének vizsgálatához

H1. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Penicillin	1 U	≥18	-	<18	1., 2. pont
Erythromycin	15	≥21	20-18	<18	4., 5. pont
Clindamycin	2	≥17	-	<17	5. pont
Norfloxacin	10	≥12	-	<12	6. pont
Tetracyclin	30	≥23	22-20	<20	7. pont
Trimethoprim-sulfamethoxazol	1.25-23.75	≥18	17-15	<15	

További javasolt vizsgálandó antibiotikumok (ha szükséges):

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Tigecyclin	15	≥19	18-16	<16	8. pont
Levofloxacin	5	≥18	17-15	<15	6. pont
Moxifloxacin	5	≥18	17-15	<15	6. pont

Megjegyzések az A, B, C és G csoportú streptococcus izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

1. Penicillin rezisztencia A, B, C és G csoportú streptococcus törzsekkel szemben irodalmi adatok alapján még nem fordult elő, illetve rendkívül ritka.
2. Az A, B, C és G csoportú streptococcus izolátumok penicillin érzékenység esetén aminopenicillinekkal, cefalosporinokkal és karbapenemekkel szemben érzékenyek tekintendők. B csoportú streptococcus izolátumok esetében a penicillin érzékenység alapján ampicillin érzékenységet ajánlott interpretálni.
3. Mivel az A, B, C és G csoportú streptococcus törzsek nem termelnek β-laktamázt, a β-laktamáz gátlót tartalmazó kombinált szerek érzékenységi vizsgálata nem javasolt.
4. Az erythromycin érzékenység alapján az azithromycin, clarithromycin és roxithromycin érzékenység is kiadható.
5. Ha az izolátum erythromycin rezisztens és clindamycin érzékeny, AKKOR indukálható clindamycin rezisztencia vizsgálat (D-teszt) elvégzése javasolt (ebben az esetben 12-16 mm a távolság a korongok között).
 - a. Ha a D-teszt eredménye negatív: Az izolátum clindamycin érzékeny.
 - b. Ha a D-teszt eredménye pozitív, AKKOR:

az izolátumot clindamycin iránt **érzékenynek** kell interpretálni, és a megjegyzésben hozzáfűzni: „Indukálható clindamycin rezisztenciával rendelkező izolátumok okozta súlyos fertőzések esetében a clindamycin monoterápiában való alkalmazása nem ajánlott, mivel a terápia során magas szintű rezisztencia alakulhat ki.”

6. Ha a norfloxacin (10 µg) gátlási zónája ≥ 12 mm, akkor a levofloxacin és moxifloxacin kiadható érzékenynek. Amennyiben a norfloxacin gátlási zónája < 12 mm, akkor levofloxacin és moxifloxacin iránti érzékenység meghatározása ajánlott. **Norfloxacin érzékenységet nem kell kiadni!**
7. A tetracyclinre érzékeny törzsek doxycyclinre és minocyclinre is érzékenyek. Előfordulhat, hogy tetracyclinnel szemben rezisztens izolátum doxycyclinre és/vagy minocyclinre érzékeny marad. Ilyen esetben a doxycyclin érzékenység meghatározása csak MIC érték alapján történhet.
8. Tigecyclinnel szemben rezisztens törzset még nem írtak le.

D) Ajánlott antibiotikumok *Streptococcus pneumoniae* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységének vizsgálatához

11. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Oxacillin	1	≥ 20	-	< 20	1. pont
Erythromycin	15	≥ 22	21-19	< 19	3., 4. pont
Clindamycin	2	≥ 19	-	< 19	4. pont
Norfloxacin	10	≥ 12	-	< 12	5. pont
Tetracyclin	30	≥ 23	22-20	< 20	7. pont
Trimethoprim-sulfamethoxazol	1.25-23.75	≥ 18	17-15	< 15	

Egyes esetekben MIC meghatározásra ajánlott antibiotikumok és azok határértékei:

Hatóanyag	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Penicillin (meningitis)	$\leq 0,064$	-	$> 0,064$	1. 2. pont
Penicillin	$\leq 0,064$	0,125-2	> 2	1. 8. pont
Ampicillin	$\leq 0,5$	1-2	> 2	1. pont
Ceftriaxon	$\leq 0,5$	1-2	> 2	1. 2. pont
Meropenem (meningitis)	$\leq 0,25$	0,5-1	> 1	2. pont

*ME: millió egység

Megjegyzések a *Streptococcus pneumoniae* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

1. Az oxacillin (1 µg) ≥ 20 mm esetében az izolátum kiadhatók érzékenyek penicillinre, ampicillinre, amoxicillinre, piperacillinre, illetve ezen szerek β -laktamáz gátlóval kombinált változataira, valamint cefotaximra, cefpodoximra, ceftriaxonra, cefuroximra, és a karbapenem származékokra. HA az oxacillin (1 µg) gátlási zóna < 20 mm-nél, akkor penicillin MIC érték meghatározás szükséges. A többi β -laktám antibiotikum iránti érzékenységet a következők alapján ajánlott vizsgálni és interpretálni:

Oxacillin (1 µg) korong zóna átmérő	Antibiotikum	További vizsgálat/interpretáció
≥ 20 mm	Minden β -laktám, mely rendelkezik klinikai határértékkel	A klinikai indikációtól függetlenül érzékenyek interpretálhatóak
< 20 mm	Penicillin	MIC érték meghatározás és a klinikai határérték alapján értékelés
	Ampicillin, amoxicillin, ceftriaxon	Oxacillin gátlási zóna ≥ 8 mm: Érzékenyek interpretálható. Meningitis esetében az alkalmazandó antibiotikum MIC értékének meghatározása szükséges.
	Egyéb β -laktámok	Oxacillin gátlási zóna < 8 mm: MIC érték meghatározás és a klinikai határérték alapján értékelés
	Egyéb β -laktámok	MIC érték meghatározás és a klinikai határérték alapján értékelés

Oxacillin érzékenységi eredményt nem kell kiadni!

- Meningitis esetében MIC érték meghatározás szükséges a következő antibiotikumokra: penicillin, ceftriaxon, meropenem (meningitis kezelésére a karbapenemek közül csak a meropenem alkalmas)
- Az erythromycin érzékenység alapján az azithromycin, clarithromycin és roxithromycin érzékenység is kiadható
- Ha az izolátum erythromycin rezisztens és clindamycin érzékeny, AKKOR indukálható clindamycin rezisztencia vizsgálat (D-teszt) elvégzése javasolt (ebben az esetben 12-16 mm a távolság a korongok között).
 - Ha a D-teszt eredménye negatív: Az izolátum clindamycin érzékeny.
 - Ha a D-teszt eredménye pozitív, AKKOR: az izolátumot clindamycin iránt érzékenynek kell interpretálni, és a megjegyzésben hozzáfűzni: „Indukálható clindamycin

rezisztenciával rendelkező izolátumok okozta súlyos fertőzések esetében a clindamycin monoterápiában való alkalmazása nem ajánlott, mivel a terápia során magas szintű rezisztencia alakulhat ki.”

5. Ha a norfloxacin (10 µg) gátlási zónája ≥ 12 mm, akkor a levofloxacin és moxifloxacin kiadható érzékenynek. Amennyiben a norfloxacin gátlási zónája < 12 mm, akkor levofloxacin és moxifloxacin iránti érzékenység meghatározása ajánlott. **Norfloxacin érzékenységet nem kell kiadni!**

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Levofloxacin	5	≥ 17	-	< 17	5. pont
Moxifloxacin	5	≥ 22	-	< 22	5. pont

6. Az EUCAST táblázatban feltüntetett levofloxacin határértékek emelt dózisé (dózis: napi 1000 mg) terápiára érvényesek [4].

7. A tetracyclinre érzékeny törzsek doxycyclinre és minocyclinre is érzékenyek. Előfordulhat, hogy tetracyclinnel szemben rezisztens izolátum doxycyclinre és/vagy minocyclinre érzékeny marad. Ilyen esetben a doxycyclin érzékenység meghatározása csak MIC érték alapján történhet.
8. Pneumónia esetében a penicillin MIC határértékek dóziszfüggők (lásd http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)

J) Ajánlott antibiotikumok egyéb *Streptococcus* spp. izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységének vizsgálatához

J1. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Penicillin	1 U	≥ 18	17-12	< 12	2., 5., 6. pont
Ampicillin	2	≥ 21	20-15	< 15	1. pont
Ceftriaxon	30	≥ 27	-	< 27	
Erythromycin	15	IE	IE	IE	3. pont
Clindamycin	2	≥ 19	-	< 19	4. pont

Megjegyzések az egyéb *Streptococcus* spp. izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

- Ha az izolátum ampicillinre érzékeny, akkor amoxicillinre, piperacillinre, illetve ezen szerek β -laktamáz gátlóval kombinált változataira is érzékenynek kell tekinteni.
- Karbapenemmel szemben rezisztens törzset eddig még nem írtak le. HA a penicillin (1U) korongdiffúziós vizsgálat eredménye érzékeny, AKKOR a karbapenemek kiadhatóak érzékenynek. Ha az izolátum penicillinnel (1U)

szemben nem érzékeny, akkor ha szükséges MIC értéket ajánlott meghatározni.

3. Az erythromycin alkalmazhatóságára nincs elég bizonyíték. Használatára az indukálható clindamycin rezisztencia kimutatása miatt van szükség (ebben az esetben 12-16 mm az ajánlott távolság a korongok között).
4. A clindamycin *in vitro* érzékenynek mutatkozó, de D-teszt pozitív izolátumok esetében: az izolátumot clindamycin iránt érzékenynek kell interpretálni, és a megjegyzésben hozzáfűzni: „Indukálható clindamycin rezisztenciával rendelkező izolátumok okozta súlyos fertőzések esetében a clindamycin monoterápiában való alkalmazása nem ajánlott, mivel a terápia során magas szintű rezisztencia alakulhat ki.”
5. **Endocarditis esetében a penicillin érzékenységet MIC érték meghatározással kell vizsgálni!** 2006-ban az Egészségügyi Minisztérium infektív endocarditis esetében alkalmazandó szakmai protokollja alapján (eredeti érvényesség ideje 2008. 12. 31., amit 2013. 12. 31-ig hosszabbítottak meg) a következő MIC határértékek ajánlottak az érzékenység vizsgálatához:

Hatóanyag	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Penicillin (endocarditis)	≤0,125	0,25-0,5	>0,5	5. pont

Az egyes kategóriákhoz (érzékeny, mérsékelt, rezisztens) eltérő terápiás javaslatok tartoznak. Ezek az ajánlások az aktuális szakmai protokollban megtalálhatóak.

6. A penicillin (1U) korongdiffúziós vizsgálatával szűrhető a β-laktám rezisztencia is. Ha a gátlási zóna átmérő ≥ 18 mm akkor az izolátum kiadható a többi vizsgálható β-laktám antibiotikum (pl. ampicillin, cefuroxim iv, ceftriaxon, karbapenemek) iránt is érzékenynek.
7. A zöldítő streptococcusok természetes rezisztenciát mutatnak aminoglikozidokkal szemben, és ezért azok monoterápiában nem alkalmazhatóak. Azonban szinergista hatás várható penicillinekkal vagy glikopeptidekkel történő kombináció esetében, amennyiben az izolátum nem rendelkezik magas szintű aminoglikozid rezisztenciával (HLAR). **Magas szintű aminoglikozid rezisztencia szűrése:**
 - a. **Negatív teszt:** gentamicin MIC érték ≤ 128 mg/L. Az izolátum gentamicinnel szemben alacsony szintű természetes rezisztenciával rendelkezik. Penicillinekkal vagy glikopeptidekkel kombinálva szinergista hatás várható, amennyiben azokra is érzékeny az izolátum
 - b. **Pozitív teszt:** gentamicin MIC érték > 128 mg/L. Magas szintű aminoglikozid rezisztenciával rendelkező izolátum! Gentamicin kombinációban sem alkalmazható.

(Megjegyzés: Ebbe a csoportba tartoznak a *Streptococcus anginosus* csoport tagjai is (*S. constellatus*, *S. anginosus* és *S. intermedius*))

K) Ajánlott antibiotikumok *Haemophilus influenzae* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum rezisztencia vizsgálatához

Minimálisan vizsgálandó antibiotikumok köre:

K1. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Penicillin	1U	≥12	-	-	2. pont
Ampicillin	2	≥16	-	<16	3. pont
Amoxicillin/clavulansav	2/1	≥15	-	<15	
Nalidixsav	30	≥23	-	<23	5. pont
Trimethoprim-sulfamethoxazol	1.25-23.75	≥23	22-20	<20	
Tetracyclin	30	≥25	24-22	<22	6. pont

Megjegyzések a *Haemophilus influenzae* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

1. A *Haemophilus influenzae* izolátumok természetes rezisztenciáját az "EUCAST Expert Rules in Antimicrobial Susceptibility Testing" cikk 3. táblázata mutatja [2].
2. A penicillin (1U) korong alkalmazható a β-laktám rezisztencia szűrésére, azonban nem alkalmas a β-laktamáz termelő és nem termelő (BLNAR) izolátumok elkülönítésére. Az alábbi táblázat mutatja, mely esetekben kell β-laktamáz-tesztet illetve további vizsgálatokat végezni:

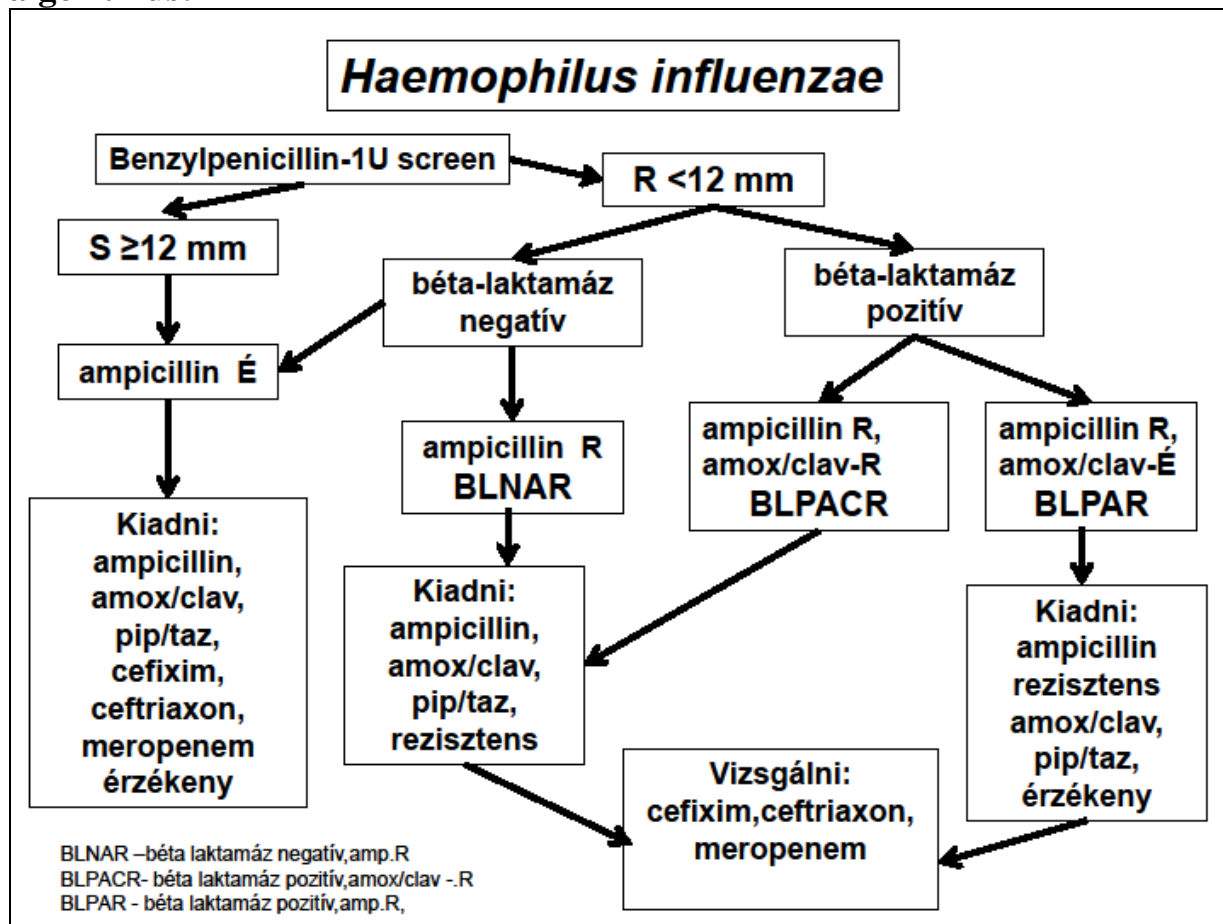
Penicillin (1U) korong zóna átmérő	β-laktamáz teszt	További vizsgálat/ interpretáció
≥12 mm	Nem szükséges	minden β-laktám, mely rendelkezik klinikai határértékkel érzékenynek (orális cefuroxim – ha kiadásra kerül- csak mérsékeltnek) kiadható
<12 mm	β-laktamáz teszt negatív	klinikailag választható β-laktámok iránti érzékenység meghatározása
	β-laktamáz teszt pozitív	az izolátum rezisztens ampicillinnel és amoxicillinnel szemben klinikailag választható további β-laktámok iránti érzékenység meghatározása

3. Az ampicillin korongdiffúziós határértékek csak β-laktamáz negatív izolátumokra vonatkoznak! Az ampicillinre érzékeny izolátumok érzékenynek tekintendők amoxicillinre, és piperacillinre is, mindhárom szer β-laktamáz gátlóval kombinált változatára, valamint más

alkalmazható β -laktám antibiotikumokra (pl. cefixim, ceftriaxon, meropenem).

4. Meningitis kezelésére a karbapenemek közül csak a meropenem alkalmas. Meningitis esetében MIC érték meghatározás szükséges.

H. influenzae β -laktámok iránti érzékenységek vizsgálatát segítő algoritmus:



5. A nalidixsav a fluorokinolon érzékenység szűrésére szolgál. Amennyiben a nalidixsav korong (30 μ g) körüli gátlási zóna ≥ 23 mm, akkor az izolátumot valamennyi fluorokinolon származékra érzékenynek kell tekinteni (pl. levofloxacin, moxifloxacin kiadása javasolt). Amennyiben a nalidixsav korong körüli gátlási zóna < 23 mm, akkor ajánlott az alkalmazni kívánt fluorokinolon, elsősorban levofloxacin és moxifloxacin iránti érzékenységet meghatározni. **Nalidixsav érzékenységet nem kell kiadni!**

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (μ g)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Levofloxacin	5	≥ 26	-	< 26	5. pont
Moxifloxacin	5	≥ 25	-	< 25	5. pont

6. A tetracyclinre érzékeny törzsek doxycyclinre és minocyclinre is érzékenyek. Előfordulhat, hogy tetracyclinnel szemben rezisztens izolátum doxycyclinre és/vagy minocyclinre érzékeny marad. Ilyen esetben a doxycyclin érzékenysége meghatározása csak MIC érték alapján történhet.
7. A makrolid típusú szerek klinikai hatása nem bizonyított, ezért vizsgálatuk nem ajánlott.

Ha a penicillin (1U) korong zóna átmérő <12 mm, AKKOR MIC meghatározásra ajánlott antibiotikumok:

Hatóanyag	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Cefixim	≤0,125	-	>0,125	2. pont
Ceftriaxon	≤0,125	-	>0,125	2. pont
Meropenem (nem meningitis)	≤2	-	>2	2. pont

Meningitis esetében a meropenem érzékenysége meghatározását MIC vizsgálattal kell elvégezni:

Hatóanyag	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Meropenem (meningitis)	≤0,25	0,5-1	>1	4. pont

L) Ajánlott antibiotikumok *Moraxella catarrhalis* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenysége vizsgálatához

Minimálisan vizsgálandó antibiotikumok köre:

L1. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Amoxicillin/klavulánsav	2/1	≥19	-	<19	
Cefixim	5	≥21	20-18	<18	3. pont
Trimethoprim-sulfamethoxazol	1.25-23.75	≥18	17-15	<15	
Nalidixsav	30	≥23	-	<23	4. pont
Tetracyclin	30	≥28	27-25	<25	5. pont
Erythromycin	15	≥23	22-20	<20	

Vizsgálatra ajánlható további antibiotikumok:

L2. lemez

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Meropenem	10	≥33	-	<33	
Ceftriaxon	30	≥24	23-21	<21	

Megjegyzések a *Moraxella catarrhalis* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

1. A *Moraxella catarrhalis* izolátumok természetes rezisztenciáját az "EUCAST Expert Rules in Antimicrobial Susceptibility Testing" cikk 3. táblázata mutatja [2].
2. A törzsek túlnyomó többsége β-laktamáz termelő, ezért az enzim termelés vizsgálata nem szükséges. *M. catarrhalis* izolátumokat penicillinekkal és aminopenicillinekkal (β-laktamáz inhibitor nélkül) szemben rezisztensnek kell tekinteni.
3. Cefixim rezisztens törzset még nem írtak le.
4. A nalidixsav a fluorokinolon érzékenység szűrésére szolgál. Amennyiben a nalidixsav korong (30 µg) körüli gátlási zóna ≥23 mm, akkor az izolátumot valamennyi fluorokinolon származékra érzékenynek kell tekinteni. Amennyiben a nalidixsav korong körüli gátlási zóna <23 mm, akkor ajánlott alkalmazni kívánt fluorokinolon, elsősorban levofloxacin és moxifloxacin iránti érzékenységet meghatározni. **Nalidixsav érzékenységet nem kell kiadni!**

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Levofloxacin	5	≥23	-	<23	5. pont
Moxifloxacin	5	≥23	-	<23	5. pont

5. A tetracyclinre érzékeny törzsek doxycyclinre és minocyclinre is érzékenyek. Előfordulhat, hogy tetracyclinnel szemben rezisztens izolátum doxycyclinre és/vagy minocyclinre érzékeny marad. Ilyen esetben a doxycyclin érzékenység meghatározása csak MIC érték alapján történhet.

M) Ajánlott antibiotikumok *Neisseria meningitidis* antibiotikum érzékenységének vizsgálatához

A *N. meningitidis* antibiotikum érzékenységét korongdiffúziós vizsgálattal nem szabad meghatározni. Csak MIC érték meghatározással szabad érzékenységi eredményt közölni!

Az invazív fertőzésekben alkalmazott ceftriaxonnal szemben antibiotikum rezisztenciát eddig nem találtak, ezért az invazív mintából származó izolátumok esetében az antibiotikum érzékenységi vizsgálat csak az antibiotikum rezisztencia surveillance miatt ajánlható.

Surveillance tevékenység céljából vizsgálható antibiotikumok, és azok MIC határértékei:

Hatóanyag	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Penicillin	≤0,064	0,125-0,25	>0,25	
Ceftriaxon	≤0,125	-	>0,125	1. pont
Ciprofloxacín	≤0,032	0,064	>0,064	2. pont
Rifampicin	≤0,25	-	>0,25	2. pont

Megjegyzések a *Neisseria meningitidis* izolátumok antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

1. Ceftriaxonnal szemben rezisztens törzset eddig nem írtak le. Ha a MIC érték rezisztens tartományba esik, akkor ezt az eredményt referencia laboratóriumban kell megerősíteni.
2. **Csak profilaxisban való alkalmazásra!**

M) Ajánlott antibiotikumok *Listeria monocytogenes* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységének vizsgálatához

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Ampicillin	2	≥16	-	<16	
Meropenem	10	≥26	-	<26	
Erythromycin	15	≥25	-	<25	
Trimethoprim-sulfamethoxazol	1.25-23.75	≥29	-	<29	

N) Ajánlott antibiotikumok *Pasteurella multocida* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységének vizsgálatához

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Ampicillin	2	≥17	-	<17	
Amoxicillin/klavulánsav	2/1	≥15	-	<15	
Nalidix sav	30	≥23	-	-	1. pont
Tetracyclin	30	≥24	-	<24	2. pont
Trimethoprim-sulfamethoxazol	1.25-23.75	≥23		<23	

Megjegyzések a *Pasteurella multocida* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

1. A nalidixsav a fluorokinolon érzékenység szűrésére szolgál. Amennyiben a nalidixsav korong (30 µg) körüli gátlási zóna ≥23 mm, akkor az izolátumot valamennyi fluorokinolon származékra érzékenynek kell tekinteni. Amennyiben a nalidixsav korong körüli gátlási zóna <23 mm, akkor az alkalmazni kívánt fluorokinolon érzékenységét kell meghatározni. **Nalidixsav érzékenységet nem kell kiadni!**
2. A tetracyclinre érzékeny törzsek doxycyclinre és minocyclinre is érzékenyek. Előfordulhat, hogy tetracyclinnel szemben rezisztens izolátum doxycyclinre és/vagy minocyclinre érzékeny marad. Ilyen esetben a doxycyclin érzékenység meghatározása csak MIC érték alapján történhet.

O) Ajánlott antibiotikumok *Campylobacter coli* és *C. jejuni* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységének vizsgálatához

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)		Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
			Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Ciprofloxacin	5		≥26	-	<26	
Erythromycin	15	<i>C. jejuni</i>	≥20	-	<20	2. pont
		<i>C. coli</i>	≥24	-	<24	
Tetracyclin	30		≥30	-	<30	3. pont

Megjegyzések a *Campylobacter coli* és *C. jejuni* izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálatához:

1. *Campylobacter jejuni* és *C. coli* esetében: 24 órás inkubáció, 41±1 °C, mikroaerofil környezet
2. Az erythromycin érzékenység alapján az azithromycin és clarithromycin érzékenység is kiadható.
3. A tetracyclin érzékenység alapján a doxycyclin is kiadható.
4. A rajzás elkerülése érdekében az MH-F táptalajt ajánlott leszárítani az inokulálás előtt (20-25°C-on egy éjszakán át, vagy 35°C-on 15 percig. Utóbbi esetben a Petri-csészéket nyitott tetővel kell szárítani)

P) Ajánlott antibiotikumok *Corynebacterium* spp. (*C. diphtheriae* kivételével) izolátumok korongdiffúziós antibiotikum érzékenységének vizsgálatához

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Penicillin	1U	≥29	-	<29	
Ciprofloxacin	5	≥25	-	<25	
Gentamicin	10	≥23	-	<23	
Vancomycin	5	≥17	-	<17	
Clindamycin	2	≥20	-	<20	
Tetracyclin	30	≥24	-	<24	

1. Ha 16-20 órás inkubáció után (5% CO₂, 35±1 °C, MH-F táptalaj) nem kielégítő a baktériumpázsit növekedésének mértéke, akkor azonnal vissza kell helyezni a táptalajt termosztátba. Ekkor az érzékenységi vizsgálat eredményét 40-48 órás teljes inkubációs idő után kell leolvasni.
2. Vizsgálatra ajánlható további antibiotikumok:

Hatóanyag	Korong hatóanyag tartalma (µg)	Gátlási zóna határértékek (mm)			Megjegyzés
		Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
Moxifloxacin	5	≥25	-	<25	
Linezolid	10	≥25	-	<25	
Rifampicin	5	≥30	29-25	<25	

Megjegyzés: Az EUCAST aktuálisan érvényes ajánlásai alapján frissített gyakorlati útmutató a továbbiakban is a www.oek.hu oldalon az EUCAST menüpont alatt lesz érhető.

Irodalomjegyzék:

1. http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
2. **Leclercq R, Cantón R, Brown DF, Giske CG, Heisig P, MacGowan AP, Mouton JW, Nordmann P, Rodloff AC, Rossolini GM, Soussy CJ, Steinbakk M, Winstanley TG, Kahlmeter G.** EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect.* 2013, 19:141-160. (http://www.eucast.org/expert_rules/)
3. Az EUCAST ajánlása a klinikai és/vagy epidemiológiai jelentőségű rezisztencia mechanizmusok és rezisztenciák kimutatására. *Mikrobiológiai Körlevél.* 2014; 1. szám.
4. <http://www.eucast.org/documents/rd/>
5. **Damjanova I, Tóth A, Pászti J, Hajbel-Vékony G, Jakab M, Berta J, Milch H, Fűzi M.** Expansion and countrywide dissemination of ST11, ST15 and ST147 ciprofloxacin-resistant CTX-M-15-type β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* epidemic clones in Hungary in 2005—the new ‘MRSA’s’? *J Antimicrob Chemother.* 2008; 62: 978-85. (<http://jac.oxfordjournals.org/content/62/5/978.long>)
6. **Kristóf K, Tóth A, Damjanova I, Jánvári L, Konkoly-Thege M, Kocsis B, Koncan R, Cornaglia G, Szego E, Nagy K, Szabó D.** Identification of a *bla*_{VIM-4} gene in the internationally successful *Klebsiella pneumoniae* ST11 clone and in a *Klebsiella oxytoca* strain in Hungary. *J Antimicrob Chemother.* 2010; 65: 1303-5. (<http://jac.oxfordjournals.org/content/65/6/1303.long>)
7. **Juhász E, Jánvári L, Tóth A, Damjanova I, Nobilis A, Kristóf K.** Emergence of VIM-4- and SHV-12-producing *Enterobacter cloacae* in a neonatal intensive care unit. *Int J Med Microbiol* 2012; 302: 257-60. (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438422112000215>)
8. **Damjanova I, Jánvári L, Kristóf K, Szabó D, Kenesei É, Szikra L, Szemenyei M, Konkoly Thege M, Lázár A, Szabó J, Farkas M, Dobák A, Vámos M, Juhász Á, Pászti J, Tóth Á.** Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* strains in Hungary. 2012, 22nd ECCMID, P1683 (https://www.escmid.org/escmid_library/online_lecture_library/?search=1¤t_page=1&search_term=damjanova&entrytitle%5B%5D=1597)
9. **Melegh S, Kovács K, Gám T, Nyul A, Patkó B, Tóth A, Damjanova I, Mestyán G.** Emergence of VIM-4 metallo- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* ST15 clone in the Clinical Centre University of Pécs, Hungary. *Clin Microbiol Infect.* 2014; 20: O27-O29. (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1469-0691.12293/abstract;jsessionid=11143DA8C4E1763559E62CC971BD2331.f01t03>)
10. http://www.eucast.org/antimicrobial_susceptibility_testing/guidance_documents/

Szakmai tájékoztató az EUCAST antimycoticum érzékenység vizsgálati rendszerre való áttéréshez – Útmutató az EUCAST

6.1 verzió alapján

Összeállította: Nikolova Radka

Egyesített Szent István és Szent László Kórház

Az antifungális érzékenységi vizsgálatokkal foglalkozó európai bizottság (The European Committee on antimicrobial susceptibility testing – Subcommittee on antifungal susceptibility testing – EUCAST-AFST) létrehozott és közzétett a www.eucast.org oldalán klinikai határértékeket (breakpoints), amelyek segítik a gombák MIC vizsgálatainak az interpretálását. Ezek a klinikai határértékek nagyszámú farmakokinetikai adat, epidemiológiai cut-off érték és a klinikai tapasztalatokról szóló adatok feldolgozásának az eredményei [1].

Utolsó frissítés: 2014.03.07. (kiemelések: változások a legutóbbi dokumentumhoz képest)

I. CANDIDA spp.

EUCAST standardizált mikrodilúciós módszer (referens módszer E.Def 7.2 2012 [2])	
alkalmazható	sarjadzó gombák
inoculum	0.5×10^5 - 2.5×10^5 CFU/ml
táptalaj	RPMI 1640 -2% glukóz, MOPS puffer
inkubálás	18-24 óra, 35°C
leolvasás	spektrofotométerrel, AmphotericinB – teljes gátlás; más szerek esetében – 50% gátlás
minőségi kontroll törzsek	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019 <i>C. krusei</i> ATCC 6258 <i>C. albicans</i> F 8555 <i>C. krusei</i> CL3403

Kontroll törzsek minimális inhibitor koncentrációi (MIC) (mg/L) értékei [3]:

	<i>C. krusei</i> ATCC6258	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019
AmphotericinB	0,12- 1,0	0,12- 1,0
flucytosin	1,0-4,0	0,12-0,5
fluconazol	16,0-64,0	0,5-2,0
itraconazol	0,03-0,12	0,03-0,12
voriconazol	0,03-0,25	0,015-0,06
posaconazol	0,015-0,06	0,015-0,06
anidulafungin	NA	NA
caspofungin	NA	NA
micafungin	NA	NA

Az EUCAST referencia módszer egyezése a kereskedelmi forgalomban található kitekkel (E-test, Sensititre -Yeast One, Vitek) nagyobb, mint 95% [4].

Table 1. Essential agreement (EA) rates between results given by VITEK 2 System, Sensititre Yeast-One and Etest and the reference procedures by antifungal agent

Antifungal agent	EA between AST procedures								
	VITEK/ EUCAST	VITEK/ CLSI24H	VITEK/ CLSI48H	ETEST/ EUCAST	ETEST/ CLSI24H	ETEST/ CLSI48H	SYOne/ EUCAST	SYOne/ CLSI24H	SYOne/ CLSI48H
AMB	98.7%	99.3%	100%	98.4%	97.4%	96.4%	97.9%	97.4%	96.0%
5FC	98.0%	98.6%	96.0%	96.4%	95.2%	95.2%	96.0%	95.2%	95.2%
FLC	97.5%	96.6%	96.2%	97.2%	96.4%	95.2%	97.2%	96.0%	95.6%
VRC	97.5%	96.8%	96.6%	95.2%	95.2%	95.2%	95.5%	95.6%	95.2%
TOTAL	97.9%	97.8%	97.3%	96.8%	96.1%	95.5%	96.6%	96.1%	95.5%

I.A) Amphotericin B

Species	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i>	≤1	-	>1	

Megjegyzések az Amphotericin B érzékenység vizsgálatához:

1. *C. guilliermondii* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É, R) nélkül.
2. Species független határérték - nincs

I.B) Anidulafungin

Species	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
<i>C. albicans</i>	≤0,03	-	>0,03	
<i>C. glabrata</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. tropicalis</i>	≤0,06	-	>0,06	
<i>C. parapsilosis</i>	≤0,002	-	>4	

Megjegyzések az Anidulafungin érzékenység vizsgálatához:

1. *C. guilliermondii* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É, R) nélkül. A *C. guilliermondii* epidemiológiai cut-off (ECOFF) értékek általában magasabbak mint *C. albicans* ECOFF értékei.
2. Species független határérték - nincs

I.C) Caspofungin

Megjegyzések a Caspofungin érzékenység vizsgálatához:

1. *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* - az európai laboratóriumokban mért MIC értékek szignifikánsan különböznek egymástól. A rezisztencia vizsgálat elégtelen reprodukálhatósága miatt egyelőre nincsenek elfogadott határértékek.
2. *C. parapsilosis* – **nem vizsgálandó, természetes rezisztencia**
3. *C. guilliermondii* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É, R) nélkül. A *C. guilliermondii* ECOFF (epidemiológiai cut-off) értékek általában magasabbak, mint a *C. albicans*-nál mért ECOFF értékek.
4. Species független határérték– nincs

I.D) Micafungin

Species	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
<i>C. albicans</i>	≤0,016	-	>0,016	
<i>C. glabrata</i>	≤0,03	-	>0,03	
<i>C. parapsilosis</i>	≤0,002	-	>2	

Megjegyzések a Micafungin érzékenység vizsgálatához:

1. *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É, R) nélkül. A *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* ECOFF (epidemiológiai cut-off) értékek magasabbak, mint a *C. albicans*-nál mért ECOFF értékek.
2. Species független határérték – nincs

I.E) Fluconazol

Species	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
<i>C.albicans</i> , <i>C.parapsilosis</i> , <i>C.tropicalis</i>	≤2	4	>4	
<i>C. glabrata</i>	≤0,002	0,004-32	>32	
species független határértékek	≤2	4	>4	

Megjegyzések a Fluconazol érzékenység vizsgálatához:

1. *C. krusei* - nem vizsgálható, természetes rezisztencia
2. *C. guilliermondii* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É, R) nélkül. A *C. guilliermondii* ECOFF (epidemiológiai cut-off) értékek magasabbak, mint a *C. albicans*-nál mért ECOFF értékek.

I.F) Itraconazol

Klinikai határértékek előkészítés alatt.

I.G) Posaconazol

Species	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
<i>C.albicans</i> , <i>C.parapsilosis</i> , <i>C.tropicalis</i>	≤0,06	-	>0,06	

Megjegyzések a Posaconazol érzékenység vizsgálatához:

1. *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É,R) nélkül. Ezeknél a specioseknél az ECOFF (epidemiológiai cut-off) értékek magasabbak, mint a *C. albicans*-nál mért ECOFF értékek.
2. Species független határérték –nincs

I.H) Voriconazol

Species	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
<i>C.albicans</i> , <i>C.parapsilosis</i> , <i>C.tropicalis</i>	≤0,12	-	>0,12	1. pont

Megjegyzések a Voriconazol érzékenység vizsgálatához:

1. A három felsorolt species esetében nem, vagy rendkívül ritkán fordulnak elő olyan törzsek, amelyek 0,12mg/L MIC fölötti értékkel rendelkeznek. Minden olyan esetben, amikor *C. albicans*, *C. parapsilosis* vagy *C. tropicalis* voriconazol MIC értéke >0,12 mg/L, a törzs identifikálását és a rezisztencia vizsgálatot meg kell ismételni és konfirmálni referencia laboratóriumban.
2. *C. glabrata*, *C. krusei* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É, R) nélkül.
3. *C. guilliermondii* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É, R) nélkül. A *C. guilliermondii* ECOFF (epidemiológiai cut-off) értékei magasabbak, mint a *C. albicans*-nál mért ECOFF értékek.
4. Species független határérték –nincs

1. táblázat. Sarjadzó gombák klinikai határértékek EUCAST v.6.1 [1]

Antifungális szer	<i>C. albicans</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C. krusei</i>		<i>C. parapsilosis</i>		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. guilliermondii</i>		Species független	
	S≤	R>	S≤	R>	S≤	R>	S≤	R>	S≤	R>	S≤	R>	S≤	R>
AmphotericinB	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	IE	IE
anidulafungin	0,03	0,03	0,06	0,06	0,06	0,06	0,002	4	0,06	0,06	IE ²	IE ²	IE ²	IE
caspofungin	IE ³	IE ³	IE ³	IE ³	IE ³	IE ³	-	-	IE ³	IE ³	IE ²	IE ²	IE	IE
micafungin	0,016	0,016	0,03	0,03	IE ⁴	IE ⁴	0,002	2	IE ⁴	IE ⁴	IE ⁴	IE ⁴	IE	IE
fluconazol	2	4	0,002	32	-	-	2	4	2	4	IE ²	IE ²	2	4
voriconazol	0,12	0,12	IE	IE	IE	IE	0,12	0,12	0,12	0,12	IE	IE	IE	IE
posaconazol	0,06	(5)	0,06	(5)	IE	IE	(5)	(5)	(5)	(5)	IE	IE	IE	IE
itraconazol	0,06	0,06	IE	IE	IE	IE	0,06	0,06	0,06	0,06	IE	IE	IE	IE

Breakpointok előkészítés alatt

- természetes rezisztencia

IE – nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról

IE² - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É,R) nélkül. Az ECOFF (epidemiológiai cut-off) értékek általában magasabbak, mint a *C. albicans*-nál mért ECOFF értékek.

IE³ - az európai laboratóriumokban mért MIC értékek szignifikánsan különböznek egymástól. A rezisztencia vizsgálat elégtelen reprodukálhatósága miatt egyelőre nincsenek elfogadott breakpointok.

IE⁴ – A *C. tropicalis* MIC értékei magasabbak, mint a *C. albicans* és *C. glabrata* MIC értékei. A micafungin 100 mg és 150 mg-os napi adagolása mellett *C. tropicalis* fertőzés esetében kevesebb volt a sikeres kimenetel, de nem szignifikáns mértékben. A *C. krusei* MIC értékei magasabbak mint a *C. albicans* MIC értékei. A *C. guilliermondii* MIC értékei magasabbak voltak, mint a *C. albicans* MIC értékei, de a kevés adat miatt nem tudjuk, hogy a *C. guilliermondii* vad törzsei micafungin érzékenyek-e.

5.- A három felsorolt species esetében nem, vagy rendkívül ritkán fordulnak elő olyan törzsek, amelyek 0,12 mg/L MIC fölötti értékkel rendelkeznek. Minden olyan esetben, amikor *C. albicans*, *C. parapsilosis* vagy *C. tropicalis* törzsek esetében a voriconazol MIC értéke >0,12 mg/L, a törzs identifikálását és a rezisztencia vizsgálatot meg kell ismételni és konfirmálni referencia laboratóriumban.

II. ASPERGILLUS spp.

EUCAST standardizált mikrodilúciós módszer (referens módszer E.Def 9.1 [5])	
alkalmazható	<i>Aspergillus</i> spp.
inoculum	1x10 ⁵ – 2,5 x10 ⁵ CFU/ml
táptalaj	RPMI 1640 -2% glukoz, MOPS puffer
inkubálás	48 óra, 35°C
leolvasás	vizuális
minőségi kontroll törzsek	<i>A. fumigatus</i> ATCC 204305 <i>A. flavus</i> ATCC 204304 <i>A. fumigatus</i> F 6919 <i>A. flavus</i> CM 1813 <i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019* <i>C. krusei</i> ATCC 6258*
	*leolvasás 18-24 óra múlva

II.A) Amphotericin B

Species	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
<i>A.fumigatus</i> , <i>A.niger</i>	≤1	2	>2	

Megjegyzések az Amphotericin B érzékenység vizsgálatához:

1. *A. flavus* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É, R) nélkül. Az *A. flavus* ECOFF (epidemiológiai cut-off) értékei magasabbak mint az *A. fumigatus*-nál mért ECOFF értékek.
2. *A. nidulans* – egyelőre nincs elegendő adat az ECOFF értékek megállapításához.
3. *A. terreus* – **nem vizsgálható, természetes rezisztencia.**
4. Species független határérték –nincs

II.B) Echinocandin csoport tagjai (caspofungin, micafungin, anidulafungin)

A. fumigatus, *A. niger*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. terreus* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É, R) nélkül.

II.C) Fluconazol

A. fumigatus, *A. niger*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. terreus*, *Aspergillus* spp.- természetes rezisztencia, nem vizsgálható

II.D) Itraconazol

Species	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
<i>A.fumigatus</i> , <i>A.flavus</i> , <i>A.nidulans</i> , <i>A.terreus</i>	≤1	2	>2	

Megjegyzések az Itraconazol érzékenység vizsgálatához:

1. *A. niger* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É, R) nélkül. Az *A. niger* ECOFF (epidemiológiai cut-off) és MIC értékei magasabbak, mint az *A. fumigatus*-nál mért ECOFF és MIC értékek. Egyelőre tisztázatlan az összefüggés az *in vitro* mért MIC érték és a klinikai eredmények között.
2. Species független határérték –nincs

II.E) Posaconazol

Species	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
<i>A.fumigatus</i> , <i>A.terreus</i>	≤0,12	0,25	>0,25	

Megjegyzések az Posaconazol érzékenység vizsgálatához:

1. Posaconazol folyamatos szérumszint mérése szükséges. A szükséges szérumszint: prophylaxis esetén:>0,7 mg/L; terápiás adagolás esetén :>1 mg/L
2. *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. niger* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É, R) nélkül. A felsorolt speciesek ECOFF (epidemiológiai cut-off) értékei magasabbak, mint az *A. fumigatus*-nál mért ECOFF értékek.
3. Species független határérték–nincs

II.F) Voriconazol

Species	MIC határértékek (mg/L)			Megjegyzés
	Érzékeny	Mérsékelt	Rezisztens	
<i>A.fumigatus</i>	≤1	2	>2	

Megjegyzések az Voriconazol érzékenység vizsgálatához:

1. *A. nidulans* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É, R) nélkül.
2. *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus* - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (É, R) nélkül. A felsorolt speciesek ECOFF (epidemiológiai cut-off) értékei magasabbak, mint az *A. fumigatus*-nál mért ECOFF értékek.
3. Species független határérték –nincs
4. Voriconazol folyamatos szérumszint mérése szükséges a kezelés alatt.

2. táblázat. *Aspergillus* spp. klinikai határértékek EUCAST v.6.1 [1]

Antifungális szer	<i>A.flavus</i>		<i>A.fumigatus</i>		<i>A.nidulans</i>		<i>A.niger</i>		<i>A.terreus</i>		Species független	
	S≤	R>	S≤	R>	S≤	R>	S≤	R>	S≤	R>	S≤	R>
AmphotericinB	IE ²	IE ²	1	2	IE ³	IE ²	1	2	-	-	IE	IE
anidulafungin	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE
casofungin	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE
micafungin	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE
fluconazol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
voriconazol (4)	IE ²	IE ²	1	2	IE	IE	IE ²	IE ²	IE ²	IE ²	IE	IE
posaconazol (4)	IE ²	IE ²	0,12 (6)	0,25 (6)	IE ²	IE ²	IE ²	IE ²	0,12 (6)	0,25 (6)	IE	IE
itraconazol (4)	1	2	1	2	1	2	IE ² (5)	IE ² (5)	1	2	IE (5)	IE (5)

- természetes rezisztencia

IE – nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról

IE² - nincs elegendő bizonyíték az antifungális szer terápiás hatékonyságáról. A mért MIC érték kiadható ezzel a megjegyzéssel, minősítés (E,R) nélkül. Az ECOFF (epidemiológiai cut-off) értékek általában magasabbak, mint a *A.fumigatus*-nál mért ECOFF értékek.

IE³ - nem rendelkezünk elegendő adatokkal az ECOFF megalapításához.

4.-Kezelés alatt a szérumszint monitorozása ajánlott

5. – Az *A.niger* és *A.versicolor* MIC értékei általában magasabbak, mint az *A.fumigatus*-nál mért MIC értékek. Nincs elegendő adat arról, hogy ennek van -e jelentősége a kezelésben.

6. - Kezelés alatt a szérumszint monitorozása ajánlott. Klinikai és preklínikai adatok szerint a mért szérumszintnek > 1mg/L kell lennie magas rizikó csoportba tartozó betegek (pl.hosszantartó neutropenia) kezelése esetében. Profilaxis esetében a szükséges szérumszint: >0,7mg/L.

Irodalomjegyzék:

1. http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
2. http://www.eucast.org/antifungal_susceptibility_testing_afst/methods_of_antifungal_susceptibility_testing/susceptibility_testing_of_yeasts/
3. **Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).** EUCAST definitive document EDef 7.1: method for the determination of broth dilution MICs of antifungal agents for fermentative yeasts. Clin Microbiol Infect. 2008;14:398-405.
(http://www.eucast.org/antifungal_susceptibility_testing_afst/publications_in_journals/)
4. **Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Alastruey-Izquierdo A, Bernal-Martinez L, Cuesta I, Buitrago MJ, Rodriguez-Tudela JL.** Comparison of the Vitek2 antifungal susceptibility system with the CLSI and EUCAST broth microdilution reference method and with the Sensititre YeastOne and Etest techniques for in vitro detection of antifungal resistance in yeast isolates. J Clin Microbiol. 2010; 48: 1782–6.
(http://www.eucast.org/documents/publications_in_journals/)
5. **Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing.** EUCAST Technical Note on the method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia-forming moulds. Clin Microbiol Infect. 2008; 14: 982-4.
(http://www.eucast.org/antifungal_susceptibility_testing_afst/publications_in_journals/)

Az EUCAST ajánlásai a klinikai és/vagy epidemiológiai jelentőségű rezisztencia mechanizmusok és rezisztenciák detektálására

(Eredeti cím: EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance)

1.0 Verzió (2013. December)

A dokumentumot összeállító „Detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance” EUCAST albizottság tagjai:

Christian G. Giske (Svédország, EUCAST Irányító Bizottság és EARS-Net Koordinációs Csoport; elnök), Luis Martinez-Martinez (Spanyolország, EUCAST Irányító Bizottság), Rafael Cantón (Spanyolország, EUCAST elnöke), Stefania Stefani (Olaszország), Robert Skov (Dánia, EUCAST Irányító Bizottság), Youri Glupczynski (Belgium), Patrice Nordmann (Franciaország), Mandy Wootton (Egyesült Királyság), Vivi Miriagou (Görögország), Gunnar Skov Simonsen (Norvégia, EARS-Net Koordinációs Csoport), Helena Zemlickova (Cseh Köztársaság, EARS-Net Koordinációs Csoport), James Cohen-Stuart (Hollandia) és Marek Gniadkowski (Lengyelország)

1. Bevezetés

A „Detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance” albizottságot az EUCAST azzal a céllal hozta létre, hogy a klinikai és/vagy epidemiológiai jelentőségű rezisztencia mechanizmusok és rezisztenciák detektálására egy gyakorlati útmutatót állítson össze. Ez a dokumentum elsősorban a klinikai mikrobiológiai laboratóriumok számára készült, hogy segítse a jelentősebb rezisztenciák (és mechanizmusok) kimutatását a rutin diagnosztikában. Nem terjed ki az elsősorban referencia laboratóriumokban végzett molekuláris szintű rezisztencia mechanizmus vizsgálatok technikai leírásaira. Továbbá fontos kiemelni, hogy a dokumentum a multirezisztens kórokozók tünetmentes hordozásának szűrésével, valamint a multirezisztens mikroorganizmusok klinikai mintából történő direkt kimutatásával sem foglalkozik.

(Az eredeti dokumentum bevezetésének -helyhiány miatt- csak egy része, további fejezetei azonban teljes terjedelemben kerültek fordításra. A dokumentum fejezeteiben több helyen találhatóak zárójelek közt, dőlt betűvel írt megjegyzések, melyek nem az eredeti dokumentum részei, hanem a hazai Nemzeti Referencia Laboratóriumok kiegészítései.)

A dokumentumot fordította:

Berta Brigitta¹ (7. fejezet), **Jánvári Laura**¹ (2. fejezet), **Pongrácz Júlia**² (6. és 8. fejezet), **Tóth Ákos**¹ (3. és 4. fejezet), **Ungvári Erika**¹ (5. fejezet)

¹Országos Epidemiológiai Központ, ²Semmelweis Egyetem

2. Karbapenemáz-termelő *Enterobacteriaceae*

A rezisztencia mechanizmus detektálásának jelentősége	
Az antibiotikum érzékenység interpretálásához szükséges	Nem
Infekciókontroll	Igen
Közegészségügy	Igen

2.1 Definíció

A karbapenemázok olyan β -laktamázok, melyek képesek hidrolizálni a penicillineket és a legtöbb esetben a cefalosporinokat is. Emellett - különböző mértékben- képesek bontani a karbapenemeket és a monobaktámokat (ez utóbbit a metallo- β -laktamázok nem képesek hidrolizálni).

2.2 Klinikai és/vagy epidemiológiai jelentőség

Európában a karbapenemázok egyre jelentősebb terjedését a 1990-es évek második felétől figyelték meg néhány mediterrán országban, főleg *P. aeruginosa* törzsekben [1]. A 2000-es évek elején Görögországban először a VIM (Verona integron-encoded metallo- β -lactamase) – termelő [2], majd a KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) -termelő *K. pneumoniae* vált epidémiássá. Mára a KPC vált a leggyakoribb karbapenemáz típusú az *Enterobacteriaceae* családban Európában [1]. Jelenleg a karbapenem nem-érzékenység aránya Görögországban 60%, Olaszországban 15% az invazív mintákból származó *K. pneumoniae* izolátumok körében [3]. Más európai országokban is számos esetben számoltak már be karbapenemáz-termelő törzs által okozott járványokról, de az invazív izolátumoknál még nem terjedt el széles körben ez a rezisztencia [1].

A New Delhi metallo- β -laktamáz (NDM) szintén jelentős karbapenemáz: bár az Indiai szubkontinensen és a Közel-Keleten terjedt el leginkább, számos esetben importálták már Európába.

Az OXA-48-csoportba (OXA-48-like) tartozó karbapenemázok is több európai országban okoztak már járványokat, és egyre jobban terjednek [1].

A karbapenemázok terjedése azért is ad okot az aggodalomra, mert amellet, hogy szinte valamennyi β -laktám antibiotikummal szemben rezisztenciát biztosítanak, a karbapenemáz-termelő izolátumok gyakran számos más antibiotikum csoporttal szemben is rezisztensek, és az általuk okozott megbetegedések esetén magas a halálozási arány [4-6].

2.3 Rezisztencia mechanizmus

A legtöbb karbapenemáz szerzett enzim, terjedésük mobilis genetikai elemekhez (transzpozonok, plazmidok) köthető. A karbapenemázok különböző szinten expresszálódhatnak, biokémiai tulajdonságaikban és a különböző β -laktámokkal szembeni aktivitásukban is eltérhetnek. Az expresszió szintje, az enzim tulajdonságai és más rezisztencia mechanizmusokkal való kapcsolata (más β -laktamázok termelése, effluxpumpák működtetése és/vagy megváltozott permeabilitás) mind hozzájárul a karbapenemáz-termelő izolátumok körében tapasztalható változatos fenotípusok kialakulásához [7, 8].

A karbapenemekkel szembeni csökkent érzékenység az *Enterobacteriaceae* család tagjainál azonban nemcsak karbapenemáz-termelés következtében alakulhat ki. Ha kiterjedt spektrumú β -laktamáz (ESBL) -termelés és/vagy AmpC enzim termelés porin módosulás miatti csökkent permeabilitással kombinálódik, az izolátum érzékenysége csökkenhet a karbapenemekkel szemben [9].

A legtöbb karbapenemáz-termelő izolátum rezisztens a kiterjedt spektrumú (oxyimino) cefalosporinokkal szemben [10], és csökkent érzékenységet mutathatnak karbapenemekkel szemben is, bár előfordulhat (pl. az OXA-48-like karbapenemáz-termelő törzseknél), hogy a törzs teljesen érzékeny marad a cefalosporinok iránt. Ezek az izolátumok gyakran cefalosporinázokat (pl. CTX-M- típusú ESBL-t) is termelnek, és akkor már rezisztenssé válnak cefalosporinokkal szemben is.

A karbapenemáz-termelő izolátumok járványügyi jelentősége nagy, különösen, ha valamennyi karbapenemmel (imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem) szemben csökkent érzékenységet mutatnak, azaz az epidemiológiai cut-off (ECOFF) értékük az EUCAST által meghatározott értékek felett van [11].

2.4 Javasolt módszerek a karbapenemázok kimutatására *Enterobacteriaceae* izolátumoknál

2.4.1 Karbapenemáz-termelés szűrése

A karbapenemáz-termelő *Enterobacteriaceae*-knél a karbapenem MIC értékek a klinikai breakpoint alatt lehetnek [10, 11, 13]. Azonban az EUCAST által meghatározott ECOFF értékek használhatók a karbapenemáz-termelő baktériumok szűrése. A meropenem rendelkezik a legjobb szenzitivitással és specificitással a karbapenemáz-termelők szűrése [10, 14]. Az ertapenem kiváló szenzitivitással rendelkezik, azonban a specificitása alacsony, különösen pl. az *Enterobacter* spp. esetén, ahol a kiterjedt spektrumú β -laktamázok és AmpC-típusú β -laktamázok termelődése porinvesztéssel kombinálódhat [10]. A karbapenemáz-termelők szűrése ajánlott cut-off értékeket az 1. táblázat foglalja össze. Meg kell jegyezni, hogy a specificitás növelése érdekében az

imipenem és ertapenem screening cut-off értékek egy hígítási fokkal magasabbak, mint a jelenlegi ECOFF értékek.

1. táblázat. Klinikai breakpointok és screening cut-off értékek a karbapenemáz-termelő *Enterobacteriaceae* szűréséhez (az EUCAST ajánlása alapján)

Karbapenem	MIC (mg/L)		Korongdiffúziós gátlási zóna átmérő (mm) 10 µg-os korongok esetén	
	É/M breakpoint	Screening cut- off	É/M breakpoint	Screening cut- off
Meropenem ¹	≤2	>0,12	≥22	<25 ²
Imipenem ³	≤2	>1	≥22	<23
Ertapenem ⁴	≤0,5	>0,12	≥25	<25

¹A legjobb szenzitivitás és specificitás

²Az OXA-48-termelő törzseknél néhány esetben a gátlási zóna átmérő akár 26 mm is lehet, így a <27 mm-t lehet tekinteni screening cut-off értéknek azokban az országokban, ahol az OXA-48 endémiás. Ebben az esetben azonban a specificitás csökken.

³Imipenemmel viszonylag nehéz különbséget tenni a vad-típusú törzsek és a karbapenemáz-termelő törzsek között. Ezért az imipenem önmagában nem javasolt a szűrésre.

⁴Magas szenzitivitás, de alacsony specificitás, ezért rutin használatra nem javasolt.

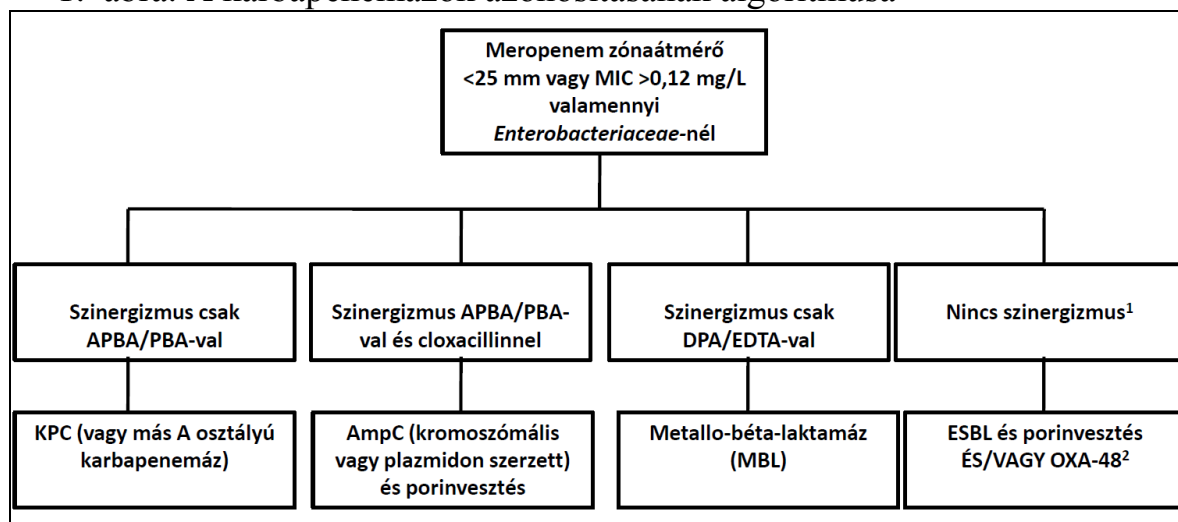
[A Nemzeti Referencia Laboratóriumban több mint 900 hazai *Enterobacteriaceae* izolátum (ebből 287 karbapenemáz-termelő) meropenem és ertapenem korongdiffúziós érzékenységi vizsgálatának eredményét hasonlították össze. Ennek alapján az ***Enterobacteriaceae* család 1. csoportjában** (lásd 3.4.1 rész) az ertapenem ajánlott a karbapenemáz-termelés szűrésére (ertapenem: érz:100%, spec:38,5% vs. meropenem: érz:85,5% spec:82,8%), míg az ***Enterobacteriaceae* család 2. csoportjában a meropenem ajánlott a karbapenemáz-termelés szűrésére** (ertapenem: érz:95,7%, spec:11,3% vs. meropenem: érz:93,3% spec:73,5%).]

2.4.2 Módszerek a karbapenemáz-termelés megerősítéséhez

A rutin érzékenységi vizsgálatok során tapasztalt csökkent karbapenem érzékenység esetén fenotípusos módszereket lehet a karbapenemáz-termelés kimutatására alkalmazni. A kombinált korong tesztek előnye, hogy jól validáltak, és kereskedelmi forgalomban is kaphatóak (MAST, UK; Rosco, Dánia) [15-17]. A tesztekben található korongok vagy tabletták önmagában meropenemet tartalmaznak, vagy kombinálva különböző inhibitorokkal (részletesen lásd 2.4.3 rész). Röviden összefoglalva: a boronsav gátolja az A molekuláris osztályba tartozó karbapenemázokat (pl. KPC), a dipikolinsav gátolja a B molekuláris osztályba tartozó karbapenemázokat (pl. VIM, NDM). A D osztályú karbapenemázoknak jelenleg nincs megfelelő gátlószere. Az AmpC β-laktamázokat gátló cloxacillin azért van a tesztben, hogy különbséget lehessen tenni az AmpC túltermelés + porinvesztés és a karbapenemáz-termelés között.

(A boronsav mind az A osztályú karbapenemázokat, mind az AmpC β -laktamázokat gátolja, ezért cloxacillinre is szükség van, mivel ez utóbbi csak az AmpC β -laktamázokat gátolja.) A gátlószerek tesztek értelmezését segítő algoritmus az 1. ábrán szerepel. A kombinált korong tesztek fő hátránya, hogy időigényesek (egész éjszakán át tartó inkubáció), ezért új, gyorsabb módszereket fejlesztenek.

1. ábra. A karbapenemázok azonosításának algoritmusai



Rövidítések: **APBA**=aminofenil-boronsav, **PBA**=fenil-boronsav, **DPA**=dipikolinsav, **EDTA**=etiléndiamintetraecetsav (Ezeket a β -laktamáz gátlószereket a kombinált korongteszt során meropenem tartalmú korongokhoz vagy tablettákhoz adják hozzá.)

¹KPC és MBL egyidejű termelése során nem tapasztalunk szinergizmust egyik gátlószer esetén sem, de az izolátumok magas szintű karbapenem rezisztenciát mutatnak. Ilyen esetben molekuláris módszerekkel lehet azonosítani a különböző karbapenemázokat.

²Magas szintű temocillin rezisztencia (MIC>32 mg/L [12, 18], vagy 30 μ g-os temocillin korong esetén a gátlási zóna átmérő <11 mm [17]) fenotípusos indikátora az OXA-48 termelésnek. Ezt figyelembe kell venni, ha nincs szinergizmus az A és B osztályba tartozó karbapenemázok gátlószereivel.

Ma már a kombinált korong teszt módszernek számos gyorsabb alternatívája van. MALDI-TOF tömegspektrométerrel történő karbapenem hidrolízis vizsgálat [19] néhány órán belül megerősítheti a karbapenemáz-termelést, a Carba NP teszt [20, 21] pedig még gyorsabban. Azonban ezek közül a tesztek közül csak a Carba NP teszt esetén publikáltak összehasonlító vizsgálati eredményeket a módszert kifejlesztő központon kívül.

Egy tanulmány szerint a Carba NP teszt magas szenzitivitással és specificitással rendelkezik, azonban egy másik közlemény problémát talált az érzékenységen a mukoid fenotípussal rendelkező izolátumoknál, és néhány OXA-48-like-termelő *Enterobacteriaceae* esetén [23].

A felsorolt módszereken kívül számos PCR technikán alapuló genotípusos módszer is létezik [24]. Ezen módszerek hátránya azonban, hogy nem képesek azonosítani új β -laktamáz variánsokat, és viszonylag drágák [10]. A

forgalomban lévő különböző DNS microarray módszerek felhasználóbarátabbak ugyan [25], de nem tudnak átlépni a genotípusos módszerek általános korlátain. Javasolt, hogy legalább a referencia laboratóriumok számára legyenek hozzáférhetőek a genotípusos megerősítő módszerek, bár ezek nem szigorúan szükségesek surveillance céljából.

2.4.3 A fenotípusos azonosító módszerek interpretálása

A 2. táblázat algoritmusai összefoglalja a különböző β -laktamázokat [metallo- β -laktamázokat, az A és D osztályba tartozó karbapenemázokat, és a nem-karbapenemázokat (ESBL és/vagy AmpC+porinvesztés)]. A teszteket az EUCAST által a nem-igényes mikroorganizmusokra ajánlott korongdiffúziós módszerrel kell elvégezni. A kereskedelmi teszteket a gyártók ajánlásai alapján kell kivitelezni.

Az OXA-48-like enzimeknek jelenleg nincs elérhető gátlószere. A magas szintű temocillin rezisztencia (MIC>32 mg/L) tekinthető az OXA-48-like karbapenemáz-termelés fenotípusos markerének [12, 17, 18]. Azonban ez nem csak az OXA-48-típusú karbapenemázokra jellemző, más rezisztencia mechanizmusok is kialakíthatnak ilyen fenotípust. Ezért az OXA-48-like enzimek jelenlétét genotípusos módszerekkel kell megerősíteni.

A módosított Hodge-teszt alkalmazása nem ajánlott, mivel az eredmény nehezen értelmezhető, a specificitása alacsony, és néhány esetben a szenzitivitása sem optimális [10]. Leírtak néhány új módosítást a teszttel kapcsolatban, de ezek nehezen alkalmazhatók a rutin klinikai laboratóriumok számára, és nem oldják meg a szenzitivitással és specificitással kapcsolatos problémákat.

2. táblázat. A korong/tabletta diffúziós módszerekkel végzett fenotípusos tesztek interpretálása (a karbapenemázok félkövér betűtípussal vannak feltüntetve)

β -laktamáz	Szinergizmus (gátlási zóna átmérőjének növekedése) 10 μ g meropenem koronggal/tablettával				Temocillin MIC >32 mg/L vagy zónaátmérő <11 mm
	DPA/EDTA	APBA/PBA	DPA+APBA	CLX	
MBL	+	-	-	-	Változó ¹
KPC	-	+	-	-	Változó ¹
MBL+KPC²	Változó	Változó	+	-	Változó ¹
OXA-48-like	-	-	-	-	Igen
AmpC+porinvesztés	-	+	-	+	Változó ¹
ESBL+porinvesztés	-	-	-	-	Nem

Rövidítések: **MBL**=metallo- β -laktamáz, **KPC**=*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, **DPA**=dipikolinsav, **EDTA**=etiléndiamintetraecetsav, **APBA**=aminofenil boronsav, **PBA**=fenil boronsav, **CLX**=cloxacillin

¹ A temocillin érzékenységi vizsgálat elvégzése csak azokban az esetekben javasolt, amikor nem látszik szinergizmus egyik gátlószerezrel sem, hogy különbséget tudjunk tenni az ESBL+porinvesztés esete és az OXA-48-like enzim termelése között [12, 17, 18]. Ha más

enzimek is jelen vannak, az érzékenység változó lehet, és nem utal a továbbiakban a \square -laktamáz típusára.

²Egy közlemény támogatja a kétféle inhibitort (DPA vagy EDTA + APBA vagy PBA) tartalmazó kereskedelmi tabletták használatát [26], de átfogóbb tanulmányok hiányoznak ezzel kapcsolatban. A kétféle enzim kombinálódása magas szintű karbapenem rezisztenciát biztosít, és ez Görögországon kívül ritkán fordul elő.

2.4.4 A Carba NP teszt

A teszt azon alapul, hogy a karbapenem hidrolízis pH változással jár, ami a fenolvörös oldat színét pirosról sárgára változtatja [20, 21]. A Carba NP teszt elvégezhető Mueller-Hinton agaron, véres agaron, tripton-szója agaron és a legtöbb karbapenemáz-termelő szűrésére használt szelektív lemezen nőtt baktérium tenyészetekkel. Drigalski és McConkey agaron nőtt telepek esetén azonban nem alkalmazható a módszer. A reprodukálható eredmény érdekében fontos, hogy a módszer egyes lépéseit pontosan betartsuk. (A *Carba NP* teszttel részletesebben e szám külön írásában foglalkozunk.)

(Az *EPINFO* 18. évfolyam 47. számában megjelent "Az Országos Epidemiológiai Központ ajánlása a karbapenemáz-termelő *Enterobacteriaceae* törzsek azonosítására és terjedésük megelőzésére az egészségügyi intézményekben" **karbapenemáz-termelők szűrésére és fenotípusos vizsgálatára vonatkozó része érvényét veszti.** Helyette az *EUCAST* jelen ajánlásának alkalmazása javasolt.)

2.4.5 Kontroll törzsek

A karbapenemáz-termelés vizsgálatára ajánlott kontroll törzsek listája a 3. táblázatban látható.

3. táblázat. A karbapenemáz-termelést megerősítő vizsgálatok minőségellenőrzésére alkalmas kontroll törzsek.

Törzs	Mechanizmus
<i>Enterobacter cloacae</i> CCUG 59627	AmpC+csökkent porin expresszió
<i>K. pneumoniae</i> CCUG 58547 vagy <i>K. pneumoniae</i> NCTC 13440	Metallo- β -laktamáz (VIM)
<i>K. pneumoniae</i> NCTC 13443	Metallo- β -laktamáz (NDM-1)
<i>E. coli</i> NCTC 13476	Metallo- β -laktamáz (IMP)
<i>K. pneumoniae</i> CCUG 56233 vagy <i>K. pneumoniae</i> NCTC 13438	<i>Klebsiella pneumoniae</i> karbapenemáz (KPC)
<i>K. pneumoniae</i> NCTC 13442	OXA-48 karbapenemáz
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 25955	Negatív kontroll

2.5 Irodalomjegyzék

1. Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2012 May;18(5):413-31
2. Vatopoulos A. High rates of metallo- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Greece – a review of the current evidence. *Euro Surveill.* 2008 Jan 24;13(4). doi:pii: 8023

3. European Centres for Disease Prevention and Control (ECDC). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)
4. Souli M, Galani I, Antoniadou A, Papadomichelakis E, Poulakou G et al. An outbreak of infection due to β -lactamase *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Clin Infect Dis* 2010;50:364–73.
5. Bratu S, Landman D, Haag R, Recco R, Eramo A, Alam M, Quale J. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Arch Intern Med*. 2005;165(12):1430-5.
6. Marchaim D, Navon-Venezia S, Schwaber MJ, Carmeli Y. Isolation of imipenem-resistant Enterobacter species: emergence of KPC-2 carbapenemase, molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 Apr;52(4):1413-8
7. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:440–58
8. Falcone M, Mezzatesta ML, Perilli M, Forcella C, Giordano A et al. Infections with VIM-1 metallo β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* and their correlation with clinical outcome. *J Clin Microbiol* 2009;47: 3514–9.
9. Doumith M, Ellington MJ, Livermore DM, Woodford N. Molecular mechanisms disrupting porin expression in ertapenem-resistant *Klebsiella* and *Enterobacter* spp. clinical isolates from the UK. *J Antimicrob Chemother*. 2009;63:659-67
10. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(5):432-8.
11. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Website with MIC-distributions. (<http://mic.eucast.org/>, accessed on 23 December 2012)
12. Glupczynski Y, Huang TD, Bouchahrouf W, Rezende de Castro R, Bauraing C et al. Rapid emergence and spread of OXA-48-producing carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates in Belgian hospitals. *Int J Antimicrob Agents*. 2012 Feb;39(2):168-72
13. Tato M, Coque TM, Ruiz-Garbajosa P, Pintado V, Cobo J et al. Complex clonal and plasmid epidemiology in the first outbreak of Enterobacteriaceae infection involving VIM-1 metallo- β -lactamase in Spain: toward endemicity? *Clin Infect Dis*. 2007;45(9):1171-8.
14. Vading M, Samuelsen Ø, Haldorsen B, Sundsfjord AS, Giske CG. Comparison of disk diffusion, Etest and VITEK2 for detection of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* with the EUCAST and CLSI breakpoint systems. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(5):668-74.
15. Hrabák J, Studentová V, Walková R, Zemlicková H, Jakubu V et al. Detection of NDM-1, VIM-1, KPC, OXA-48, and OXA-162 carbapenemases by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol*. 2012;50(7):2441-3
16. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(9):1503-7.
17. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Rapid Identification of Carbapenemase Types in Enterobacteriaceae and *Pseudomonas* spp. by Using a Biochemical Test. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(12):6437-40.
18. Cuzon G, Naas T, Bogaerts P, Glupczynski Y, Nordmann P. Evaluation of a DNA microarray for the rapid detection of extended-spectrum β -lactamases (TEM, SHV and CTX-M), plasmid-mediated cephalosporinases (CMY-2-like, DHA, FOX, ACC-1, ACT/MIR and CMY-1-like/MOX) and carbapenemases (KPC, OXA-48, VIM, IMP and NDM). *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(8):1865-9.
19. Giske CG, Gezelius L, Samuelsen Ø, Warner M, Sundsfjord A, Woodford N. A sensitive and specific phenotypic assay for detection of metallo- β -lactamases and KPC in *Klebsiella pneumoniae* with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacillin. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(4):552-6.

3. Kiterjedt-spektrumú β -laktamáz (ESBL)-termelő *Enterobacteriaceae*

A rezisztencia mechanizmus detektálásának jelentősége	
Az antibiotikum érzékenység interpretálásához szükséges	Nem
Infekciókontroll	Igen
Közegészségügy	Igen

3.1 Definíció

Az ESBL enzimek hidrolizálják a legtöbb penicillint és cefalosporint, beleértve az oxyimino- β -laktám vegyületeket (cefuroxim, 3. és 4. generációs cefalosporinok és aztreonam), azonban a cephamycineket és a karbapenemeket nem. A legtöbb ESBL a β -laktamázok Ambler-féle A osztályába tartozik és működésüket gátolják a β -laktamáz inhibitorok (klavulánsav, sulbactam és tazobactam) [1].

3.2 Klinikai és/vagy epidemiológiai jelentőség

Az első ESBL-termelő törzseket 1983-ban izolálták, azóta világszerte elterjedtek. Ennek háttérében az ESBL-termelő törzsek klonális terjedése, az ESBL-géneket hordozó plazmidok horizontális átvitele, és kisebb mértékben a *de novo* megjelenés áll. Klinikai szempontból messze a legjelentősebb ESBL csoportot a CTX-M-típusú enzimek alkotják, ezután következnek az SHV- és TEM-típusú ESBL-ek [2-5]. Bizonyos D osztályú OXA-típusú enzimeket szintén az ESBL-ek közé sorolnak, habár a klasszikus β -laktamáz inhibitorok ezek működését kisebb hatékonysággal gátolják, mint más ESBL-ekét.

Az ESBL-termelést elsősorban *Enterobacteriaceae* családban írták le: először kórházi környezetben, majd idősothonokban, és a 2000-es évek óta területről is (járóbetegek, egészséges hordozók, beteg és egészséges állatok, élelmiszerek). A leggyakrabban leírt ESBL-termelő fajok az *Escherichia coli* és a *Klebsiella pneumoniae*. Azonban a többi, klinikailag releváns *Enterobacteriaceae* faj is gyakran lehet ESBL-termelő. Az ESBL-termelő izolátumok prevalenciája számos tényezőtől függ: faj, földrajzi hely, kórház/osztály, a betegcsoport és a fertőzés típusa, és a különböző tanulmányokban széles határok között mozog az értéke [2, 3, 6, 7]. A 2011-es EARS-Net adatok azt mutatták, hogy a 3. generációs cefalosporin nem-érzékeny, invazív *K. pneumoniae* aránya meghaladta a 10%-ot a legtöbb európai országban, sőt néhány országban ez az arány magasabb, mint 50%. A legtöbb izolátum feltételezhetően ESBL-termelő volt a helyi ESBL-vizsgálatok eredményei alapján [8].

3.3 Rezisztencia mechanizmus

A legtöbb ESBL szerzett enzim terjedése mobilis genetikai elemekhez (plazmidok) köthető. Az ESBL-ek különböző szinten expresszálódhatnak, biokémiai tulajdonságaikban és a különböző β -laktámokkal szembeni aktivitásukban (pl. cefotaxim, ceftazidim, aztreonam) is eltérhetnek. Az expresszió szintje, az enzim tulajdonságai és más rezisztencia mechanizmusokkal való együttes megjelenés (más β -laktamázok termelése, effluxpumpák működtetése és/vagy megváltozott permeabilitás) mind hozzájárul az ESBL-termelő izolátumok körében tapasztalható változatos fenotípusok kialakulásához [1-4, 9, 10].

3.4 Javasolt módszerek az ESBL-k kimutatására *Enterobacteriaceae* izolátumoknál

Sok országban infékcókontroll céljából ajánlott vagy kötelező az ESBL-termelés kimutatása és az enzimek jellemzése. Az *Enterobacteriaceae* csoportban az ESBL-ek kimutatására ajánlott stratégia a következő: az indikátor oxyimino-cefalosporinok nem-érzékenysége alapján szűrni a gyanús izolátumokat, majd ezt követően fenotípusos (és bizonyos esetekben genotípusos) megerősítő tesztek elvégzése (1. táblázat, 1. ábra).

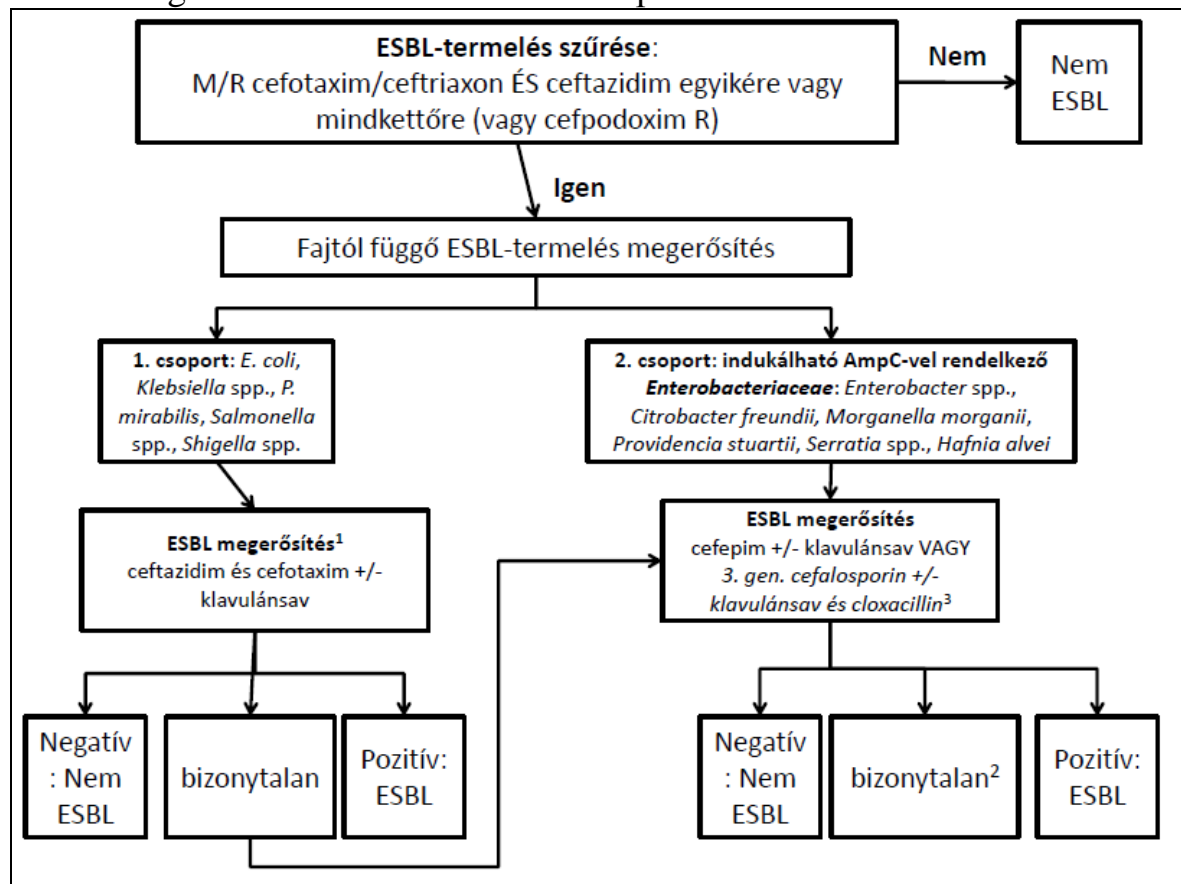
Az EUCAST és a CLSI ajánlásai alapján cefotaxim, ceftriaxon, ceftazidim és cefpodoxim esetében a szűrésre ajánlott határérték: > 1 mg/L MIC érték (1. táblázat) [11, 12]. Az *Enterobacteriaceae* csoportnál az EUCAST ajánlásában a cefalosporin érzékenység klinikai határértéke szintén ≤ 1 mg/L [11]. A cefpodoxim a legérzékenyebb indikátor cefalosporin az ESBL-termelés kimutatására, ezért önmagában is ajánlható a szűrésre. Azonban kevésbé specifikus, mint a cefotaxim (vagy ceftriaxon) és ceftazidim kombinált alkalmazása [13, 14] és csak ez utóbbi vegyületeket használják a megerősítő tesztekhez. Az indikátor cefalosporinok ide vonatkozó gátlási zóna átmérői az 1. táblázatban láthatóak.

1. táblázat. Módszerek az ESBL-termelés szűrésére *Enterobacteriaceae* családban [12-18]

Módszer	Antibiotikum	ESBL-termelés vizsgálata szükséges, ha
Leves- vagy agar-hígítás ¹	Cefotaxim/ceftriaxon ÉS ceftazidim	MIC >1mg/L bármelyik szerre
	Cefpodoxim	MIC >1 mg/L
Korongdiffúzió ¹	Cefotaxim (5 μ g) vagy ceftriaxon (30 μ g) ÉS ceftazidim (10 μ g)	Gátlási zóna <21 mm Gátlási zóna <23 mm Gátlási zóna <22 mm
	Cefpodoxim (10 μ g)	Gátlási zóna < 21 mm

¹ Az összes módszernél vagy cefotaxim/ceftriaxon ÉS ceftazidim együtt VAGY cefpodoxim magában vizsgálandó

1. ábra. Algoritmus ESBL-termelés fenotípusos kimutatásához



¹Ha cefoxitint vizsgáltak és a MIC értéke > 8 mg/L vagy a gátlási zóna átmérője < 19 mm, akkor cefepim +/- klavulánsav VAGY 3. gen. cefalosporin +/- klavulánsav és cloxacillin megerősítő teszt elvégzése ajánlott.

²Nem lehet sem pozitívnak, sem negatívnak értékelni (pl. ha a gradiens MIC tesztcsík mellett teljes benövés látható mindkét oldalon, vagy nincs egyértelmű szinergizmus a kombinált korong vagy a kétkorong szinergizmus teszteknél). Ha a cefepim +/- klavulánsav megerősítő teszt is bizonytalan eredményt ad, akkor genotípusos vizsgálat szükséges.

³(Nemzeti referencia laboratórium kiegészítése: Az **Enterobacteriaceae** család 2. csoportjához tartozó specioseknél fenotípusos vizsgálatok alapján csak az ESBL-termelés eredményét ajánlott kiadni ("Az izolátum ESBL-termelő" vagy "Az izolátum nem ESBL-termelő"). Az AmpC-termelést nem kell külön kiemelni, mivel ez utóbbinak nincs járványügyi jelentősége.)

3.4.1 ESBL-termelés szűrése Enterobacteriaceae családban

A. Szűrő kritériumok az **Enterobacteriaceae** család 1. csoportjában (*E. coli*, *Klebsiella* spp., *P. mirabilis*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp.)

Az 1. csoportban az ESBL szűrésére ajánlott módszerek: leves-, agarhígításos módszer, korongdiffúziós módszer vagy automata rendszerek [12, 19, 20]. A szűrés során a cefotaximot (vagy ceftriaxont) és a ceftazidimet együtt kell

alkalmazni, mivel a különböző ESBL-termelő izolátumok cefotaxim (vagy ceftriaxon) és ceftazidim MIC értékei nagyon különbözőek lehetnek [13, 21, 22].

Az ESBL-szűrésre pozitív és az 1. csoportba tartozó fajok ESBL megerősítésének algoritmusai az 1. ábrán és a 2. táblázatban látható.

B. Szűrő kritériumok az *Enterobacteriaceae* család 2. csoportjában (*Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Providencia* spp., *Hafnia alvei*)

Az ebbe a csoportba tartozó fajoknál az ESBL-termelés szűrésére ugyanaz a módszer ajánlott, mint az 1. csoportnál (1. ábra és 3. táblázat) [18]. Azonban, ebben a csoportban a 3. generációs cefalosporinokkal szembeni rezisztencia hátterében lévő leggyakoribb mechanizmus a kromoszómális AmpC-típusú β -laktamázok derepresszált termelése/túltermelése. Az AmpC-típusú β -laktamázok túlnyomó többsége nem hidrolizálja jól a cefepimet, ezért ez a hatóanyag használható fenotípusos tesztekben klavulánsavval kiegészítve.

3.4.2 Fenotípusos megerősítő módszerek

A klavulánsavat alkalmazó számos fenotípusos módszer közül négy ajánlott az ESBL-termelés megerősítésére: a kombinált korong teszt (CDT), a kétkorong szinergizmus teszt (DDST), az ESBL gradiens teszt és a mikro leveshígítási teszt (2. és 3. táblázat) [19, 20,23]. Egy multicentrikus vizsgálatban a CDT jobb specificitást mutatott az ESBL gradiens tesztnél, míg érzékenységük hasonló volt [24]. A kereskedelmi forgalomban kapható, antibiotikum érzékenységet vizsgáló automatizált rendszerekben is megtalálhatók a klavulánsav gátláson alapuló ESBL-termelést kimutató tesztek. Különböző tanulmányokban ezek a megerősítő módszerek eltérő teljesítményt mutattak függően a vizsgált törzskollekciótól és a használt rendszertől [16-18].

A. Kombinált korong módszer (CDT)

Minden ilyen tesztnél olyan korongokat vagy tablettákat alkalmaznak, melyek cefalosporinokat (cefotaxim, ceftazidim, cefepim) magában, illetve klavulánsavval kombinációban tartalmaznak. A teszt értékelésekor a klavulánsavval kiegészített cefalosporin korong vagy tableta körüli gátlási zóna átmérőjét hasonlítjuk össze a csak cefalosporint tartalmazó korong vagy tableta körüli gátlási zóna átmérőjével. A teszt pozitív, ha a klavulánsavval kiegészített és a mentes korong körüli gátlási zóna átmérők különbsége ≥ 5 mm (3. táblázat) [25, 26].

B. Kétkorong szinergizmus teszt (DDST)

A vizsgálat során a baktériumpázsitot tartalmazó táptalajra cefalosporin tartalmú korongokat (cefotaxim, ceftazidim, cefepim) helyeznek a klavulánsav tartalmú korong (amoxicillin/klavulánsav) közelébe. Pozitív eredmény esetén valamelyik vagy az összes cefalosporin tartalmú korong körüli gátlási zóna kiszélesedik a klavulánsav tartalmú korong felé. A korongok közötti távolság kritikus pont, 30 μ g cefalosporin tartalmú korongok esetében az optimális távolság 20 mm a korongok középpontja között. Azonban ez csökkenthető 15 mm-re, ha magas szintű a rezisztencia, vagy növelhető 30 mm-re, ha alacsony szintű [19]. Mivel az EUCAST alacsonyabb cefalosporin tartalmú korongokat ajánl a rutin vizsgálatok során, ezért ilyen hatóanyag tartalmú korongokkal történő kivitelezéshez a módszer átdolgozására és újraértékelésére van szükség.

C. Gradiens teszt módszer

A gradiens tesztek kivitelezése, leolvasása és az eredmény interpretálása a gyártók előírása szerint történik. A teszt pozitív, ha a csak cefalosporint tartalmazó MIC értéknél a klavulánsavval kombinált cefalosporin MIC érték ≥ 8 -szoros hígításbeli csökkenést mutat, vagy ha „fantom-zóna” illetve deformált ellipszis látható (3. táblázat). A teszt eredménye bizonytalan, ha a tesztesík mellett teljes benövés tapasztalható. Minden más esetben a teszt eredménye negatív. Az ESBL gradiens tesztek csak az ESBL-termelés kimutatására szolgálnak, a MIC érték meghatározására nem alkalmasak.

D. Mikro levesthígítási módszer

A mikro levesthígítási módszernél cefalosporinok (cefotaxim, ceftazidim és cefepim) Mueller-Hinton levest, 0,25-512 mg/L koncentrációtartományban elkészített, kétszeres léptékű hígítási sorát alkalmazzák magukban és 4mg/L állandó koncentrációjú klavulánsavval kiegészítve. A teszt pozitív, ha a csak cefalosporint tartalmazó MIC értéknél a klavulánsavval kombinált cefalosporin MIC érték ≥ 8 -szoros hígításbeli csökkenést mutat. Minden más esetben a teszt eredménye negatív [23].

E. Speciális szempontok az interpretáció során

A kromozómális K1 (OXY-like) β -laktamáz túltermelő *Klebsiella oxytoca* törzsek adhatnak álpozitív eredményt cefotaximot használó ESBL-termelést megerősítő teszteknel [27]. Hasonló fenotípusra lehet számítani *Proteus vulgaris*, *P. penneri*, *Citrobacter koseri* és *Kluyvera* spp., valamint *C. koseri*-szerű fajoknál (mint *C. sedlakii*, *C. farmeri*, *C. amalonaticus*), melyek klavulánsavval gátolható kromozómális β -laktamázzal rendelkeznek [28, 29]. További lehetséges okok, amelyek álpozitív eredményre vezethetnek: SHV-1, TEM-1 vagy OXA-1-like széles-spektrumú β -laktamáz termelése sejtfal permeabilitás változással kombinálódva [17]. Hasonló probléma merülhet fel

K1-termelő *K. oxytoca* esetében, ha csak cefepim alapú megerősítő teszt kerül alkalmazásra [30].

2. táblázat. ESBL termelésre gyanús (lásd 1. táblázat) *Enterobacteriaceae* izolátumok ESBL-megerősítő módszerei. *Enterobacteriaceae* család 1. csoport (lásd 1. ábra)

Módszer	Hatóanyag (korong tartalom)	ESBL megerősítés pozitív, ha
ESBL gradiens teszt	Cefotaxim +/- klavulánsav	MIC érték arány ≥ 8 vagy deformált gátlási zóna jelenléte
	Ceftazidim +/- klavulánsav	MIC érték arány ≥ 8 vagy deformált gátlási zóna jelenléte
Kombinált korong módszer (CDT)	Cefotaxim (30 μg) +/- klavulánsav (10 μg)	≥ 5 mm gátlási zóna növekedés
	Ceftazidim (30 μg) +/- klavulánsav (10 μg)	≥ 5 mm gátlási zóna növekedés
Mikro leveshígítás	Cefotaxim +/- klavulánsav (4 mg/L)	MIC érték arány ≥ 8
	Ceftazidim +/- klavulánsav (4 mg/L)	MIC érték arány ≥ 8
	Cefepim +/- klavulánsav (4 mg/L)	MIC érték arány ≥ 8
Kétkorong szinergizmus teszt (DDST)	Cefotaxim, ceftazidim, cefepim és (<i>aztreonam</i>)	Az adott cefalosporin vagy az aztreonam körüli gátlási zóna kiszélesedése az amoxicillin/klavulánsav korong felé

3. táblázat. ESBL szűrő teszttel (lásd 1. táblázat) pozitív *Enterobacteriaceae* izolátumok ESBL-termelésének megerősítő módszerei. *Enterobacteriaceae* család 2. csoport (lásd 1. ábra)

Módszer	Hatóanyag (korong tartalom)	ESBL megerősítés pozitív, ha
ESBL gradiens teszt	Cefepim +/- klavulánsav	MIC érték arány ≥ 8 vagy deformált gátlási zóna jelenléte
Kombinált korong módszer (CDT)	Cefepim (30 μg) +/- klavulánsav (10 μg)	≥ 5 mm gátlási zóna növekedés
Mikro leveshígítás	Cefepim +/- klavulánsav (4 mg/L)	MIC érték arány ≥ 8
Kétkorong szinergizmus teszt (DDST)	Cefotaxim, ceftazidim, cefepim és (<i>aztreonam</i>)	Az adott cefalosporin vagy az aztreonam körüli gátlási zóna kiszélesedése az amoxicillin/klavulánsav korong felé

3.4.3 ESBL-termelés fenotípusos kimutatása, ha más β -laktamázok jelenléte gátolja a szinergizmus megjelenését

Bizonytalan teszt eredményt (gradiens teszt) és álnegatív teszt eredményeket (CDT, DDST, gradiens teszt és mikro leveshígítás) eredményezhet az AmpC-típusú β -laktamázok túltermelése, ami elrejteti az ESBL-ek jelenlétét [19, 31, 32]. Általában az AmpC-típusú β -laktamázokat túltermelő izolátumok rezisztenciát mutatnak a 3. generációs cefalosporinokkal szemben. Továbbá a cephamicinekkel szembeni rezisztencia (pl. cefoxitin >8 mg/L vagy <19mm) jelezheti az AmpC-típusú β -laktamázok túltermelését [31]. Ritka kivételek az ACC β -laktamázok, melyek nem okoznak cefoxitin rezisztenciát [33].

Az AmpC-típusú β -laktamáz-túltermelő izolátumok ESBL-termelésének kimutatására ajánlott a cefepim alapú ESBL megerősítő tesztek elvégzése is, mivel az AmpC- β -laktamázok általában nem képesek a cefepimet hidrolizálni. A cefepim az összes megerősítő teszt típusban (CDT, DDST, gradiens teszt, mikro leveshígítás) használható [27, 34-36]. Alternatív megoldásként használható a cloxacillin is, ami jó gátlószere az AmpC-enzimeknek. CDT teszt alkalmazható úgy, hogy a cefalosporin (ceftazidim vagy cefotaxim) tartalmú korongok mind klavulánsavat, mind cloxacillint tartalmaznak; illetve használható 200-250 mg/L cloxacillin tartalmú Mueller-Hinton agaron, standard módon kivitelezett CDT vagy DDST is [19]. Kereskedelmi forgalomban is elérhetőek olyan korongtesztek, amelyek klavulánsavat és cloxacillint is tartalmaznak, azonban multicentrumos vizsgálatok nem állnak rendelkezésre ezekre a termékekre.

Az ESBL jelenlétét a karbapenemázok, mint a metallo- β -laktamázok vagy a KPC-k (de az OXA-48-like enzimek nem) és/vagy a komoly permeabilitási defektusok szintén elrejtetik [37, 38]. Az ESBL-ek epidemiológiai jelentősége ezekben az esetekben kérdéses lehet, mivel a karbapenemázok nagyobb közegészségügyi jelentőséggel bírnak, de ha az ESBL kimutatása még így is releváns, akkor molekuláris módszerek alkalmazása ajánlott. Meg kell említeni, hogy a D osztályba tartozó (OXA-típusú) ESBL-ek gyengén gátolhatók klavulánsavval, és ezért a fentebb leírt módszerekkel kimutatásuk nem lehetséges [4, 19]. Ezek az enzimek jelenleg még ritkán fordulnak elő az *Enterobacteriaceae* családban.

3.4.4 Genotípusos megerősítés

Az ESBL gének jelenlétének megerősítésére a PCR és az ESBL gének szekvenálása [3] vagy DNS microarray- alapú módszerek ajánlottak. A Check-KPC ESBL microarray (Check-Points, Wageningen, Hollandia) különböző, változatos ESBL típusokat tartalmazó törzskollekciókon való kipróbálása a módszer jó alkalmazhatóságát mutatta [39-43]. A tesztek általában 24 órán belül

elvégezhetőek. Meg kell jegyezni, hogy ritka, illetve új ESBL-típusba tartozó géneket ez a microarray nem tud azonosítani.

3.4.5 Kontroll törzsek

ESBL-termelés vizsgálatára ajánlott kontroll törzsek listája a 4. táblázatban látható.

4. táblázat. ESBL-termelést megerősítő vizsgálatok minőségellenőrzésére alkalmas kontroll törzsek.

Törzs	Mechanizmus
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	SHV-18 ESBL
<i>Escherichia coli</i> CCUG62975	CTX-M-1 csoportba tartozó ESBL és CMY-típusú szerzett AmpC
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	ESBL-negatív

3.5 Irodalomjegyzék

- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39:211-1233
- Livermore DM. β -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8:557-584
- Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:933-951
- Naas T, Poirel L, Nordmann P. 2008. Minor extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(Suppl1):42-52
- Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM. Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(Suppl1):144-153
- Livermore DM, Cantón R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, Ayala J, Coque TM, Kern-Zdanowicz I, Luzzaro F, Poirel L, Woodford N. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59:165-174
- Carattoli A. Animal reservoirs for extended-spectrum β -lactamase producers. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(Suppl1):117-123
- European Centres for Disease Prevention and Control (ECDC). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)
- Gniadkowski M. 2008. Evolution of extended-spectrum β -lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(Suppl1):11-32
- Livermore DM. Defining an extended-spectrum β -lactamase. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(Suppl1):3-10
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. EUCAST; 2013. Version 3.0 http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/ (last accessed 23 December 2012).
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-first Informational Supplement M 100-S21. Wayne, PA, USA: CLSI; 2011.
- Hope R, Potz NA, Warner M, Fagan EJ, Arnold E, Livermore DM. Efficacy of practised screening methods for detection of cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59(1):110-3.
- Oliver A, Weigel LM, Rasheed JK, McGowan Jr JE Jr, Raney P, Tenover FC. Mechanisms of decreased susceptibility to cefpodoxime in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46:3829-36.

15. Garrec H, Drieux-Rouzet L, Golmard JL, Jarlier V, Robert J. Comparison of nine phenotypic methods for detection of extended-spectrum beta-lactamase production by Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2011;49:1048-57.
16. Leverstein-van Hall MA, Fluit AC, Paauw A, Box AT, Brisse S, Verhoef J. Evaluation of the Etest ESBL and the BD Phoenix, VITEK 1, and VITEK 2 automated instruments for detection of extended-spectrum β -lactamases in multiresistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *J Clin Microbiol.* 2002;40:3703-11.
17. Spanu T, Sanguinetti M, Tumbarello M, D'Inzeo T, Fiori B, Posteraro B, Santangelo R, Cauda R, Fadda G. Evaluation of the new VITEK 2 extended-spectrum β -lactamase (ESBL) test for rapid detection of ESBL production in Enterobacteriaceae isolates. *J Clin Microbiol.* 2006;44:3257-62.
18. Thomson KS, Cornish NE, Hong SG, Hemrick K, Herdt C, Moland ES. Comparison of Phoenix and VITEK 2 extended-spectrum- β -lactamase detection tests for analysis of *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates with well-characterized β -lactamases. *J Clin Microbiol.* 2007;45:2380-4.
19. Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V. Phenotypic detection of extended-spectrum β -lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clin Microbiol Infect.* 2008; 14 (Suppl 1):90-103.
20. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:657-86
21. Biedenbach DJ, Toleman M, Walsh TR, Jones RN. Analysis of *Salmonella* spp. with resistance to extended-spectrum cephalosporins and fluoroquinolones isolated in North America and Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2004). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006;54:13-21.
22. Hirakata Y, Matsuda J, Miyazaki Y, Kamihira S, Kawakami S et al. Regional variation in the prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region (SENTRY 1998-2002). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005;52:323-9.
23. Jeong SH, Song W, Kim JS, Kim HS, Lee KM. Broth microdilution method to detect extended-spectrum β -lactamases and AmpC β -lactamases in Enterobacteriaceae isolates by use of clavulanic acid and boronic acid as inhibitors. *J Clin Microbiol.* 2009;47:3409-12.
24. Platteel TN, Cohen Stuart JW, de Neeling AJ, Voets GM, Scharringa J et al. Multi-centre evaluation of a phenotypic extended spectrum β -lactamase detection guideline in the routine setting. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19:70-6.
25. M'Zali FH, Chanawong A, Kerr KG, Birkenhead D, Hawkey PM. Detection of extended-spectrum β -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison of the MAST DD test, the double disc and the Etest ESBL. *J Antimicrob Chemother.* 2000;45:881-5.
26. Towne TG, Lewis JS 2nd, Herrera M, Wickes B, Jorgensen JH. Detection of SHV-type extended-spectrum β -lactamase in *Enterobacter* isolates. *J Clin Microbiol.* 2010;48:298-9.
27. Stürenburg E, Sobottka I, Noor D, Laufs R, Mack D. Evaluation of a new cefepime-clavulanate ESBL Etest to detect extended-spectrum β -lactamases in an Enterobacteriaceae strain collection. *J Antimicrob Chemother.* 2004;54:134-8.
28. Nukaga M, Mayama K, Crichlow GV, Knox JR. Structure of an extended-spectrum class A β -lactamase from *Proteus vulgaris* K1. *J Mol Biol.* 2002;317:109-17.
29. Petrella S, Renard M, Ziental-Gelus N, Clermont D, Jarlier V, Sougakoff W. Characterization of the chromosomal class A β -lactamase CKO from *Citrobacter koseri*. *FEMS Microbiol Lett.* 2006;254:285-92.
30. Stürenburg E, Sobottka I, Noor D, Laufs R, Mack D. Evaluation of a new cefepime-clavulanate ESBL Etest to detect extended-spectrum beta-lactamases in an Enterobacteriaceae strain collection. *J Antimicrob Chemother.* 2004; 54:134-8.
31. Jacoby GA. AmpC β -lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22:161-82
32. Munier GK, Johnson CL, Snyder JW, Moland ES, Hanson ND, Thomson KS. Positive extended-spectrum- β -lactamase (ESBL) screening results may be due to AmpC β -lactamases more often than to ESBLs. *J Clin Microbiol.* 2010;48:673-4.
33. Bauernfeind A, Schneider I, Jungwirth R, Sahly H, Ullmann U. A novel type of AmpC β -lactamase, ACC-1, produced by a *Klebsiella pneumoniae* strain causing nosocomial pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:1924-31.

34. Polfuss S, Bloemberg GV, Giger J, Meyer V, Böttger EC, Hombach M. Evaluation of a diagnostic flow chart for detection and confirmation of extended spectrum β -lactamases (ESBL) in Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:1194-204.
35. Yang JL, Wang JT, Lauderdale TL, Chang SC. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases in *Enterobacter cloacae* in Taiwan and comparison of 3 phenotypic confirmatory methods for detecting extended-spectrum beta-lactamase production. *J Microbiol Immunol Infect.* 2009;42:310-6.
36. Jeong SH, Song W, Kim JS, Kim HS, Lee KM. Broth microdilution method to detect extended-spectrum beta-lactamases and AmpC beta-lactamases in enterobacteriaceae isolates by use of clavulanic acid and boronic acid as inhibitors. *J Clin Microbiol.* 2009;47:3409-12.
37. Tsakris A, Poulou A, Themeli-Digalaki K, Voulgari E, Pittaras T, Sofianou D, Pournaras S, Petropoulou D. Use of boronic acid disk tests to detect extended- spectrum β -lactamases in clinical isolates of KPC carbapenemase-possessing Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2009;47:3420-6.
38. March A, Aschbacher R, Dhanji H, Livermore DM, Böttcher A et al. Colonization of residents and staff of a long-term-care facility and adjacent acute-care hospital geriatric unit by multiresistant bacteria. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16:934-44.
39. Cohen Stuart J, Dierikx C, Al Naiemi N, Karczmarek A, Van Hoek AH et al. Rapid detection of TEM, SHV and CTX-M extended-spectrum β -lactamases in Enterobacteriaceae using ligation-mediated amplification with microarray analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65:1377-81
40. Endimiani A, Hujer AM, Hujer KM, Gatta JA, Schriver AC et al. Evaluation of a commercial microarray system for detection of SHV-, TEM-, CTX-M-, and KPC-type β -lactamase genes in Gram-negative isolates. *J Clin Microbiol.* 2010;48:2618-22.
41. Naas T, Cuzon G, Truong H, Bernabeu S, Nordmann P. Evaluation of a DNA microarray, the Check-Points ESBL/KPC array, for rapid detection of TEM, SHV, and CTX-M extended-spectrum β -lactamases and KPC carbapenemases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:3086-92.
42. Platteel TN, Stuart JW, Voets GM, Scharringa J, van de Sande N et al. Evaluation of a commercial microarray as a confirmation test for the presence of extended-spectrum β -lactamases in isolates from the routine clinical setting. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:1435-8.
43. Willemsen I, Overvest I, Al Naiemi N, Rijnsburger M, Savelkoul P et al. New diagnostic microarray (Check-KPC ESBL) for detection and identification of extended-spectrum β -lactamases in highly resistant Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2011;49:2985-7.

4. Szerzett AmpC-típusú β -laktamázt termelő *Enterobacteriaceae*

A rezisztencia mechanizmus detektálásának jelentősége	
Az antibiotikum érzékenység interpretálásához szükséges	Nem
Infekciókontroll	Igen
Közegészségügy	Igen

4.1 Definíció

AmpC-típusú cefalosporinázok a β -laktamázok Ambler-féle C osztályába tartoznak. Hidrolizálják a penicillineket, cefalosporinokat (beleértve a 3. generációs cefalosporinokat, de a 4. generációsokat általában nem) és a monobaktámokat. Általánosságban az AmpC-típusú enzimek működését gyengén gátolják a klasszikus ESBL inhibitorok, különösen a klavulánsav [1].

4.2 Klinikai és/vagy epidemiológiai jelentőség

Az első szerzett AmpC-termelő izolátumot az 1980-as évek végén azonosították, és azóta világszerte elterjedt, ami az AmpC gének (gyakran említik ezeket, mint plazmid-közvetített AmpC) klonális terjedésének és horizontális átvitelének eredménye. A mobilis AmpC géneknek több csoportját is megkülönböztetik a kromoszómálisan termelt változatok hordozóinak alapján: *Enterobacter* csoport (MIR, ACT), *C. freundii* csoport (CMY-2-like, LAT, CFE), *M. morgani* csoport (DHA), *Hafnia alvei* csoport (ACC), *Aeromonas* csoport (CMY-1-like, FOX, MOX) és *Acinetobacter baumannii* csoport (ABA). A leggyakoribb és legelterjedtebb enzimek a CMY-2-like csoportba tartoznak, azonban az indukálható DHA-típusú β -laktamázok és néhány másik típus szintén jelentősen elterjedtek [1].

A szerzett AmpC-kat termelő főbb fajok: *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Salmonella enterica* és *P. mirabilis*. Ilyen enzimeket termelő izolátumokat mind kórházban ápolt, mind járóbeteg mintáiból kitenyésztettek, és a klasszikus ESBL-enzimeknél korábban kimutatták már haszonállatokból és élelmiszerekből is (*E. coli* és *S. enterica* izolátumokban). Habár a szerzett AmpC-k széles körben elterjedtek, és számos tanulmányban írták le bélbaktériumok 3. generációs rezisztenciájának háttérében, összességében gyakoriságuk messze elmarad az ESBL-ekétől. Azonban, néhány helyi és különleges epidemiológiai szituációban az ilyen enzimeket termelő organizmusok jelentősége megnövekedhet [1-5].

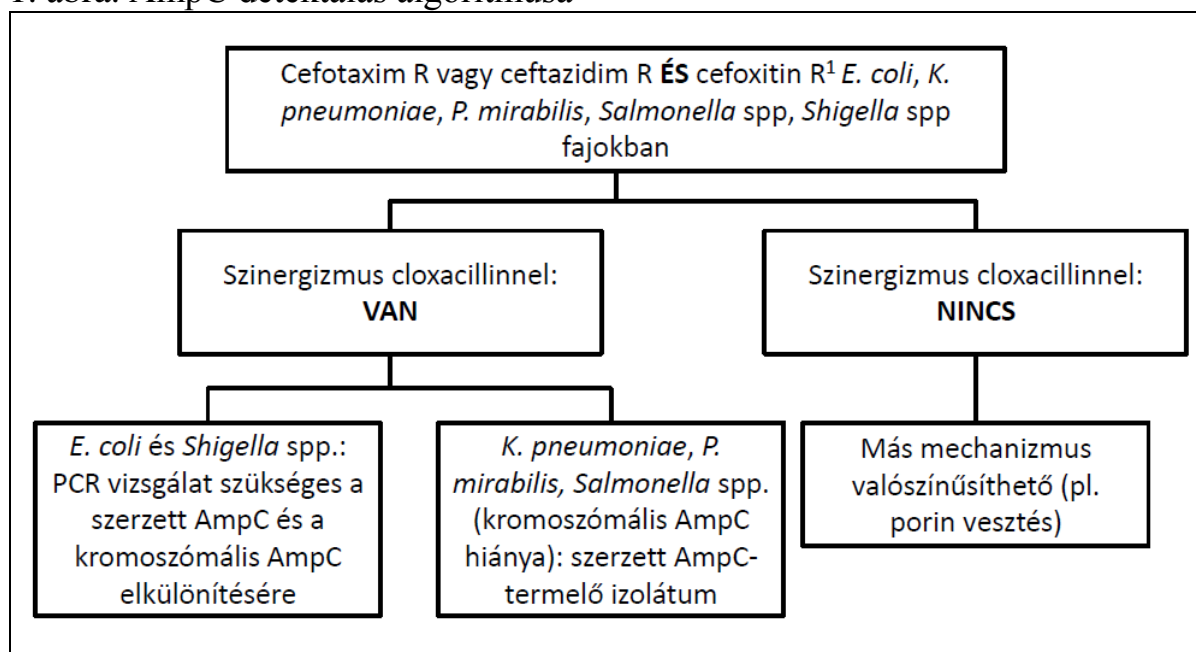
4.3 Rezisztencia mechanizmusok

Az *Enterobacteriaceae* családba tartozó számos species, illetve más Gram-negatív organizmusok természetes módon termelnek AmpC-típusú β -laktamázokat. Az enzim kifejeződése lehet állandó, de minimális szintű (pl. *E. coli*, *Acinetobacter baumannii*) vagy indukálható (pl. *Enterobacter* spp., *C. freundii*, *M. morgani*, *P. aeruginosa*). Különböző genetikai változások következtében a természetes AmpC-k derepresszáltan vagy túltermelődve is kifejeződhetnek, ami cefalosporinokkal és penicillin/ β -laktamáz gátlószer kombinációkkal szembeni magas szintű rezisztenciához vezet. A C osztályú cefalosporinázok szerzetté is válhatnak, elsősorban az *Enterobacteriaceae* családban. Néhány típus kivételével (pl. DHA), amelyek indukálhatóak maradtak, a szerzett AmpC-k expressziója állandó szintű, és a derepresszált vagy túltermelő mutánsokhoz hasonló rezisztenciát okoznak. A rezisztencia szintje függ a kifejeződő enzim mennyiségétől, illetve más rezisztencia mechanizmusok jelenlététől. Hasonlóan az ESBL-ekhez, a szerzett AmpC-k is általában plazmidon kódoltak [1-3].

4.4 Szerzett AmpC-típusú β -laktamázok kimutatására ajánlott módszerek *Enterobacteriaceae* családban

Az *Enterobacteriaceae* család 1. csoportjában az AmpC-termelés szűrésére alkalmazható fenotípusos kritériumok: cefoxitin MIC érték > 8 mg/L ÉS ceftazidim és/vagy cefotaxim MIC érték >1 mg/L. Azonban ezekkel a szűrőfeltételekkel az ACC-1-típusú szerzett AmpC-termelő izolátumokat nem lehet detektálni, mivel ez a típus nem hidrolizálja a cefoxitint [6]. Meg kell jegyezni, hogy cefoxitin rezisztencia porinvesztés miatt is kialakulhat [1].

1. ábra. AmpC detektálás algoritmus



¹ A "cefoxitin R" ebben az esetben a nem-vad típust jelenti (MIC érték >8 mg/L vagy gátlási zóna átmérő <19 mm). A cefotaxim és ceftazidim nem-érzékenység vizsgálatán alapuló megközelítés magasabb érzékenységet, de alacsonyabb specificitást mutat a cefoxitin rezisztens izolátumok vizsgálatával összehasonlítva [7]. AmpC-típusú β -laktamázok ESBL-teszttel pozitív (klavulánsavval szinergizmust mutató) izolátumokban is jelen lehetnek. Ezért lényeges lehet az AmpC-termelés vizsgálata az ESBL-teszt eredményétől függetlenül. Ha a laboratórium nem vizsgál cefoxitin érzékenységet, akkor a cefepim érzékenység ÉS cefotaxim és/vagy ceftazidim rezisztencia együttes megjelenése szintén utalhat az AmpC-termelésre, bár ennek a specificitása alacsonyabb.

Az AmpC megerősítő fenotípusos tesztek alapvetően az AmpC-működésének cloxacillinnel vagy boronsav származékokkal történő gátlásán alapulnak. Azonban, a boronsav származékok az A osztályú karbapenemázok működését is gátolják. Habár ezeknek a megerősítő módszereknek a használhatóságáról kevés az adat, meglehetősen jól alkalmazhatók a házi módszerek [8-10], valamint a kereskedelmi forgalomban kapható tesztek is, mint pl. a MAST "AmpC Detection Disc Set" (érzékenység 96-100%, specificitás 98-100%) [11, 12], az AmpC gradiens teszt, amelyet jelenleg csak a bioMérieux gyárt (érzékenység 84-93%, specificitás 70-100%) [12, 13], és a cefotaxim-cloxacillin és ceftazidim-cloxacillin Rosco tabletták (érzékenység 96%, specificitás 92%) [7, 14]. *(A MAST "AmpC Detection Disc Set" alkalmas az ESBL- és az AmpC-termelés egyidejű vizsgálatára is, ami megkönnyíti és gyorsítja a laboratóriumi vizsgálatokat. Fenotípusos vizsgálatok alapján az AmpC-termelést csak az "AmpC detektálás algoritmus" ábrán szereplő specioseknél ajánlott kiadni.)*

Azonban ezek az AmpC megerősítő tesztek nem alkalmasak *E. coli* esetében a szerzett AmpC és a konstitutívan túltermelő kromozómális AmpC megkülönböztetésére.

A szerzett AmpC-típusú β -laktamáz gének jelenléte igazolható PCR alapú módszerekkel [15, 16], vagy DNS microarray alapú módszerrel (Check-Points) [17].

1. táblázat. Az AmpC-termelést megerősítő vizsgálatok minőségellenőrzésére alkalmas kontroll törzsek.

Törzs	Mechanizmus
<i>Escherichia coli</i> CCUG 58543	Szerzett CMY-2 AmpC
<i>Escherichia coli</i> CCUG62975	CTX-M-1 csoportba tartozó ESBL és CMY-típusú szerzett AmpC
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	Szerzett AmpC-negatív

4.5 Referenciák

- Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2009;22:161-82
- Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46:1-11

3. Beceiro A, Bou G. Class C β -lactamases: an increasing problem worldwide. *Rev Med Microbiol.* 2004;15:141-152
4. Empel J, Hrabák J, Kozioska A, Bergerová T, Urbášková P, Kern-Zdanowicz I, Gniadkowski M. DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in a teaching hospital in the Czech Republic. *Microb Drug Resist.* 2010;16:291-295
5. D'Andrea MM, Literacka E, Zioga A, Giani T, Baraniak A, Fiett J, Sadowy E, Tassios PT, Rossolini GM, Gniadkowski M, Miriagou V. Evolution of a multi-drug-resistant *Proteus mirabilis* clone with chromosomal AmpC-type cephalosporinases spreading in Europe. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:2735-2742
6. Bauernfeind A, Schneider I, Jungwirth R, Sahly H, Ullmann U. A novel type of AmpC β -lactamase, ACC-1, produced by a *Klebsiella pneumoniae* strain causing nosocomial pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:1924-31.
7. Edquist P, Ringman M, Liljequist BO, Wisell KT, Giske CG. Phenotypic detection of plasmid-acquired AmpC in *Escherichia coli*-evaluation of screening criteria and performance of two commercial methods for the phenotypic confirmation of AmpC production. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2013; 32:1205-10
8. Yagi T, Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K et al. Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol.* 2005;43:2551-8.
9. Tenover FC, Emery SL, Spiegel CA, Bradford PA, Eells S et al. Identification of plasmid-mediated AmpC β -lactamases in *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., and *Proteus* spp. can potentially improve reporting of cephalosporin susceptibility testing results. *J Clin Microbiol.* 2009;47:294-9.
10. Tan TY, Ng LS, He J, Koh TH, Hsu LY. Evaluation of screening methods to detect plasmid-mediated AmpC in *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:146-9
11. Halstead FD, Vanstone GL, Balakrishnan I. An evaluation of the Mast D69C AmpC Detection Disc Set for the detection of inducible and derepressed AmpC β -lactamases. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:2303-4.
12. Ingram PR, Inglis TJ, Vanzetti TR, Henderson BA, Harnett GB, Murray RJ. Comparison of methods for AmpC β -lactamase detection in Enterobacteriaceae. *J Med Microbiol.* 2011; 60(Pt 6):715-21.
13. Peter-Getzlaff S, Polsfuss S, Poledica M, Hombach M, Giger J et al. Detection of AmpC β -lactamase in *Escherichia coli*: comparison of three phenotypic confirmation assays and genetic analysis. *J Clin Microbiol.* 2011;49:2924-32.
14. Hansen F, Hammerum AM, Skov RL, Giske CG, Sundsfjord A, Samuelsen O. Evaluation of ROSCO Neo-Sensitabs for phenotypic detection and subgrouping of ESBL-, AmpC- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *APMIS.* 2012;120:724-32.
15. Pérez-Pérez FJ, Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* 2002;40:2153-62.
16. Brolund A, Wisell KT, Edquist PJ, Elfström L, Walder M, Giske CG. Development of a real-time SYBRGreen PCR assay for rapid detection of acquired AmpC in Enterobacteriaceae. *J Microbiol Methods.* 2010; 82:229-33.
17. Cuzon G, Naas T, Bogaerts P, Glupczynski Y, Nordmann P. Evaluation of a DNA microarray for the rapid detection of extended-spectrum β -lactamases (TEM, SHV and CTX-M), plasmid-mediated cephalosporinases (CMY-2-like, DHA, FOX, ACC-1, ACT/MIR and CMY-1-like/MOX) and carbapenemases (KPC, OXA-48, VIM, IMP and NDM). *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:1865-9.

5. Methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA)

A rezisztencia detektálásának jelentősége	
Az antibiotikum érzékenység interpretálásához szükséges	Igen
Infekciókontroll	Igen
Közegészségügy	Igen

5.1 Definíció

Azok az *S. aureus* izolátumok, amelyek rendelkeznek egy járulékos penicillin-kötő fehérjével (PBP2a vagy a mostanában felfedezett *mecC* által kódolt módosult PBP2). Ezeknek a PBP-éknek alacsony az affinitása β -laktámokkal szemben (kivéve a cefalosporinok új, MRSA ellenes aktivitással rendelkező osztályát).

5.2 Klinikai és/vagy epidemiológiai jelentőség

Világszerte a methicillin rezisztens *S. aureus* a morbiditás és a mortalitás egyik fő oka [1,2]. Az MRSA okozta véráramfertőzések mortalitása kétszerese a methicillin érzékeny törzsek által okozott hasonló infekcióknak, ez köszönhető a kései adekvát terápiának és a rosszul megválasztott terápiás protokollnak [3]. Az MRSA fertőzések endemiásak mind a kórházakban, mind a területen a világ minden részén.

5.3 Rezisztencia mechanizmusok

A legfőbb rezisztencia mechanizmus egy járulékos penicillin-kötő fehérje termelése: a PBP2a vagy a mostanában felfedezett *mecC* által kódolt módosult PBP, amelyek az izolátumot rezisztenssé teszik minden β -laktámmal szemben, kivéve a cefalosporinok új osztályát, amelyeknek elég magas az affinitása a PBP2a-hoz és valószínűleg a *mecC* által kódolt módosult PBP-hez is, így hatásosak az MRSA ellen [4]. A járulékos PBP-eket a *mecA* gén és a mostanában leírt *mecC* (korábban *mecA*_{LGA251}-ként ismert) gének kódolják [5]. A *S. aureus* törzsekben a *mec* szerzett elem, és nincs jelen a methicillin érzékeny *S. aureus* törzsekben. Azoknál a törzseknél, ahol a *mecA* gén expressziója heterogén és gyakran alacsony oxacillin MIC értékkel rendelkeznek, nehézségekbe ütközik az érzékenység pontos meghatározása [5]. Továbbá vannak alacsony szintű oxacillin rezisztenciájú izolátumok, melyek *mecA* és *mecC* negatívak és nem termelnek módosult PBP-eket [„borderline” rezisztens *S. aureus* (BORSA)]. Ezek a törzsek viszonylag ritkán fordulnak elő és a rezisztencia mechanizmusa kevésbé ismert, de szerepet játszhat benne a β -laktamázok túltermelése vagy a már létező PBP-k módosulása.

5.4 Ajánlott módszerek a methicillin rezisztencia kimutatására *S. aureus* esetén

A methicillin/oxacillin rezisztencia kimutatható mind fenotípusosan MIC érték meghatározással, korongdiffúzióval vagy a PBP2a kimutatásával, latex agglutinációval, mind genotípusosan PCR-rel.

5.4.1 Kimutatás MIC érték meghatározással vagy korongdiffúzióval

A rezisztencia heterogén expresszója különösen befolyásolja az oxacillin MIC értéket. A cefoxitin igen érzékeny és specifikus markere a *mecA/mecC* által közvetített methicillin rezisztenciának, és a választandó hatóanyag a korongdiffúzió során. Az oxacillin korongdiffúziós vizsgálata nem javasolt, és az EUCAST breakpoint táblázata nem tartalmaz interpretációs zóna átmérőket, mert az gyengén korrelál a *mecA* gén jelenlétével. Emelkedett oxacillin MIC értékű (MIC >2 mg/L) törzsek, melyek cefoxitin érzékenyek (gátlási zóna átmérő ≥ 22 mm, MIC ≤ 4 mg/L) ritkán fordulnak elő. Amennyiben az oxacillint vizsgálják és értékelése a cefoxitinétól eltér, azt az alábbiak szerint kell interpretálni. Az ilyen törzseket ajánlott fenotípusos vagy genotípusos vizsgálatoknak alávetni a *mecA* vagy *mecC* kimutatásának irányában.

1. táblázat. Az eredmények interpretálása eltérő oxacillin és cefoxitin eredmények esetén

		Cefoxitin eredmény MIC érték meghatározással vagy korongdiffúzióval	
		É	R
Oxacillin eredmény MIC érték meghatározással	É	Oxacillin érzékeny	Oxacillin rezisztens
	R	Oxacillin rezisztens	Oxacillin rezisztens

A. Mikro leveshígítási módszer: A standard módszer (ISO 20776-1) alapján végzett vizsgálat. A >4 mg/L cefoxitin MIC érték esetén a törzseket methicillin rezisztensnek kell tekinteni.

B. Korongdiffúziós módszer: Az EUCAST korongdiffúziós módszere alapján végzett vizsgálat. A törzseket a cefoxitin (30 μ g) <22 mm gátlási zóna átmérő esetén methicillin rezisztensnek kell tekinteni.

5.4.2 Kimutatás genotípusos vagy latex agglutinációs módszerekkel

A *mecA* gén genotípusos detektálására PCR alapú módszerek, illetve a PBP2a fehérje kimutatására latex agglutinációs tesztek használhatóak, melyek lehetnek kereskedelmi vagy házi fejlesztésű tesztek. Azonban a *mecC*-t és az általa kódolt PBP-t jelenleg nem lehet kimutatni kereskedelmi forgalomban lévő genotípusos és fenotípusos módszerekkel. A *mecC* kimutatásához szükséges primereket és módszereket mostanában írták le [7,8].

5.4.3 Kontroll törzsek

A methicillin érzékenység vizsgálatához ajánlott kontroll törzsek listája a 2. táblázatban látható.

2. táblázat. A methicillin érzékenységi vizsgálatok minőségellenőrzésére alkalmas kontroll törzsek.

Törzs	Mechanizmus
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Methicillin érzékeny
<i>S. aureus</i> NCTC 12493	Methicillin rezisztens (<i>mecA</i>)
<i>S. aureus</i> NCTC 13552	Methicillin rezisztens (<i>mecC</i>)

5.5 Irodalomjegyzék

1. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2003;36:53-9.
2. de Kraker ME, Wolkewitz M, Davey PG, Koller W, Berger J, et al. Clinical impact of antimicrobial resistance in European hospitals: excess mortality and length of hospital stay related to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:1598-605.
3. de Kraker ME, Davey PG, Grundmann H; BURDEN study group. Mortality and hospital stay associated with resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteremia: estimating the burden of antibiotic resistance in Europe. *PLoS Med.* 2011;8(10):e1001104.
4. Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7:629-41.
5. García-Álvarez L, Holden MT, Lindsay H, Webb CR, Brown DF, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2011;11:595-603
6. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10:781-91.
7. Stegger M, Andersen PS, Kearns A, Pichon B, Holmes MA, Edwards G, Laurent F, Teale C, Skov R, Larsen AR. Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecALGA251*. *Clin Microbiol Infect.* 2012; 4:395-400.
8. Pichon B, Hill R, Laurent F, Larsen AR, Skov RL, Holmes M, Edwards GF, Teale C, Kearns AM. Development of a real-time quadruplex PCR assay for simultaneous detection of *nuc*, Panton-Valentine leucocidin (PVL), *mecA* and homologue *mecALGA251*. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67:2338-41.

6. Glikopeptid nem-érzékeny *Staphylococcus aureus*

A rezisztencia detektálásának jelentősége	
Az antibiotikum érzékenység interpretálásához szükséges	Igen
Infekciókontroll	Igen
Közegészségügy	Igen

6.1 Definíció

Az EUCAST klinikai breakpoint meghatározása szerint vancomycin rezisztens *S. aureus* törzsről beszélünk, ha a MIC érték > 2 mg/L. Az elmúlt években csökkentették a vancomycin breakpointokat, amivel megszűnt a korábbi mérsékelt érzékeny kategória. Azonban fontos különbség van a rezisztencia mechanizmust illetően a VanA mediálta magas szintű glikopeptid rezisztenciával bíró *S. aureus* (GRSA), illetve a nem *vanA*-t hordozó alacsony szintű rezisztenciával rendelkező izolátumok között. Ennek következtében a vancomycinnel szemben nem VanA-alapú, alacsony szintű rezisztenciával rendelkező izolátumok megjelölésére továbbra is használatosak a glikopeptidre mérsékelt érzékeny *S. aureus* (GISA), illetve a glikopeptidre mérsékelt szintű heterorezisztenciát mutató *S. aureus* (hGISA) elnevezések. A MIC értéket minden esetben meg kell határozni, ha súlyos *S. aureus* fertőzésben szenvedő beteget vancomycinnel kezelnek. Bizonyos esetekben, például amikor terápiás kudarc gyanúja merül fel, hGISA irányában végzett vizsgálat is indokolt lehet. A hGISA megerősítését célzó vizsgálatok komplexitása miatt az antibiotikum surveillance fókuszában a GISA és GRSA törzsek detektálása áll.

GRSA: Glikopeptid rezisztens *S. aureus*:

Magas szintű vancomycin rezisztenciával (MIC érték > 8 mg/L) rendelkező *S. aureus* izolátumok.

GISA: Glikopeptidre mérsékelt érzékeny *S. aureus*:

Alacsony szintű vancomycin rezisztenciával (MIC érték 4 - 8 mg/L) rendelkező *S. aureus* izolátumok.

hGISA: Glikopeptidre mérsékelt szintű heterorezisztenciát mutató *S. aureus*:

Vancomycinre érzékeny (MIC érték ≤ 2 mg/L) *S. aureus* törzsek, amelyeknél populáció analízis profil vizsgálattal > 2 mg/L vancomycin MIC értékkel rendelkező szubpopuláció (10^6 -ból egy) detektálható.

6.2 Klinikai és/vagy epidemiológiai jelentőség

Nem rendelkezünk naprakész adatokkal a csökkent glikopeptid érzékenység előfordulásáról Európában. Egy-egy intézetben készített vizsgálat alapján a

hGISA prevalencia $\leq 2\%$ -ra becsülhető az MRSA törzsek között Európában, GISA előfordulása $0,1\%$ -ra tehető [1]. GRSA-t nem jelentettek még Európában, és jelenleg extrém ritka világszerte [1]. A hGISA prevalencia jelentősen megemelkedhet helyileg [1], gyakran egy-egy meghatározott klón terjedésével összefüggésben [2]. Majdnem valamennyi emelkedett MIC értékkel (GISA), vagy rezisztens szubpopulációval (hGISA) rendelkező izolátum MRSA törzs.

A hGISA klinikai jelentőségét nehéz meghatározni, mivel nem végeztek ezidáig megfelelő kontroll mellett prospektív vizsgálatokat. Mindazonáltal a hGISA fenotípus jelenléte gyakrabban hozható összefüggésbe a terápia sikertelenségével, legalábbis súlyos fertőzésben [1, 2]. Ezért érdemes hGISA irányában vizsgálatokat végezni, ha a véráramfertőzés nem reagál a kezelésre. Egyre több adat utal arra, hogy az érzékeny MIC tartomány magasabb értékei ($\text{MIC} > 1 \text{ mg/L}$) esetén gyakoribb a sikertelen terápia, illetve nő a mortalitás, legalábbis véráramfertőzés esetén [2-7]. Még nem világos, hogy a rosszabb kimenetel oka a rezisztens szubpopuláció jelenléte, vagy pedig az ezeknél a törzseknél megfigyelt kissé emelkedett vancomycin MIC érték.

A hGISA mechanizmusa összetett, detektálásának alapja a populációanalízis [8], ami nehézkes, speciális felszerelést és magas fokú technikai hozzáértést igényel. A hGISA detektálásának módszere röviden bemutatásra kerül, azonban surveillance céljából csak a GISA és a GRSA törzseket kell bejelenteni, amelyek közös meghatározása a $>2 \text{ mg/L}$ MIC értékkel rendelkező izolátumok.

6.3 Rezisztencia mechanizmusok

GRSA esetében a rezisztenciát az enterococcusoktól exogén úton szerzett *vanA* operon kódolja. GISA és hGISA törzsek esetében a rezisztencia endogén (azaz kromozómális mutációk által okozott), mechanizmusa rendkívül összetett, nem egyetlen gén okozza. GISA/hGISA fenotípus esetén a baktérium sejtfala megvastagszik, a glikopeptid kötőhelyek túltermelődnek. A hGISA fenotípus gyakran instabil a laboratóriumban, azonban *in vivo* a hGISA törzsek hajlamosak GISA-vá alakulni [1].

6.4 A glikopeptid nem-érzékeny *S. aureus* detektálására ajánlott módszerek

6.4.1 MIC érték meghatározás

A gold standard az EUCAST által javasolt mikrodilúciós módszer (a 20776-1 számú ISO szabványnak megfelelően végezve), de a MIC meghatározható gradiens csík módszerrel, agardilúcióval, vagy automata rendszerek segítségével is. Meg kell jegyezni, hogy a gradiens tesztsíkkal $0,5\text{-}1$ felező hígítással magasabb MIC értékeket lehet kapni, mint mikro leveshígításos módszerrel [7]. *S. aureus* esetén a vancomycin rezisztencia breakpoint-ja az EUCAST szerint

MIC >2 mg/L. A megerősítetten >2 mg/L MIC értékkel (mikro levesthígítás alapján) rendelkező izolátumokat referencia laboratóriumba kell küldeni. hGISA törzs nem detektálható MIC meghatározással.

6.4.2 GRSA, GISA és hGISA detektálási módszer

A hGISA törzsek detektálása nehézkesnek bizonyult, ezért a detektálás lépéseihez tartozik egy szűrő módszer és egy megerősítő módszer. Szűrésre több specializált módszer áll rendelkezésre. Megerősítésre az izolátum többféle vancomycin koncentrációt tartalmazó agar lemez sorozaton végzett populációs profil analízise alkalmas (PAP-AUC) [8]. Ez a módszer technikailag kihívást jelenthet a nem kellő tapasztalattal rendelkező vizsgáló számára, ezért leginkább referencia laboratórium feladata. Egy vancomycint és kazeint tartalmazó szűrő agaron alapuló módszer [9] magas szenzitivitással és specificitással rendelkezik, azonban még csupán egyetlen vizsgálatban került értékelésre, ezért nem került leírásra jelen dokumentumban. A következő módszerek mindegyike alkalmas GRSA és GISA törzsek detektálására, és több centrumot érintő vizsgálatban kerültek értékelésre [10].

A. Makro E-teszt:

A teszt kimutatja a csökkent vancomycin érzékenységet, azonban az eredmények nem azonosak a MIC értékekkel. Továbbá a teszt nem különbözteti meg a hGISA, GISA, illetve GRSA törzseket. A tesztet a gyártó utasításai szerint kell végezni. Az inokulum magasabb (2,0 McFarland), mint a standard gradiens tesztek esetében. A teszt pozitív, ha mind a vancomycinre, mind a teicoplaninra kapott érték ≥ 8 mg/L, VAGY ha a teicoplaninra kapott érték ≥ 12 mg/L.

Mivel mindkét kritérium tartalmazza a teicoplanint, a vancomycin vizsgálata függhet a teicoplanin teszt eredményétől. Az algoritmus ezek alapján:

- Teicoplanin eredmény ≥ 12 mg/L: GRSA, GISA, vagy hGISA
- Teicoplanin eredmény 8 mg/L: vancomycin teszt elvégzése. Ha a vancomycin teszt eredménye ≥ 8 mg/L, a törzs GRSA, GISA, vagy hGISA
- Teicoplanin eredmény < 8 mg/L: Nem GRSA, GISA, vagy hGISA

B. Glikopeptid rezisztencia detektálása (GRD) gradiens teszttel:

A tesztet a gyártó utasításainak megfelelően kell végezni. A teszt pozitív, ha a GRD csík eredménye ≥ 8 mg/L akár vancomycinre, akár teicoplaninra.

C. Teicoplanin screen agar:

5 mg/L teicoplanint tartalmazó Mueller Hinton agarlemezt kell használni [10]. Több teleppel 0,9% fiziológiás sóoldatban 2,0 McFarland turbiditású szuszpenziót készítünk. Tíz mikroliter inokulumot viszünk fel az agar egy

pontjára, majd a lemezt 35°C-on, normál légkörben inkubáljuk 24-48 órán keresztül. Több mint két telep megjelenése 48 óra után csökkent glikopeptid érzékenységre utal. (Ez a szűrőlemez az Országos Epidemiológiai Központ Táptalajkészítő Egységétől rendelhető)

D. Megerősítő vizsgálat hGISA/GISA esetén:

Az az izolátum, amely csökkent érzékenységet mutat, és nem lehet GRSA-ként vagy GISA-ként azonosítani MIC meghatározással, lehetséges hGISA törzs, és populáció analízis profil – görbe alatti terület (PAP-AUC) [8] vizsgálattal lehet tovább tipizálni, gyakran referencia laboratóriumba való továbbítással.

(A Mikrobiológiai Körlevél IX. évfolyam 1. számában olvasható "A methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* glikopeptid érzékenységének vizsgálata" ajánlásban megfogalmazottak azon részei, amivel az EUCAST ajánlása külön nem foglalkozik, továbbra is érvényben maradnak.)

6.4.3 Kontroll törzsek

A glikopeptid érzékenység vizsgálatához ajánlott kontroll törzsek listája a 2. táblázatban látható.

2. táblázat. A glikopeptid érzékenységi vizsgálatok minőségellenőrzésére alkalmas kontroll törzsek.

Törzs	Mechanizmus
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Glikopeptid érzékeny
<i>S. aureus</i> ATCC 700698	hGISA (Mu3)
<i>S. aureus</i> ATCC 700699	GISA (Mu50)

6.5 Irodalomjegyzék

1. Howden BP, Davies JK, Johnson PDR, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection and clinical implications. Clin Microbiol Rev 2010;1: 99-139
2. Van Hal SJ, Lodise TP, Paterson DL. The clinical significance of vancomycin minimum inhibitory concentration in *Staphylococcus aureus* infections: a systematic review and meta-analysis. Clinical Infectious Diseases 2012; 54: 755-771.
3. Chang HJ, Hsu PC, Yang CC, Siu LK, Kuo AJ, et al. Influence of teicoplanin MICs on treatment outcomes among patients with teicoplanin-treated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a hospital based retrospective study. J. Antimicrob Chemother 2012, 67:736-41.
4. Honda H, Doern CD, Michael-Dunne W Jr, Warren DK. The impact of vancomycin susceptibility on treatment outcomes among patients with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. BMC Infect Dis. 2011; 5:11:335.
5. Lodise TP, Graves J, Evans A, Graffunder E, Helmecke M, et al. Relationship between vancomycin MIC and failure among patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia treated with vancomycin. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 3315-20
6. Rojas L, Bunsow E, Munoz P, Cercenado E, Rodrigueuz-Creixems, Bouza E. Vancomycin MICs do not predict the outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in correctly treated patients. J. Antimicrob Chemother 2012; 7: 1760-8.

7. Sader HS, Jones RN, Rossi KL, Rybak MJ. Occurrence of vancomycin tolerant and heterogeneous vancomycin resistant strains (hVISA) among *Staphylococcus aureus* causing bloodstream infections in nine USA hospitals. *Antimicrob Chemother.* 2009; 64: 1024-8.
8. Wootton M, Howe RA, Hillman R, Walsh TR, Bennett PM, MacGowan AP. A modified population analysis profile (PAP) method to detect hetero-resistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* in a UK hospital. *J Antimicrob Chemother.* 2001; 47: 399-403
9. Satola SW, Farley MM, Anderson KF, Patel JB. Comparison of Detection Methods for Heteroresistant Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*, with the Population Analysis Profile Method as the Reference Method. *J Clin Microbiol.* 2011; 49: 177–183.
10. Wootton M, MacGowan AP, Walsh TR, Howe RA. A multicenter study evaluating the current strategies for isolating *Staphylococcus aureus* strains with reduced susceptibility to glycopeptides. *J Clin Microbiol.* 2007;45:329-32.

7. Vancomycin-rezisztens *Enterococcus faecium* és *Enterococcus faecalis*

A rezisztencia detektálásának jelentősége	
Az antibiotikum érzékenység interpretálásához szükséges	Igen
Infekciókontroll	Igen
Közegészségügy	Igen

7.1 Definíció

VRE minden olyan *Enterococcus faecium* és *Enterococcus faecalis* izolátum, amely rezisztens vancomycinnel szemben (vancomycin MIC > 4 mg/L).

7.2 Klinikai és/vagy epidemiológiai jelentősége

Az enterococcusok, különösen az *E. faecium*, rezisztensek a klinikai gyakorlatban alkalmazott antibiotikumok többségére. A vancomycin rezisztens enterococcusok (VRE) által okozott fertőzések kezelése pedig különösen nehéz a kevés kezelési lehetőség miatt. A VRE-ről jól ismert, hogy kórházi környezetben könnyen terjed, és sokáig fennmarad, sok beteget kolonizálhat, azonban csak kevés esetben okoz megbetegedést [6, 7]. A *vanB* gént hordozó izolátumok általában fenotípusosan érzékenyek teicoplaninra. Két esetleírásban számolnak be teicoplanin rezisztencia kialakulásáról *vanB*-t hordozó enterococcus okozta fertőzés kezelése közben [8, 9]. Kezelési sikertelenségről szóló leírások azonban ritkák, és az EUCAST jelenlegi ajánlása szerint a teicoplanin érzékenységet a leolvasásnak megfelelően kell kiadni. A klinikai gyakorlatban legfontosabb Van-típusokhoz tartozó MIC értékek az 1. táblázatban láthatóak.

1. táblázat. Tipikus glikopeptid MIC értékek VanA, illetve VanB típusú rezisztenciát hordozó enterococcusok esetén.

Glikopeptid	MIC érték (mg/L)	
	VanA	VanB
Vancomycin	64 - 1024	4 - 1024
Teicoplanin	8 - 512	0.06 - 1

7.3 Rezisztencia mechanizmusok

A klinikailag releváns rezisztenciáért a leggyakrabban plazmidon kódolt VanA és VanB-típusú operonok felelősek, amelyek a peptidoglikán felépítése során a pentapeptid oldalláncok terminális D-alanin helyére D-laktátot építenek be. Ez a változás csökkenti a glikopeptidek kötődési képességét a célmolekulához. A VanA-típusú törzsek vancomycinnel és teicoplaninnal szemben is rezisztensek,

míg a VanB-típusú törzsek általában érzékenyek maradnak teicoplanin iránt, mert a rezisztenciáért felelős okozó operonon kódolt enzimek kifejeződését ez az antibiotikum nem indukálja. Léteznek más, ritka Van-típusok is, mint a VanD, VanE, VanG, VanL, VanM és VanN [1-4].

Más enterococcus fajok (pl.: *E. raffinosus*, *E. gallinarum* és *E. casseliflavus*), hordozhatnak *vanA*, *vanB* vagy más, korábban említett *van* géneket, de ezek viszonylag ritkán fordulnak elő. Kromoszómán kódolt VanC enzimek megtalálhatóak minden *E. gallinarum* és *E. casseliflavus* izolátumban. A VanC jelenléte alacsony szintű vancomycin rezisztenciát (MIC 4-16 mg/L) okoz, de ennek járványügyi jelentősége csekély [5].

7.4 A glikopeptid rezisztencia detektálására ajánlott módszerek *E. faecium* és *E. faecalis* esetén

A vancomycin rezisztencia detektálható MIC érték meghatározással, korongdiffúzióval és szűrőlemez módszerrel. Mindhárom módszer esetében fontos, hogy az inkubáció hossza teljes 24 óra legyen az indukálható rezisztencia biztos kimutatása érdekében.

Mindhárom módszerrel könnyedén kimutatható a VanA-típusú rezisztencia, azonban a VanB-típusú rezisztencia kimutatása nagyobb kihívást jelent. A MIC érték meghatározás agar vagy leveshígítással nagyon pontos, azonban a rutin munka során alig használt technika [10, 11]. Régebbi vizsgálatok alapján a VanB-típusú rezisztencia detektálása gondot jelent automata módszerek esetén [12]. Azóta továbbfejlesztették ezeket az automatizált érzékenységi vizsgálatokat, azonban nincsenek újabb adatok arra vonatkozóan, hogy javult-e a módszerek VanB-típusú rezisztenciára vonatkozó detektálási képessége. A korongdiffúziós vizsgálat (5 µg-os vancomycin korong) értékelése nehézkes lehet, de az EUCAST irányelveinek precíz követésével ezek a tesztek jó eredményt adnak (az EUCAST referencia laboratórium nem publikált adatai alapján).

A MIC vagy korongdiffúziós vizsgálat eredményeinek értékelésekor fontos megbizonyosodni arról, hogy az izolátum nem *E. gallinarum* vagy *E. casseliflavus*, amelyeket tévesen *E. faecium*-nak vélhetünk pozitív arabinóz teszt alapján. Az MGP (metil-alfa-D-glukopiranozid) teszt vagy a mozgásképesség vizsgálat alkalmas az *E. gallinarum*/*E. casseliflavus* *E. faecium*-tól való elkülönítésére (MGP negatív és nem mozog). MALDI-TOF tömegspektrometriás módszer is használható az enterococcusok identifikálására [13].

7.4.1 MIC érték meghatározás

MIC érték meghatározás történhet agardilúcióval, mikro leveshígítással vagy gradiens MIC módszerrel.

Az EUCAST ajánlása alapján a mikro leveshígítást az ISO 20766-1 standard szerint kell kivitelezni. A gradiens MIC teszteket pedig a gyártó leírása alapján kell elvégezni.

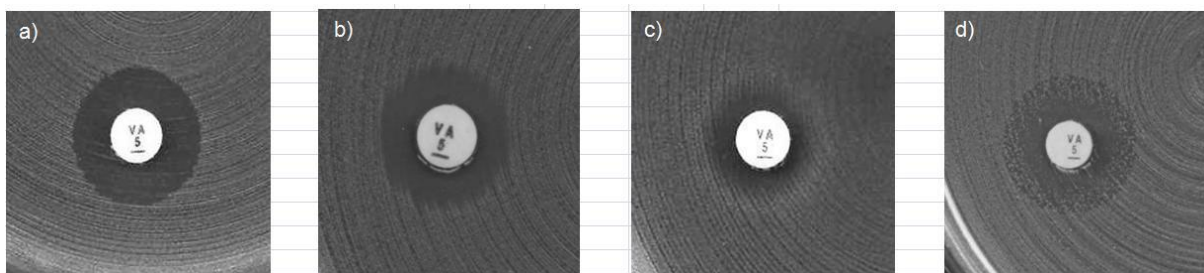
Meg kell jegyezni, hogy vannak olyan módszerek, amikor a gradiens MIC tesztsíkok használatakor sűrűbb baktérium szuszpenziót (2.0 McFarland értékkel) vagy tápanyagban gazdag médiumot (Brain Heart Infusion agar) kell használni a **vancomycin rezisztencia szűrésére**, azonban az ilyen vizsgálatok nem MIC értéket adnak.

7.4.2 Korongdiffúziós vizsgálat

Korongdiffúziós vizsgálat esetén szigorúan be kell tartani az EUCAST által meghatározott módszert. Fontos, hogy áteső fényben vizsgáljuk meg a zónahatár élességét és/vagy mikrokolóniák meglétét. Éles zónahatár az izolátum érzékenységét jelzi. Ha a zónahatár éles, valamint a gátlási zóna átmérője nagyobb, mint a megadott határérték, akkor az izolátum vancomycin érzékenynek interpretálható. Ha a gátlási zóna határa elmosódott, vagy benövés látható (1. ábra), az izolátum a zónaátmérőtől függetlenül rezisztens lehet, és nem szabad érzékenyként kiadni MIC érték meghatározás nélkül.

- A korongdiffúziós vizsgálatnál az EUCAST nem-igényes baktériumokra kidolgozott korongdiffúziós módszerét kell alkalmazni. Teljes 24 órás inkubáció szükséges ahhoz, hogy az esetleges indukálható rezisztencia is kimutatható legyen.

1. ábra. A vancomycin korongdiffúziós teszt értékelése *Enterococcus* spp. esetében.



a) A gátlási zóna átmérője ≥ 12 mm és éles a határa: az izolátum érzékeny vancomycinnel szemben.

b-d) Elmosódott zóna, és/vagy benövés a gátlási zónában. Zónaátmérőtől függetlenül rezisztensnek értékelendő.

7.4.3 Szűrőlemezek

Szűrőlemezként 6 mg/L vancomycin tartalmú Brain Heart Infusion agar megbízhatóan használható a *vanA*- és a *vanB*-pozitív izolátumok kimutatására. A szűrőlemezek beszerezhetőek kereskedelmi forgalomban, vagy házilag is készíthetők. A vizsgálat kivételezéséhez 1×10^5 - 1×10^6 CFU (10 µl 0,5 McFarland-es szuszpenzió) baktériumot vigyünk fel 6 mg/L vancomycin tartalmú Brain Heart Infusion agarlemezre. $35 \pm 1^\circ\text{C}$ hőmérsékleten normál légtérben történő 24 órányi inkubáció szükséges ahhoz, hogy az indukálható rezisztencia is kimutatható legyen. Több mint egy telep növekedése esetén a teszt pozitív.

7.4.4 Genotipizálás

A *vanA* és *vanB* gének kimutatása történhet kereskedelmi forgalomban kapható illetve házi készítésű PCR tesztekkel is [14-16].

7.4.5 Kontroll törzsek

A glikopeptid érzékenység vizsgálatára ajánlott kontroll törzsek listája a 2. táblázatban látható.

2. táblázat. A glikopeptid érzékenységi vizsgálatok minőségellenőrzésére alkalmas kontroll törzsek.

Törzs	Mechanizmus
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	Vancomycin érzékeny
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	Vancomycin rezisztens (<i>vanB</i>)
<i>E. faecium</i> NCTC 12202	Vancomycin rezisztens (<i>vanA</i>)

7.5 Irodalomjegyzék

1. Depardieu F, Perichon B, Courvalin P. Detection of the van alphabet and identification of enterococci and staphylococci at the species level by multiplex PCR. J Clin Microbiol. 2004;42:5857-60.
2. Boyd DA, Willey BM, Fawcett D, Gillani N, Mulvey MR. Molecular characterization of Enterococcus faecalis N06-0364 with low-level vancomycin resistance harboring a novel D-Ala-D-Ser gene cluster, vanL. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52:2667-72.
3. Xu X, Lin D, Yan G, Ye X, Wu S, Guo Y, Zhu D, Hu F, Zhang Y, Wang F, Jacoby GA, Wang M. vanM, a new glycopeptide resistance gene cluster found in Enterococcus faecium. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54:4643-7.
4. Lebreton F, Depardieu F, Bourdon N, Fines-Guyon M, Berger P, Camiade S, Leclercq R, Courvalin P, Cattoir V. D-Ala-d-Ser VanN-type transferable vancomycin resistance in Enterococcus faecium. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(10):4606-12.
5. Ramotar K, Woods W, Larocque L, Toye B. Comparison of phenotypic methods to identify enterococci intrinsically resistant to vancomycin (VanC VRE). Diagn Microbiol Infect Dis. 2000;36:119-24.
6. Mazuski JE. Vancomycin-resistant enterococcus: risk factors, surveillance, infections, and treatment. Surg Infect. 2008;9:567-71.
7. Tenover FC, McDonald LC. Vancomycin-resistant staphylococci and enterococci: epidemiology and control. Curr Opin Infect Dis. 2005;18:300-5.
8. Hayden MK, Trenholme GM, Schultz JE, Sahm DF. In vivo development of teicoplanin resistance in a VanB Enterococcus faecium isolate. J Infect Dis. 1993;167:1224-7.

9. Kawalec M, Gniadkowski M, Kedzierska J, Skotnicki A, Fielt J, Hryniewicz W. Selection of a teicoplanin-resistant *Enterococcus faecium* mutant during an outbreak caused by vancomycin-resistant enterococci with the vanB phenotype. *J Clin Microbiol.* 2001;39:4274-82.
 10. Swenson JM, Clark NC, Sahm DF, Ferraro MJ, Doern G, Hindler J, Jorgensen JH, Pfaller MA, Reller LB, Weinstein MP, et al. Molecular characterization and multilaboratory evaluation of *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 for quality control of screening tests for vancomycin and high-level aminoglycoside resistance in enterococci. *J Clin Microbiol.* 1995;33:3019-21.
 11. Klare I, Fleige C, Geringer U, Witte W, Werner G. Performance of three chromogenic VRE screening agars, two Etest vancomycin protocols, and different microdilution methods in detecting vanB genotype *Enterococcus faecium* with varying vancomycin MICs. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;74:171-6.
 12. Endtz HP, Van Den Braak N, Van Belkum A, Goossens WH, Kreft D, Stroebel AB, Verbrugh HA. Comparison of eight methods to detect vancomycin resistance in enterococci. *J Clin Microbiol.* 1998;36:592-4.
 13. Fang H, Ohlsson AK, Ullberg M, Özenci V. Evaluation of species-specific PCR, Bruker MS, VITEK MS and the VITEK2 system for the identification of clinical *Enterococcus* isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012; 31: 3073-7
- Page 35 of 40
14. Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol.* 1995;33:1434.
 15. Dahl KH, Simonsen GS, Olsvik O, Sundsfjord A. Heterogeneity in the vanB gene cluster of genomically diverse clinical strains of vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999;43:1105-10.
 16. Gazin M, Lammens C, Goossens H, Malhotra-Kumar S; MOSAR WP2 Study Team. Evaluation of GeneOhm VanR and Xpert vanA/vanB molecular assays for the rapid detection of vancomycin-resistant enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31:273-6.

8. Penicillinre nem érzékeny *Streptococcus pneumoniae*

A rezisztencia detektálásának jelentősége	
Az antibiotikum érzékenység interpretálásához szükséges	Igen
Infekciókontroll	Nem
Közegészségügy	Igen

8.1 Definíció

A β -laktámok iránt csökkent affinitással rendelkező módosult penicillin-kötő fehérjék (PBP-k) jelenléte következtében csökkent penicillin érzékenységgel (a MIC értéke meghaladja a vad típusnál mértet, azaz $>0,06$ mg/L) rendelkező *S. pneumoniae* izolátumok.

8.2 Klinikai és/vagy epidemiológiai jelentősége

A *S. pneumoniae* a tüdőgyulladás leggyakoribb kórokozója világszerte. Morbiditása, mortalitása magas, becslések szerint évente három millió ember halálát okozza pneumococcus fertőzés. Az alacsony szintű penicillin rezisztencia megnövekedett mortalitással hozható összefüggésbe penicillinnel kezelt meningitis esetén. Más típusú fertőzésekben nem figyelhető meg magasabb mortalitás alacsony szintű rezisztencia esetén, amennyiben magasabb dózisban adagolják a szert. Sok országban folytatnak vakcinációs programot számos pneumococcus szerotípus ellen, ami szintén befolyásolhatja az invazív izolátumok rezisztenciáját [1]. Mindazonáltal, a penicillinre nem érzékeny *S. pneumoniae* törzsek jelentős klinikai problémát jelentenek közegészségügyi szempontból, habár ezek a mikroorganizmusok nem terjednek egészségügyi intézményekben, sok más, ebben a dokumentumban leírt patogénnel szemben.

8.3 Rezisztencia mechanizmusok

A *S. pneumoniae* hat PBP-t tartalmaz, amelyek közül a PBP2x a penicillin elsődleges célmolekulája [2]. Az alacsony affinitású PBP-eket kódoló „mozaik gének” kommenzális viridans streptococcusoktól származnak horizontális géntranszfer útján [2]. A β -laktám rezisztencia szintje nem csak az izolátumban jelenlévő alacsony affinitású mozaik PBP-ktől függ, hanem a *S. pneumoniae* számára nélkülözhetetlen specifikus PBP-k módosulásától is [3]. Nem meningitises infekcióban, ha az izolátum benzylpenicillin MIC értéke 0,12 és 2 mg/L közötti, a törzs érzékenynek tekinthető nagyobb dózisban adagolt penicillin esetén, míg meningitisben ezeket az izolátumokat minden esetben rezisztensként kell interpretálni [4].

8.4 A penicillinre nem érzékeny *S. pneumoniae* izolátumok detektálására ajánlott módszerek

A penicillinre nem érzékeny törzsek fenotípusosan detektálhatók MIC érték meghatározással vagy korongdiffúzióval.

8.4.1 Korongdiffúzió

Az 1 µg-os oxacillin koronggal végzett korongdiffúziós vizsgálat hatékony szűrő módszer a penicillinre nem érzékeny pneumococcusok detektálására [5, 6, 7]. A módszer érzékenysége magas, de nem kellően specifikus, mivel a ≤19 mm zónával rendelkező törzsek benzylpenicillin iránti érzékenysége variábilis lehet, ezért a szűrő módszerrel penicillinre nem érzékeny izolátum esetén meg kell határozni a benzylpenicillin MIC értékét [7].

Egyéb, benzylpenicillintől eltérő β-laktám antibiotikumok esetén az érzékenység az oxacillin zóna alapján interpretálható az 1. táblázatban leírtak szerint.

1. táblázat. β-laktám rezisztencia szűrése *S. pneumoniae* izolátum esetén

Oxacillin (1 µg) zóna átmérő (mm)	Antibiotikum	További vizsgálat és/vagy interpretálás
≥ 20 mm	Valamennyi β-laktám típusú szer, amelynél klinikai breakpointot határoztak meg (beleértve a „Megjegyzés”-sel ellátottakat)	Érzékenynek kell interpretálni a klinikai indikációtól függetlenül, kivéve a cefaclor esetében, amelyet interpretálás esetén mérsékeltnek kell kiadni
≤ 20 mm*	Benzylpenicillin (meningitis) és phenoxymethylpenicillin (valamennyi indikációban)	Rezisztensnek kell interpretálni.
	Ampicillin, amoxicillin és piperacillin (β-laktamáz gátlóval kombinációban, illetve anélkül), cefotaxim, ceftriaxon, ceftarolin és cefepim.	Ha az oxacillin zóna átmérője ≥8 mm: Érzékenynek kell interpretálni. Meningitis esetén: meg kell erősíteni a terápiásan alkalmazandó szer MIC értékének meghatározásával.
	Egyéb β-laktám antibiotikumok (beleértve a benzylpenicillint a meningitistől eltérő fertőzések esetén)	Meg kell határozni a terápiásan alkalmazandó szer MIC értékét, és a klinikai breakpointok alapján kell interpretálni az eredményt

*Oxacillin (1 µg) <20 mm: Mindig meg kell határozni a benzylpenicillin MIC értékét, de haladéktalanul ki kell adni a többi β-laktám érzékenységi eredményét a fenti szabályok szerint.

8.4.2 Klinikai breakpointok

A penicillin breakpointokat alapvetően a pneumococcus meningitis sikeres kezelésének biztosítására állapították meg. Azonban klinikai vizsgálatok bebizonyították, hogy a mérsékelt penicillin érzékenyséű törzsek okozta pneumococcus pneumóniák esetén a kimenetel nem különbözött a parenterális penicillinnel kezelt, illetve más szerekekkel kezelt betegek esetében. Mikrobiológiai, farmakokinetikai és farmakodinamikai adatokat figyelembe véve, felülvizsgálták a benzylpenicillin breakpointokat nem meningitisből származó izolátumok esetében [3] és a jelenlegi EUCAST breakpointokat a 2. táblázatban foglalták össze.

2. táblázat. Benzylpenicillin érzékenység interpretálása meningitis, illetve nem meningitis esetén.

Indikáció	MIC breakpoint (mg/L)		Megjegyzés
	É ≤	R ≥	
Benzylpenicillin (nem meningitis)	0,06	2	Pneumóniában , 1,2 g x 4 dózis esetén, ha az izolátum MIC ≤ 0,5 mg/L, benzylpenicillinre érzékenynek kell interpretálni. Pneumóniában , 2,4 g x 4, illetve 1,2 g x 6 dózis esetén, ha az izolátum MIC ≤ 1 mg/L, benzylpenicillinre érzékenynek kell interpretálni. Pneumóniában , 2,4 g x 6 dózis esetén, ha az izolátum MIC ≤ 2 mg/L, benzylpenicillinre érzékenynek kell interpretálni.
Benzylpenicillin (meningitis)	0,06	0,06	

Megjegyzés: 1,2 g benzylpenicillin 2 ME (millió egység) benzylpenicillinnek felel meg

8.4.3 Kontroll törzsek

A benzylpenicillin érzékenységi vizsgálatokhoz ajánlott kontroll törzsek listája a 3. táblázatban látható.

3. táblázat. A benzylpenicillin érzékenységi vizsgálatok minőségellenőrzésére alkalmas kontroll törzsek.

Törzs	Mechanizmus
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	Mozaik PBP, benzylpenicillin MIC 0,5 mg/L

8.5 Irodalomjegyzék

1. Dagan R. Impact of pneumococcal conjugate vaccine on infections caused by antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae*. Clin Microbiol Infect. 2009;15 (Suppl 3):16-20.
2. Hakenbeck R, Kaminski K, König A, van der Linden M, Paik J, Reichmann P, Zähler D. Penicillin-binding proteins in beta-lactam-resistant *Streptococcus pneumoniae*. Microb Drug Resist 1999; 5: 91-99.
3. Grebe T, Hakenbeck R. Penicillin-binding proteins 2b and 2x of *Streptococcus pneumoniae* are primary resistance determinants for different classes of β -lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 1996; 40: 829-834.
4. Weinstein MP, Klugman KP, Jones RN. Rationale for revised penicillin susceptibility breakpoints versus *Streptococcus pneumoniae*: Coping with antimicrobial susceptibility in an era of resistance. Clin Infect Dis 2009; 48: 1596 – 1600.
5. Dixon JMS, Lipinski AE, Graham MEP. Detection and prevalence of pneumococci with increased resistance to penicillin. Can Med Assoc J 1977; 117: 1159-61.
6. Swenson JM, Hill BC, Thornsberry C. Screening pneumococci for penicillin resistance. J Clin Microbiol 1986; 24: 749-52.
7. Jetté LP and C Sinave. Use of an oxacillin disk screening test for detection of penicillin- and ceftriaxone-resistant pneumococci. J Clin Microbiol 1999; 37: 1178-81.

Carba NP teszt- a karbapenemáz-termelés gyors fenotípusos kimutatása

Jánvári Laura, Tóth Ákos

Országos Epidemiológiai Központ

A multirezisztens, Gram-negatív kórokozók elterjedésével a karbapenemek nélkülözhetlenné váltak a nozokomiális fertőzések kezelésében. A karbapenemekkel szemben egyre gyakrabban megjelenő rezisztencia miatt azonban ez a terápiás lehetőség is veszélybe került.

A karbapenem rezisztencia a Gram-negatív baktériumok körében több módon alakulhat ki. Előfordulhat, hogy a baktérium kiterjedt spektrumú β -laktamázt (ESBL) és/vagy AmpC-típusú β -laktamázt termel, és ez a külső membrán csökkent permeabilitásával kombinálódik. A karbapenem rezisztencia kialakulásának másik módja, hogy karbapenemeket hidrolizáló enzime(ke)t, karbapenemáz(oka)t termel a baktérium [1, 2].

A karbapenemázok a legtöbb β -laktám antibiotikumot (beleértve a karbapenemeket is) hidrolizálni képes enzimek, az Ambler-féle osztályozás szerint az „A”, „B” és „D” molekuláris osztályokba tartozhatnak.

Az „A” molekuláris osztályba tartoznak például a KPC enzimek (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase). Gátlószere pl. az APB, a klavulánsav és a tazobaktám. A „B” molekuláris osztályba tartoznak a különböző kelátorokkal (pl. dipikolinsavval, EDTA-val) gátolható metallo- β -laktamázok (MBLek) (pl. VIM, NDM), a „D” molekuláris osztály tagjai pedig az OXA-48-típusú karbapenemázok. Az utóbbiaknak nincs specifikus gátlószerük, és az ilyen karbapenemázokat termelő izolátumok a karbapenemekkel és a temocillinnel szemben rezisztenciát mutatnak, de gyakran érzékenyek maradnak a 3. generációs cefalosporinokra, megnehezítve ezzel azonosításukat [1, 3, 4].

A karbapenemáz-termelés kimutatására számos módszert leírtak. Ezek közül a legelterjedtebbeket az 1. táblázat foglalja össze.

Járványügyi szempontból fontos a karbapenemáz-termelő törzsek minél korábbi felderítése. A 2012 szeptemberében publikált **Carba NP (Carbapenemase Nordmann-Poirel) teszt** a karbapenemáz-termelés gyors fenotípusos kimutatására kifejlesztett módszer. *Enterobacteriaceae* és *Pseudomonas* spp. izolátumok vizsgálatai során alkalmazható. A teszt segítségével könnyen eldönthetjük, hogy a karbapenem rezisztencia háttérében karbapenemáz-termelés áll-e, vagy egyéb rezisztencia mechanizmusok [1, 2].

A vizsgálat kivitelezése:

A vizsgált baktériumtörzs véres agaron növesztett 24 órás tenyészetéből egy 10 μ l-es kalibrált kacsnyit elszuszpendálunk 200 μ l 20 mmol/L Tris-HCl lízis

pufferben (B-PERII, Bacterial Protein Extraction Reagent, Thermo Scientific, USA), majd 1 perc vortexelés után 30 percig inkubáljuk szobahőmérsékleten.

A mintát 10000 x g-n centrifugáljuk 5 percig, majd a felülúszóból 30-30 µl-t mérünk Takátsy lemezen kimért 100 µl 3 mg/ml imipenem (vagy ennek megfelelő 6 mg/ml imipenem-cilastatin) tartalmú fenolvörös munkaoldathoz, és 100 µl imipenem mentes fenolvörös munkaoldathoz (ez utóbbit kontrollként használjuk).

A fenolvörös munkaoldatok elkészítéséhez 2 ml fenolvörös oldatot (Merck, Németország) adunk 16,6 ml desztillált vízhez, és kiegészítjük 12µL 25 mg/ml ZnSO₄ oldattal. A munkaoldatok pH-ját 7,8-ra állítjuk be 0,5M NaOH oldat segítségével.

A mintát maximum 2 órát termosztáljuk 37 °C-on. A teszt eredményét a 30. percben, illetve negatív eredmény esetén a 60. és a 120. percben is leolvassuk. Ha van karbapenemáz-aktivitás, az imipenem hidrolízise pH csökkenést eredményez, és az oldat színe pirosról sárgára/narancssárgára változik [1].

A Carba NP teszt továbbfejlesztett változatában, a **Carba NP teszt II**-ben kiegészítették a vizsgálatot különböző karbapenemáz gátlószerekkel (az „A” osztályú karbapenemázokat gátló tazobaktámmal és a „B” osztályú karbapenemázokat gátló EDTA-val). Így ez a módszer a karbapenemáz-termelés kimutatása mellett arra is alkalmas, hogy fenotípusosan elkülönítse az egyes molekuláris osztályba tartozó karbapenemázokat [3].

A kiterjedt-spektrumú β-laktamáz-termelés kimutatására alkalmas **ESBL NDP** (Nordmann/Dortet/Poirel) teszt a fentiekhez hasonló elven működik, cefotaxim és cefotaxim+tazobaktám oldatok felhasználásával [5].

Az Országos Epidemiológiai Központ Multirezisztens, aerob Gram-negatív kórokozók antibiotikum rezisztencia Nemzeti Referencia Laboratóriumában 2013-ban vezettük be a Carba NP teszt alkalmazását a karbapenemáz-termelésre gyanús törzsek megerősítő vizsgálatainak során.

2013 során 324 Carba NP tesztet végeztünk. A teszt alapján ezek közül 153 törzs bizonyult karbapenemáz-termelőnek. A pozitív eredményeket minden esetben megerősítettük PCR vizsgálatokkal is. A karbapenemáz-termelő törzsek között 148 VIM-termelő törzs volt (132 *K. pneumoniae*, 8 *S. marcescens*, 5 *E. cloacae*, 2 *P. aeruginosa*, 1 *K. oxytoca*), 3 OXA-48-like-termelő (2 *K. pneumoniae*, 1 *E. coli*), 1 NDM-termelő *E. cloacae*, és 1 KPC-termelő *K. pneumoniae*.

A teszt 171 esetben adott negatív eredményt, 76 *K. pneumoniae*, 64 *Enterobacter* sp., 15 *P. aeruginosa*, 13 *E.coli*, 2 *K.oxytoca* és 1 *Providencia rettgeri* esetén. Ezeknél a törzseknél, az egyéb kiegészítő vizsgálatokat is figyelembe véve, valóban nem karbapenemáz-termelés állt a karbapenem rezisztencia hátterében.

Az elmúlt évben az általunk elvégzett vizsgálatok tapasztalatai alapján elmondhatjuk, hogy a Carba NP teszt 100% érzékenységet és 100% specificitást mutatott. Az OEK ajánlásában jelenleg szereplő módosított Hodge tesztet a Carba NP módszerrel összehasonlítva (n=174), a Hodge teszt 8 *E. cloacae* törzs esetén tévesen pozitív eredményt adott, 2 *S. marcescens* törzsnél pedig tévesen negatív eredményt.

Laboratóriumunkban vizsgáltuk az elkészített imipenem-tartalmú oldat eltarthatóságát is. Azt tapasztaltuk, hogy a -20 °C-on tárolt imipenem-tartalmú fenolvörös munkaoldat többszöri felolvasztás után is felhasználható ~ 2 hétig. Felolvasztás után azonban a pH korrigálására lehet szükség.

1. táblázat. A karbapenemáz-termelő törzsek megerősítésének lehetőségei [1, 2, 4, 6]

		Előnyök	Hátrányok
Fenotípusos módszerek	Módosított Hodge teszt	- olcsó	- időigényes - nehezen kivitelezhető - az eredmény gyakran nem egyértelmű - alacsony érzékenység - alacsony specificitás
	Gátlószeres korongdiffúziós tesztek	- olcsó - kereskedelmi forgalomban is elérhető tesztek	- időigényes - szakértelmet igényelnek - az OXA-48-típusú karbapenemázoknak nincs specifikus gátlószere
	Carba NP teszt*	- magas szenzitivitás - magas specificitás - gyors - olcsó - könnyen reprodukálható	- speciális eszközigény (pl. analitikai mérleg) - <i>Acinetobacter</i> spp. esetén nem alkalmazható - a hipermukovizkózus fenotípusú klebsiellák esetén kétes eredmény
	MALDI-TOF	- magas szenzitivitás - magas specificitás	- drága eszközigény - speciális felszereltséget és szakértelmet igényel
Molekuláris módszerek	PCR, DNS microarray	- magas szenzitivitás -magas specificitás - kereskedelmi forgalomban is elérhető tesztek	- drága - speciális felszereltséget és szakértelmet igényelnek - új génváltozatok nem kerülnek felderítésre

* Várható, hogy hamarosan kereskedelmi kit is elérhető lesz Magyarországon

Összességében elmondható, hogy a Carba NP teszt egy jól alkalmazható fenotípusos módszer a feltételezett karbapenemáz-termelés minél korábbi megerősítésére *Enterobacteriaceae* és *Pseudomonas* spp. izolátumok esetén.

Irodalomjegyzék:

1. **Nordmann P, Poirel L, Dortet L.** Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis.* 2012; 18: 1503-7.
2. **Dortet L, Poirel L, Nordmann P.** Rapid detection of carbapenemase-producing *Pseudomonas* spp. *J Clin Microbiol.* 2012; 50: 3773-6.
3. **Dortet L., Poirel L.** Nordmann P. Rapid identification of carbapenemase types in *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* spp. by using a biochemical test *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012; 56: 6437.
4. http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_v1.0_20131211.pdf
5. **Nordmann P, Dortet L, Poirel L.** Rapid detection of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol.* 2012; 50: 3016-22.
6. **Tijet N, Boyd D, Patel SN, Mulvey MR, Melano RG.** Evaluation of the Carba NP test for rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013; 57: 4578-80.