



2005. V. évfolyam 2. szám

Tartalom:

A 2004. évi bakteriológiai körvizsgálatok értékelése
Gacs Mária dr., Tirczka Tamás

CTX-M-típusú széles spektrumú- β -laktamáz (ESBL) termelő *Klebsiella pneumoniae* törzsek előfordulása Magyarországon
Tóth Ákos, Damjanova Ivelina dr.

Metallo- β -laktamáz (MBL) termelő *Pseudomonas aeruginosa* törzsek halmozott előfordulása hazai kórházi osztályokon 2005-ben
Libisch Balázs, Gacs Mária dr., Füzi Miklós dr.

Változások az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok területén a 2005. évi CLSI/NCCLS M100-S15 alapján
Janet Hindler összeállítása alapján készítette: Gacs Mária dr., Tirczka Tamás

Az antifungális terápia és az antimikotikum rezisztencia aktuális kérdései
Zala Judit, Kiss Katalin

2005 évtől kezdődően a körvizsgálatok bővítésére került sor, így ma már mikrobiológia csaknem minden területére kiterjedő külső „quality control” vizsgálatokat szervez az OEK Minőségbiztosítási osztálya, amelyben való részvételről a vizsgáló laboratórium, írásos igazoló jelentést kap.

A 2004. évi bakteriológiai körvizsgálatok értékelése

Magyarországon a bakteriológiai laboratóriumokban a minőségbiztosítás kezdetei Dr. Lányi Béla nevéhez fűződnek, s így, ennek lényeges részét képező külső quality kontroll vizsgálatok bevezetése is. Ezek gyakorisága, lebonyolítása az évek során többféle módon történt, de lényeges eleme, hogy klinikai mintát utánzó készítmények kerülnek kiküldésre, nem változott. A minta feldolgozása, az identifikálás, antibiotikum érzékenységi vizsgálat, az eredmény interpretálása a mindennapi rutin vizsgálatok protokolljai szerint történik.

A 2004. évi vizsgálatok összeállításakor a cél az volt, hogy a megoldások választ adjanak arra, egyrészt hogy a laboratóriumok mennyiben sajátították el azokat az új ismereteket, amelyek elsősorban az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok területén folyamatosan változásokat hoznak, másrészt, hogy megfelelően interpretálják-e a kapott eredményeket.

Az értékelés 40 laboratórium eredményei alapján történt.

- Az aerob diagnosztika a kitek, félautomaták, automaták használatával az identifikálandó specíesek esetében egy-két laboratórium kivételével kitűnő volt.
- Az aerob baktériumok antibiotikum érzékenységi vizsgálatai során a rezisztencia mechanizmusok felismerése, az eredmények ennek megfelelő interpretálása széles körben megtörtént.
- Az anaerob diagnosztikában az identifikálási eredmények, bár a laboratóriumok szűkebb körében, ugyancsak fejlődést tükröztek.
- Az anaerob baktériumok antibiotikum érzékenységi vizsgálatai területén voltak tapasztalhatók leginkább problémák, amellet hogy, ezekben a vizsgálatokban a laboratóriumok mintegy harmada vett csak részt.

Az aerob baktériumok identifikálásának eredményei:

A körvizsgálat 3 mintájában 5 aerob species izolálása és identifikálása volt a feladat. Az eredmények az 1. táblázatban láthatók.

1. táblázat. A 2004. évi körvizsgálatban izolált és helyesen identifikált aerob specíesek

Az izolált specíesek identifikálásának eredménye	laboratóriumok	
	száma	%-a
<i>Salmonella</i> Panama	27	67,5%
<i>Salmonella</i> spp.	12	30,0%
<i>Escherichia coli</i> I	40	100,0%
<i>Enterococcus faecium</i>	40	100,0%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	38	95,0%
<i>Escherichia coli</i> II	40	100,0%

Egy laboratórium a *Salmonella* Panama-t *Citrobacter freundii*-nak identifikálta, amely nagyon súlyos hibának minősül.

* A laboratóriumok több mint fele, 23-an a minta „bontását” követő 48h belül, 8-an 24h múlva közölték a salmonella izolálását, s az azonnali konzultáció szükségességét a klinikussal és/vagy az infektológussal, a kórházhygiénikus, és az epidemiológus kollegákkal.

A *Stenotrophomonas maltophilia*-t *Acinetobacter baumannii*-nak identifikálta egy laboratórium, s egy másik a vegyes tenyészetből csak az *Escherichia coli*-t közölte.

Az aerob baktériumok antibiotikum érzékenységi vizsgálatának eredményei:

A részletes értékelésben támpontot ad a WHO értékelési rendszere:

- Elfogadható korongdiffúzió ± 3 mm zónaátmérő; E- tesztnél ± 1 higítási fok eltérés

Értékelés	Referens lab.	vizsgálatot végző laboratórium
Kis hiba	érzékeny	→ mérsékelt
	mérsékelt	→ érzékeny
	rezisztens	→ mérsékelt
	mérsékelt	→ rezisztens
Nagy hiba	érzékeny	→ rezisztens
Durva hiba	rezisztens	→ érzékeny

Az **1.sz.mintában** szereplő parenterálisan előforduló *Salmonella* Panama az NCCLS ajánlása alapján vizsgált antibiotikumokra érzékenységet mutatott.

A körvizsgálatban résztvevő laboratóriumok az alábbi eredményeket közölték:

	Laboratóriumok száma
<i>Salmonella spp.</i> minden vizsgált antibiotikumra érzékeny	33
Az ajánlott antibiotikumokra érzékeny (mást nem vizsgált)	6
Co-trimoxazollal szemben rezisztens	2

A salmonellák antibiotikum érzékenységi vizsgálatánál a problémát leginkább az okozza, hogy a vizsgált és megadott antibiotikumok köre sokkal bővebb az ajánlottnál, s ez esetenként félrevezetheti a klinikusokat.

Ebben a vonatkozásban a körvizsgálatban szereplő *Salmonella* Panama eredménye is sok hibát mutatott.

aminoglikozidokra vizsgálta és érzékenynek adta meg:	29
az aminoglikozidok mellett 2. gen. cephalosporint is érzékenyként közölt:	3
nem vizsgált 3. gen. cephalosporint, de minden mást igen	1

teljesen kifogástalan érzékenységi eredményt közölt | **6**

Az 1.számú mintában szereplő *E. coli* eredményei láthatók a 2. táblázatban.

2. táblázat *Escherichia coli* (EARSS 1528) ESBL pozitív, a referens és vizsgáló laboratóriumok antibiotikum érzékenység összesített adatai

	Referens eredmény		Laboratóriumok eredményei (törzsek száma)		
	MIC (mg/l)	értékelés	érzékeny	mérsékelt	rezisztens
ampicillin	128	R		-	40
amoxicillin /klavulánsav	-		29	2	8
gentamicin	1-2	E	31	4	-
tobramycin	64-128	R	-	-	34
netilmicin	-		-	1	24
amikacin	-		-	2	30
tetracyclin	-		-	-	27
Co-trimoxazol	-		25	4	8
ciprofloxacín	0,12-0,5	E	40	-	-
ceftriaxon	-		1	1	38
cefotaxim	0,5-1	R	1	1	37
ceftazidim	64	R	1	-	39
piperacillin /tazobactam	-		21	-	3
cefepim	-		4	-	22

A 2. táblázat adatait vizsgálva láthatjuk, hogy míg az ampicillin egyöntetűen rezisztens, a β -laktamáz gátlókkal kombinált β -laktámok érzékenységének megítélése közel sem ilyen egyértelmű. Míg 29-en az amoxicillin/clavulánsavat érzékenynek találták és adták meg, 8-an a kapott érzékeny kategóriába eső értéket, rezisztensnek interpretálták (a VITEK2 is).

A jelenlegi álláspont szerint nem kell az érzékeny kategóriába eső törzseket rezisztensnek interpretálni, bár klinikai megfigyelések arra utalnak, hogy az ESBL termelő törzsekkel szemben kevésbé hatékonyak a β -laktám gátlókkal kombinált β -laktám antibiotikumok is. (1.) Célszerű az érzékeny eredmény mellé megjegyzést fűzni: „Klinikailag kevésbé hatékony lehet, kombinációban ajánlott.”

A táblázatból látható, hogy a co-trimoxazol érzékenységének meghatározásával még mindig gondok vannak.

Az ESBL pozitív *E. coli* rezisztenciájával kapcsolatosan közölt további adatok összesítése:

- felismerte a rezisztencia mechanizmust, a törzset ESBL pozitívna adta meg és a 3. gen. cefalosporinokat jól interpretálta 36
- nem jelöli, hogy ESBL pozitív, de rezisztensként adja meg a 3.gen.cefalosporinokat 1
- ESBL pozitív, de nem interpretálja a 3. gen. cephalosporinokat 1
- nem ismeri fel a rezisztencia mechanizmust 2

Az ESBL termelés vizsgálatának módjai:	• E-teszttel	11
	• 2 vagy 5 korongos módszerrel	7-7
	• VITEK2 automatával	3
	• ATB BLSE –vel	3
A törzset molekuláris megerősítésre és további vizsgálatra az OEK Bakteriológia I. osztályára küldi		29

A **2. számú mintá**ban szereplő *Enterococcus faecium vanA* gént hordozott, így a vizsgálat során vanA- típusú, azaz vancomycinnel és teicoplaninnal szemben magas szintű rezisztenciát mutatott.

A **3. táblázatban** az *Enterococcus faecium* összesített eredménye látható.

3. táblázat. *Enterococcus faecium* (WHO-3), a referens és vizsgáló laboratóriumok antibiotikum érzékenység eredményei

Referencia érték			Laboratóriumok eredményei									
			MIC eredményt közlők száma			Csak korongdiffúziót közlők száma			Nem jelölt	Összesített eredmények		
antibiotikum	MIC (mg/l)	korong (mm)	É	M	R	É	M	R		É	M	R
penicillin	32 / R	6 / R	3		9		1	2	1	3	1	12
ampicillin	4 / E	19 / E	14		5	10	1	8	1	24	2	13
HL-gentamicin	E		19			19		1	1	39		1
HL- streptomycin	R		2		12	1		6		3		18
vancomycin	512 / R	9 / R			33			5	2			40
teicoplanin	256 / R	7 / R			23			10	2			35
imipenem			1		9	1	1	15	1	2	1	25
ciprofloxacin	4 / R	15 / R		1	3		2	16			3	13
levofloxacin			6			11			1	17	1	
tetracyclin	> 16 / R	8 / R			4			14				18
β-laktamáz	negatív		14 negatív és 1 pozitív									

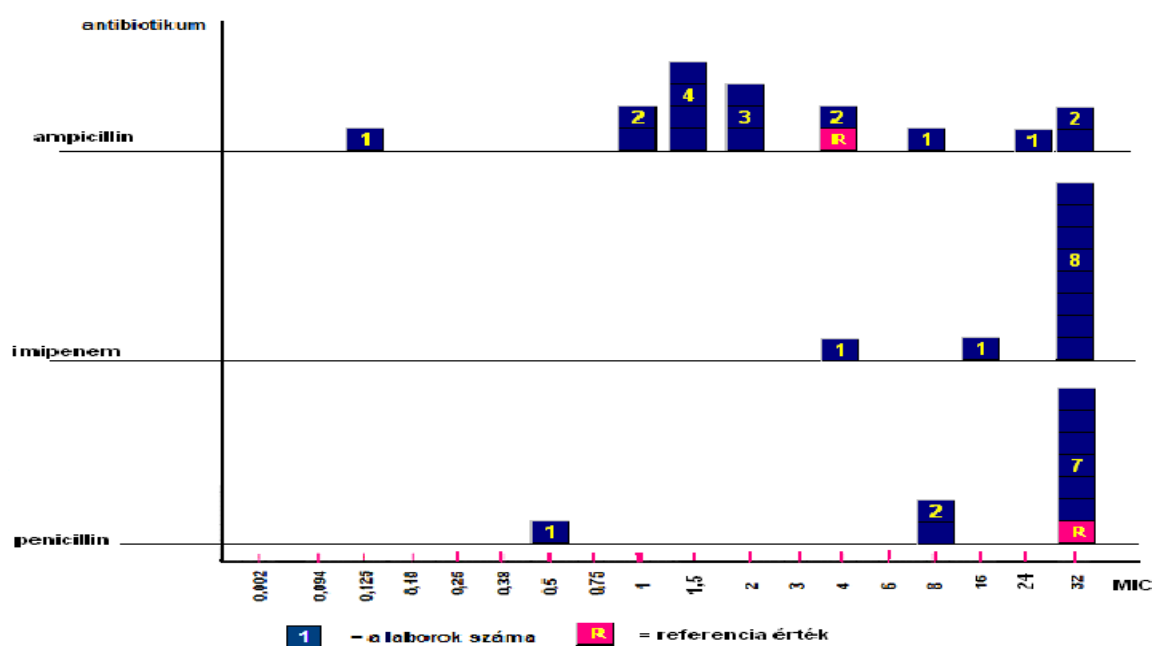
Ahogy a táblázat adatai mutatják a laboratóriumok többsége vancomycin esetében MIC vizsgálatot is végzett. A kapott eredmények alapján 12 laboratórium vanA- típusú rezisztencia gyanút közölt. A törzs jelentős kórházhygiénés szerepét a laboratóriumok többsége (32) felismerte, és megerősítő molekuláris vizsgálatra az OEK-be küldené

Általában, ahogy az eredmények is mutatják, nem okoz gondot az enterococcusok magas szintű vancomycin rezisztenciájának felismerése. A problémák elsősorban az alacsonyabb breakpoint-ot kevéssel meghaladó (6-8 µg/ml) MIC értékű, nem mozgó enterococcusok esetében lehetnek, mivel ritkán, de előfordulhatnak e körüli MIC értékű VanB típusú VRE törzsek is. (Ennek részletes vizsgálatával jelenleg foglalkozik laboratóriumunk; az eredményekről a következő Mikrobiológiai Körlevél -ben számolunk be.)

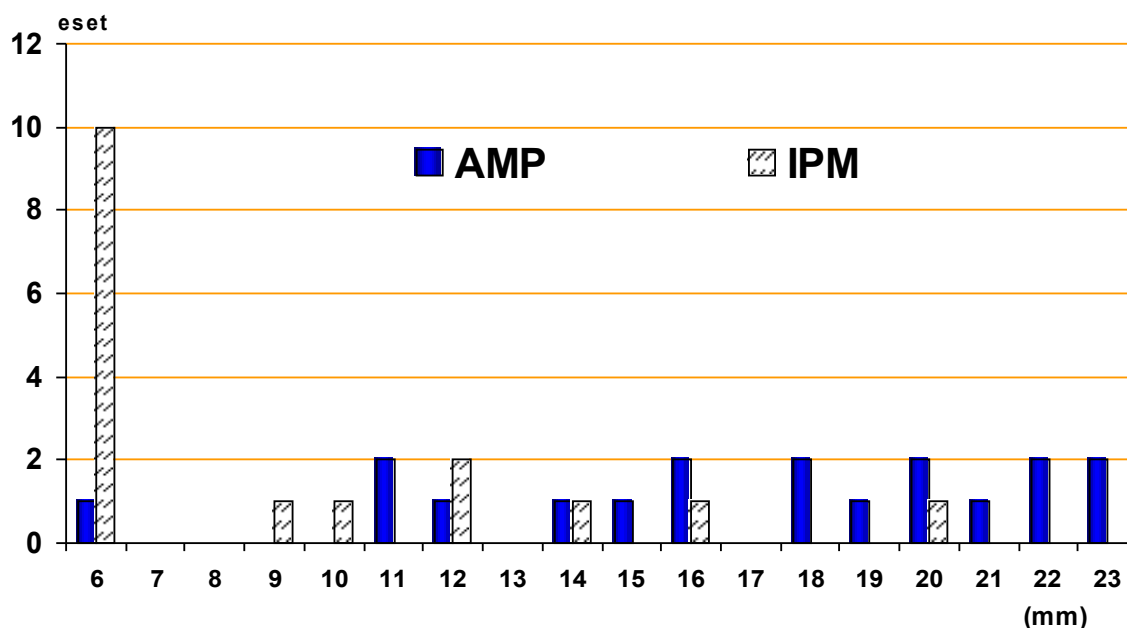
Az aminoglikozidok érzékenységének vizsgálatakor egyetlen kivétellel, gentamicin esetében 120 µg, a streptomycin esetében 300 µg-os korongot használtak a laboratóriumok. A gentamicin érzékenységet a laboratóriumok fele E-teszttel is vizsgálta, egyetlen laboratórium

közölte rezisztensnek. A laboratóriumok többsége még nem szokta meg, a magas szintű aminoglikozid vizsgálatnál a „high level” érzékeny és rezisztens eredményközlést, amely nemzetközileg használatos. A Mikrobiológiai Körlevél 2004/3. számában már írtunk arról, hogy a 120 µg-os gentamicin ill. a 300 µg- os streptomycin koronggal érzékenységet mutató törzseket gentamicinre és streptomycinre HL érzékenyként közöljük, míg a rezisztens kategóriába tartozókat HL rezisztensnek.

A WHO3 jelzésű törzs a β-laktámokvonatkozásában a szokásostól eltérő, speciális rezisztenciát mutatott, amennyiben a WHO értékelés szerint penicillin rezisztens, ampicillin érzékeny volt. A laboratóriumok vizsgálatának eredményei összesítve láthatók a 3. táblázatban, és MIC értékek ill. zóna átmérők (mm) a 4-5. ábrán.



4.ábra *Enterococcus faecium* (WHO-3) mért MIC értékeinek eloszlása



5.ábra *Enterococcus faecium* (WHO-3) érzékenysége ampicillinre és imipenemre korongdiffúziós vizsgálattal. A zónaátmérő (mm) szerinti megoszlása

Meglepő eredményt adtak az imipenem érzékenységre vonatkozó vizsgálatok. Mint közismert az imipenem és ampicillin érzékenység az esetek túlnyomó többségében megegyezik, így gyakran nem is szükséges vizsgálata, mivel az ampicillin érzékenységből következtetni lehet az imipenem érzékenységre. A WHO 3 törzs a laboratóriumok többségében imipenemmel szemben korongdiffúzióval és E-tesztel egyaránt rezisztensnek bizonyult. 25 laboratórium vizsgálta az imipenem érzékenységét és 14 az ampicillinétől eltérő eredményt kapott.

Az imipenemre vonatkozó érzékenységi adatokat a WHO nem közölte, s amint tudjuk az NCCLS sem ad meg korongdiffúziós, vagy MIC értékeket. A FDA (Food and Drug Administration) adatai szerint a 4 µg/ml az érzékenység, és a 16 µg/ml a rezisztencia határa.

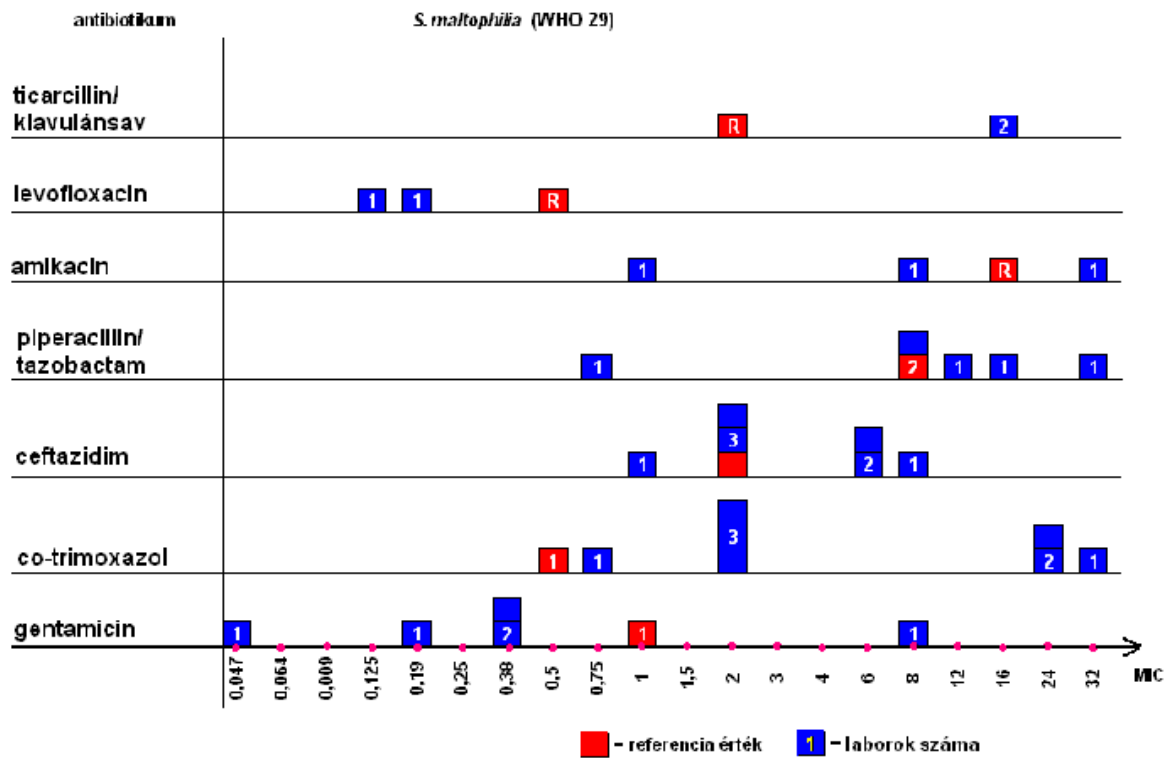
Az irodalomban újra és újra felmerül, hogy a penicillin illetve ampicillin vizsgálatával kapott eredmény elfogadható-e az imipenem érzékenység megítélésére? Míg egyes szerzők elfogadhatónak tartják, mások cáfolják, mivel mindig vannak törzsek, ha néhány százalékban is, amelyekre ez nem igaz. Weinstein és mtsai legutóbb úgy foglaltak állást, hogy míg az *E. faecalis* esetében elfogadható az imipenem érzékenységének ampicillin alapján történő kiadása, de az *E. faecium* és más *Enterococcus spp.* esetében néhány százalékban eltérhet, így ajánlott azt külön meghatározni. (2)

A **3.számú mintában** lévő *Stenotrophomonas maltophilia* érzékenységére vonatkozó adatok, a referens laboratórium és a vizsgáló laboratóriumok összesített eredményei a 4. táblázatban láthatók.

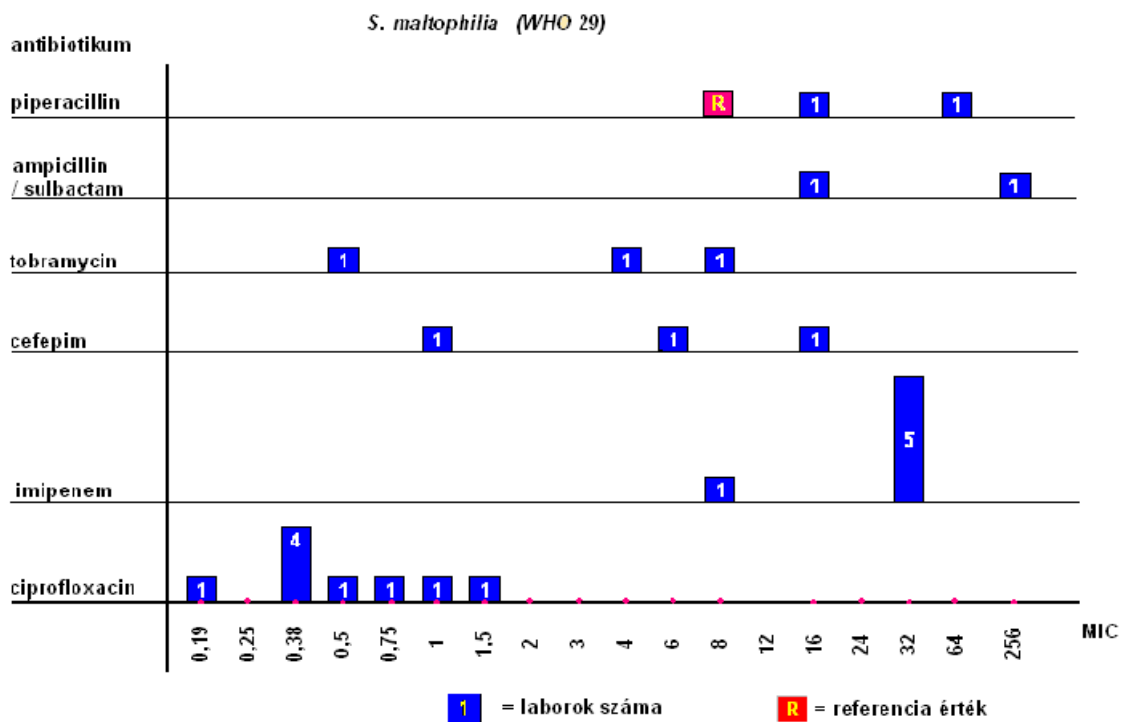
4. táblázat *Stenotrophomonas maltophilia* (WHO-29), a referens és a vizsgáló laboratóriumok eredményei

antibiotikum	Referencia eredmények		A laboratóriumok összesített eredményei		
	MIC (mg/l)	korong (mm)	É	M	R
piperacillin	8 / E	27 / E	13		
piperacillin/tazobactam			25		4
ticarcillin/ klavulánsav	≤ 2 / E	38 / E	3		
trimethoprim/ sulfamethoxazol	0,5 / E	30 / E	35	1	2
levofloxacin	0,5 / E	29 / E	8		1
ciprofloxacin			35	1	
moxifloxacin			4		
gentamicin	1 / E	30 / E	25		5
amikacin	16 / E	29 / E	25	1	3
netilmicin			21		1
tobramycin			20		3
ceftazidim	2 / E	27 / E	28	3	2
cefoperazon			13		
cefepim			19		2
cefotaxim			2	1	5
tetracyclin			8		2

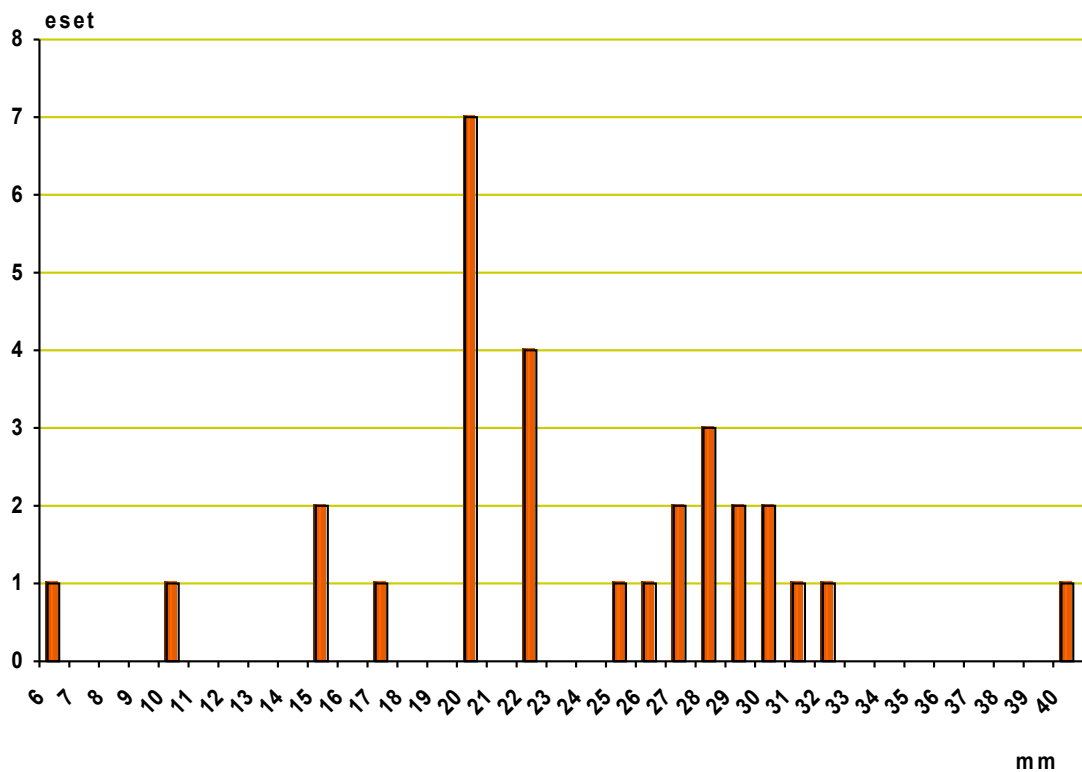
A jelentős szórás miatt a korongdiffúziós és a MIC értékeket is közlő laboratóriumok eredményei mm ill. µg/ml szerint bontva szerepelnek a 6-8. ábrán.



6.ábra *Stenotrophomonas maltophilia* (WHO-29) MIC (µg/ml) értékek



7.ábra *Stenotrophomonas maltophilia* (WHO-29) MIC (µg/ml) értékek



8.ábra *Stenotrophomonas maltophilia* (WHO-29) ceftazidim érzékenysége

A *Stenotrophomonas maltophilia* antibiotikum érzékenységének vizsgálata a mai napig sem teljesen egyértelmű. Milyen antibiotikumok érzékenységét javasolt vizsgálni és hogyan? A kérdésekre a legutóbbi Bakteriológiai értekezleten, a SE Mikrobiológiai Intézetéből Dr. Kristóf Katalin által tartott összeállítás adott választ. Az összeállítást és az anaerob törzsek rezisztencia vizsgálatának eredményeit a Mikrobiológiai Körlevél következő számában közöljük.

A körvizsgálat eredményeinek értékelése vizsgálati minták szerint:

1. minta: hasúri váladék

Eredmény:

- Aerob:
 - *Salmonella* Panama
 - *Escherichia coli* (ESBL termelő)
- Anaerob:
 - *Prevotella melaninogenica*

Értékelés

Laboratóriumok
száma

Kitűnő:

- Mindhárom baktériumot kitenyésztette és species szintig
identifikálta: 12

Jó:

- Az izolált baktériumot vagy baktériumokat csak genus szintig
identifikálta: 7

Elfogadható:

- A salmonella-t genus szintig határozta meg, anaerob tenyésztést nem
végez, de tovább küldi az anyagot: 2
- Az anaerob speciést nem identifikálta pontosan 3
- Az anaerob speciést csak telepmorfológia alapján közölte 1

Nem elfogadható

- *Salmonella* Panama helyett *más baktériumot* identifikált,
(anaerob módon nem dolgozta fel) 1
- A mintában nem lévő aerob baktériumot izolált 1
- „Anaerob baktérium nem tenyésztett ki” eredmény közölt:
közülük egy *S. arizonae* –t diagnosztizált) 8

1. számú minta: hasúri váladék. Az eredmény interpretálása

- A kitenyésztett kórokozók szerepet játszanak a kórfolyamat
kialakításában: 22
- Telefonon konzultált a klinikussal, az infektológussal: 18
 - a kórházhigiénikussal: 16
 - az epidemiológussal: 17
- Június 08-09-én és ismételten haemokultúrát kért: 20
 - székletet kért: 15
- Terápiás javaslatot tett: 11
 - ciprofloxacín 3
 - carbapenem 2
 - amoxicillin/klavulánsav 1
 - piperacillin/tazobactam 1
 - anaerobokra is ható antibiotikum 4
- Az *E. coli* törzset ESBL megerősítésre és további vizsgálatra,
a *Salmonella*-t sero- és fágtipizálásra beküldi: 29

2. számú minta: lochia váladék

Eredmény:

1. aerob: *Enterococcus faecium*
2. anaerob: *Bacteroides ureolyticus*
Peptostreptococcus anaerobius

	Laborok száma
• mindhárom baktériumot kitenyésztette és species szintig identifikálta	10
• <i>Peptostreptococcus spp</i> -t adott meg	5
• <i>Peptostreptococcus spp.</i> és <i>Bacteroides spp</i> -t adott meg	1
• egyféle anaerob baktériumot tenyésztett ki	8
- <i>Peptostreptococcus spp.</i>	4
- <i>B. ureolyticus</i>	4
• csak az egyik anaerob baktériumot identifikálta jól	2
• anaerob tenyésztésre elküldte	2
• nem relevans minta anaerob nem dolgozta fel	4
• anaerob nem dolgozta fel, de nem fűzött megjegyzést hozzá	3
• anaerob tenyésztéssel negatív	3
• „Anaerob tenyésztés folyamatban”?	1

Észrevételek, megjegyzések és az eredmények interpretációja

1. Konzultáció szükséges	32
• "A lochia bakteriológiai vizsgálatra nem alkalmas, helyette endometrialis aspirátum a megfelelő minta" – jegyezte meg:	7
• tampon anaerob módon nem dolgoz fel	5
• ha transzport közegben küldi, a tampon megfelelő lehet anaerob feldolgozásra is	1
• a közvetlen mikroszkópos vizsgálat segíti a kitenyésztett baktériumok megítélését	1
• haemokultúra vétele javasolt	17
• a vizsgálatot ki kell terjeszteni STD kórokozók irányába is (<i>Chlamydia</i> , <i>Mycoplasma</i>)	5
• az enterococcus kórokozó szerepe kétes	6
• aerob csak a <i>Streptococcus pyogenes</i> - nek van kóroki jelentősége	2
• csak az anaerob baktériumoknak van kóroki jelentősége	2
• mindhárom izolált baktériumnak kóroki jelentősége van, vagy lehet	4
• A vancomycin rezisztens enterococcusnak kórházhygiénés jelentősége van, ezért beküldi megerősítő molekuláris vizsgálatra	32
• <i>A Bacteroides ureolyticus</i> -t anaerob referens laboratóriumba küldi	1
• „A tünetek alapján a fenti baktériumok izolálása diagnosztikus értékű”	
• „A kitenyésztett baktériumok postpartum infekciókban kórokozó szerepet játszhatnak, így tekintettel a beteg tüneteire, a leletben valamennyi baktériumot közöljük.”	
• Nagyon pozitívan értékelhető, hogy a 40 laboratóriumból 32 jegyezte meg, hogy a konzultáció szükséges. Meg kell tudni, hogy a minta milyen módon került levételre, szükséges-e újonnan jól levett mintát beküldeni. Haemokultúra vizsgálatát sok laboratórium – nagyon helyesen- javasolta.	

3. számú minta: trachea váladék

Eredmény:

- *Stenotrophomonas maltophilia*
- *E. coli*

Minősítés	Tenyésztési és identifikálási eredmény	Laboratóriumok száma
kitűnő	Mindkét baktériumot kitenyésztette és jól identifikálta	35
jó	„ <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ” eredményt adott ki.	3
elfogadhatatlan	A vegyes tenyészetet <i>E.coli</i> -nak identifikálta	1
	Az <i>E.coli</i> mellett <i>Acinetobacter baumannii</i> -t identifikált	1

Észrevételek, megjegyzések, az eredmény interpretációja

	Laboratóriumok száma
Az eredményt interpretálta:	32
Nem releváns minta:	7
Kórokozó szerepe kétes:	7
Kolonizáció valószínű:	16
A <i>S.maltophilia</i> nosocomiálisan jelentős:	13
Konzultált a klinikussal:	12
→jó minta esetén kvantitatív vizsgálat	6
Nem lázas, nem kért haemokultúrát, BAL-t vagy PBS-t:	2
Egyéb mintát kért:	
→ haemokultúrát	7
→ BAL-t vagy PBS-t	8
Nem interpretálta:	8

A laboratóriumok összesített értékelése

A körvizsgálat eredményei az aerob diagnosztika jelentős fejlődése mellett az alpműveletek fontosságára hívják fel a figyelmet. A gondos, precíz munka tevékenységünk minden egyes fázisában elengedhetetlen. A bakteriológiai laboratóriumok területén is megkezdődött minőségbiztosítás, ill. akkreditáció e nélkül elképzelhetetlen. A feldolgozás, izolálás tisztasága garantálja, hogy a mintában nem lévő baktériumok ne forduljanak elő egyes laboratóriumok eredményeiben, ami e körvizsgálat esetében is nem egyszer tapasztalható volt. A szintenyészet, mint minden további művelet alapja ugyancsak elengedhetetlen.

Az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok területén a táptalaj, a korongok rendszeres ellenőrzése a CLSI/NCCLS által megadott ATCC kontroll törzsekkel, a tenyésztéssel készített szuszpenzió sűrűségének pontos beállítása denzitométer használatával, a 90mm átm. Petri-csészében lévő táptalajra csak 6 korong elhelyezése, s a többi előírás pontos betartásával nyert eredmények lehetnek korrektek, s más laboratórium eredményeivel összehasonlíthatóak. Ahogy a részletes eredményeket bemutató ábrákon látható, az egyes antibiotikum érzékenységi adatok rendkívül nagy szórást mutattak, s nagyon sok esetben meghaladták a még megengedett 3mm-t, vagy a \pm egy hígításfok értéket.

Szükséges volna újra végig gondolni, hogy melyik baktérium, s milyen vizsgálati anyag esetében, milyen antibiotikumok vizsgálata lényeges, és szükséges, figyelembevéve az CLSI/NCCLS ajánlásait. Az adott kórokozó érzékenységi vizsgálati eredményének megadása a klinikailag nem hatékony antibiotikumra súlyos hiba.

Nagyon fontos, hogy mindent megtegyenek a laboratóriumok az anaerob diagnosztika fejlesztése érdekében. Súlyos hibára utal, ha egy anaerobokat tartalmazó minta eredménye: „Anaerob baktérium nem tenyésztett ki”, amely ugyancsak nem egy laboratórium esetében előfordult.

Az interpretációk sokat elárulnak a laboratórium felkészültségéről. A kitűnő interpretációk és megjegyzések mellett, most is voltak olyanok, akik a hibátlan vagy kifogásolható eredményen kívül semmit sem közöltek. A bakteriológiai eredmények nem állnak meg önmagukban, ezeket a mindennapi gyakorlatban is, szinte minden esetben értelmezni kell. E nélkül nem lehet hatékony egyetlen bakteriológiai laboratórium tevékenysége sem.

Minősítés	laboratóriumok száma
Kitűnő	5
Nagyon jó	7
Nagyon jó –jó	1*
Jó	18
Jó –megfelelt	3*
Megfelelt	5
Nem felelt meg	1

Az aerob és anaerob eredmények külön minősítve a jelentős teljesítménybeli eltérés miatt

Öszeállította: Gacs Mária dr., Tirczka Tamás
OEK, Bakteriológia I. osztály

Irodalom:

1. Stürenburg, E. and D. Mack. 2003. Extended-spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J. Infect.* 47, 273-295
2. Weinstein M.P. et al. 2004. Multicenter Evaluation of use of Penicillin and Ampicillin as Surrogates for In Vitro Testing of Enterococci to Imipenem. *J. Clin. Microbiol.* 42: 3747-751.

CTX-M-típusú széles spektrumú β -laktamáz (ESBL) termelő *Klebsiella pneumoniae* törzsek előfordulása Magyarországon

Az Országos Epidemiológiai Központ Bakteriológia osztálya 2002. év elejétől gyűjti és erősíti meg az ESBL-termelésre gyanús *Enterobacteriaceae* izolátumokat. Az ESBL-termelés megerősítésére küldött törzsek száma folyamatosan emelkedett: ezekből 2002-ben 127, 2003-ban 265, 2004-ben 297, míg 2005. május végéig 248 törzs bizonyult ESBL-termelőnek. A leggyakoribb izolátum a *Klebsiella spp.* volt 2002-ben (még a törzsek több mint 80%-a, míg 2005. elejére 70% alá csökkent az arányuk), a második helyre az *E. coli* került (2002-2003-ban 8,7%, míg 2005. májusára már 27%-ra nőtt az arányuk).

Az ESBL-termelésre gyanús, 3. generációs cefalosporinokra rezisztens törzsek arányának növekedése az OEK Bakteriológiai Surveillance adataiból is jól látszik. A ceftazidim rezisztens *E. coli* és *Klebsiella spp.* arányának változását mutatja az 1. táblázat.

1. táblázat	Invazív minták (n)		Összes minta (n)	
	2003	2004	2003	2004
<i>E. coli</i>	0,6% (7)	2,3% (29)	0,5% (75)	1,0% (169)
<i>K. pneumoniae</i>	6,6% (20)	14,4% (45)	3,2% (131)	5,0% (206)
Egyéb <i>Klebsiella spp.</i>	7,2% (10)	6,5% (10)	2,6% (58)	2,8% (71)

A referens laboratórium megalakulása óta folyamatosan végezzük az ESBL termelőként beküldött és laboratóriumunk által megerősített törzsek géntípusának, valamint más rezisztencia génjeinek meghatározását, valamint genetikai rokonságuk feltérképezését a Fágtypizálási és Molekuláris Epidemiológiai osztállyal együttműködve.

2002. januárja és 2003. augusztusa között 252 törzset vizsgáltunk meg a hordozott ESBL gén meghatározása céljából, melyeknek 92,1%-a hordozott SHV-típusú ESBL-gént. A vizsgált izolátumok közül a *Klebsiella spp.* izolátumok számottevő hányada 5 megyei kórház (Vas m., Baranya m., Bács-Kiskun m., Fejér m. és Csongrád m.) perinatális intenzív centrumaiban lejátszódott hét járványból származott. A törzsek legnagyobb része a 3. gen. cefalosporinok mellett rezisztens volt egyes aminoglikozidokra, tetraciklinre valamint legtöbb esetben sumetrolimra, azonban érzékeny volt ciprofloxacinnra. A kiválasztott törzsek ESBL-génjeinek szekvenciavizsgálata azt mutatta, hogy Magyarországon ebben az időszakban a domináns géntípus a SHV-5 és a SHV-2a volt. Néhány antibiotikum esetében a két típust hordozó törzsek eltérő rezisztenciát mutattak in vitro, ezek MIC megoszlását mutatja a 2. táblázat.

ESBL-típus	MIC (µg/ml)							
	ceftazidim		cefotaxim		gentamicin		netilmicin	
	MIC ₅₀	Inter-vallum	MIC ₅₀	Inter-vallum	MIC ₅₀	Interv-allum	MIC ₅₀	Inter-vallum
SHV-5	128	96->256	8	4-32	4	2-8	32	12-64
SHV-2a	4	4-8	4	4-8	32	32-48	8	8

A molekuláris epidemiológiai vizsgálatok feltárták, hogy a különböző járványokat különböző klónok okozták (Mikrobiológiai körlevél 4. évf./3.). Az azonos ESBL-típust hordozó járványtörzsek közös jellemzője egyedül az volt, hogy mindegyik hordozott egy hozzávetőlegesen 94 kb nagyságú konjugatív plazmidot, mely az ESBL-gén mellett az aminoglikozid és tetraciklin rezisztenciáért felelős gént is hordozta. A különböző járványtörzsek transzkonjugánsaiból izolált plazmidok restriktációs mintázata alapján kiderült, hogy nagyon hasonló vagy teljesen azonos plazmiddal rendelkeztek. Következésképpen a viszonylag rövid időintervallumban (21 hónap) megjelenő járványokat vélhetően epidémiás R-plazmid terjedése okozhatta.

A 2003. év folyamán néhány ritka antibiogram képet adó, nem SHV-típusú ESBL-termelő *Klebsiella pneumoniae* törzs is érkezett laboratóriumunkba megerősítő vizsgálatra. Közös jellemzőjük volt, hogy in vitro a 3. és a 4. generációs cefalosporinok mellett, bizonyos aminoglikozidokkal (egy törzs kivételével), tetracyclinnel és ciprofloxacinnal szemben is rezisztensek, de sumetrolimra érzékenyek voltak. A 3. táblázatban a törzsek β-laktám, míg a 4. táblázatban egyéb csoportokba tartozó antibiotikumok MIC értékei láthatók.

ESBL-típus	MIC (µg/ml)							
	ceftazidim		cefotaxim		Cefepim		Imipenem	
	MIC ₅₀	Inter-vallum	MIC ₅₀	Inter-vallum	MIC ₅₀	Interv-allum	MIC ₅₀	Inter-vallum
CTX-M-15	64	48-96	>256	>256	>32	24->32	0,25	0,25

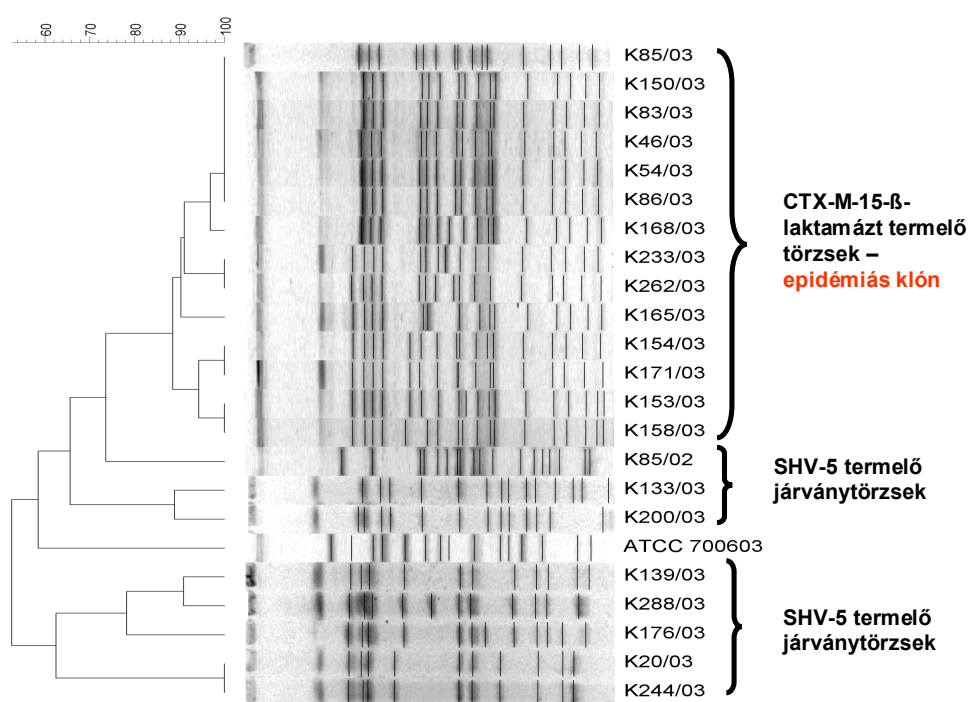
ESBL-típus	MIC (µg/ml)							
	Gentamicin		Amikacin		Tetracyclin		Ciprofloxacín	
	MIC ₅₀	Inter-vallum	MIC ₅₀	Inter-vallum	MIC ₅₀	Interv-allum	MIC ₅₀	Inter-vallum
CTX-M-15	96	1-128	4	2-8	>256	>256	>32	24->32

A beérkezett 15 törzs mindegyike CTX-M-15 típusú ESBL-gént hordozott. Az európai előfordulásról megjelent publikációkban a CTX-M-2,-3,-14-t találták a leggyakoribb típusoknak. A CTX-M-15 előfordulását is leírták már nyugat- és kelet-európai országokban (Anglia, Franciaország, Spanyolország, Olaszország, Románia, Bulgária, Törökország). A CTX-M-típusú ESBL-termelő törzsekre jellemző, hogy a cefotaximmal szemben sokkal jobb a hidrolitikus aktivitásuk, mint ceftazidimmal szemben, sőt in vitro ceftazidim érzékenyek is mutatkozhatnak. Néhány típusnál (CTX-M-15,-16,-27) az enzim aktív centrumában történt mutáció miatt (240. Asp→Gly) az enzimek szubsztrát-specifitása szélesedett, így in vitro ceftazidimre is rezisztenssé váltak a törzsek. A CTX-M gének a

klinikai izolátumokban általában plazmidon kódoltak (7kb-160kb), számos más rezisztencia génnel kapcsolódva.

A törzseket 5 megyében és Budapesten izolálták főleg sebváladékból (7/15) és vizeletből (3/15). A fertőzött betegek intenzív osztályon (7/15), sebészetben (3/15), belgyógyászatban (2/15), traumatológián (1/15), urológián (1/15) és nephrológián (1/15) feküdtek. A közös jellemzők (antibiogram, hasonló osztály, azonos klinikai minta, CTX-M-15 hordozás) arra utaltak, hogy összefüggés lehet az egyes izolátumok között, bár térben és időben különböző helyekről származtak.

A rezisztencia vizsgálatokkal párhuzamosan a törzsek molekuláris-epidemiológiai tipizálása is megtörtént. Az első lépésként elvégzett fágtipizálás eredménye is mutatta, hogy a törzsek az addig beküldött ESBL-termelő *K. pneumoniae* izolátumoktól eltértek, mivel két ritka, de egymással rokon fágtípust mutattak: XIA és IA. Az ERIC2-PCR alapján egy típusba tartoztak, és a PFGE vizsgálatának eredménye alapján egy klón alkottak, mely jól elkülönült a többi 2002-2003-ban izolált ESBL-termelő *K. pneumoniae* járványtörzstől (1. ábra). Tehát a CTX-M-15 termelő törzsek minden jellemzője azt mutatta, hogy genetikailag közeli rokonságban állnak egymással.



1. ábra CTX-M-15 és SHV-5-típusú ESBL-termelő *K. pneumoniae* törzsek PFGE profiljának cluster analízise

A törzsekkel elvégzett konjugációs kísérletek eredményeiből kiderült, hogy minden törzsben egy ~137 kb plazmid hordozta a CTX-M-15 gént, az aminoglikozid (egy törzs kivételével) és tetracyclin rezisztencia-markerekkel együtt. Ezeknek a plazmidoknak a restriktációs mintázata nagy hasonlóságot mutatott, a kisebb eltérések jellemzőek voltak az izolálás helyére és idejére. A vizsgálati eredményeink alapján kimondható, hogy 2003-ban egy **CTX-M-15-termelő, multirezisztens *K. pneumoniae* epidémiás klón (KP-EK)** jelent meg és kezdett terjedni Magyarországon.

Növekszik-e ezen multirezisztens *K. pneumoniae* törzsek által okozott infekciók száma? Mennyire jelentős a klón előfordulása nozokómiális fertőzésekben? A kérdések megválaszolására folyamatosan figyeltük a klón esetleges terjedését. Az OEK-be beérkező törzsek alapján, 2004-ben úgy tűnt, hogy a terjedés megállt, mivel egész évben a megerősítésre küldött törzsek közül csak 3 tartozott ehhez az epidémiás klónhoz. Azonban 2005. májusában a CTX-M-15 típusú ESBL-termelő *K. pneumoniae* izolátumok száma ugrásszerűen megemelkedett és a tipizálási eredmények alapján a legtöbb a 2003-ban izolált törzsekkel azonos klónba (KP-EK) tartozónak bizonyult. A törzs elsősorban Budapesten és Fejér megyében okozott eddig számos megbetegedést és 2 járványt, több halálesettel. 2005. júniusig Budapesten 11 kórházból, valamint 4 megye 5 kórházából, összesen 56 betegből izolált törzs tartozott az epidémiás klónhoz. A nagyszámú vizeletből izolált törzs mellett (32%), különösen aggasztó, hogy megnőtt a hemokultúrából (16%) és sebváladékból izolált törzsek száma is. Az érintett osztályok hasonlóak voltak, mint a 2003. évi esetekben: intenzív osztály (18/56), sebészet (6/56), traumatológia (3/56), belgyógyászat (3/56). A törzs sajnos már egy kórház gyermek-csecsemő osztályán is okozott esethalmozódást (5/56). Az intenzív osztályokon ápolt bakteriaemiás betegek közül nem egy exitált; annak megítélésében viszont, hogy a letalításban a KP-EK-nek mennyiben volt szerepe, a kórlefolyás ismerete és a klinikussal való konzultáció reményeink szerint segíteni fog.

Összeállította: Tóth Ákos¹, Damjanova Ivelina dr.²

OEK ¹Bakteriológia I. és ²Fágtipizálási és Molekuláris Epidemiológiai osztály

Metallo- β -laktamáz (MBL) termelő *Pseudomonas aeruginosa* törzsek halmozott előfordulása hazai kórházi osztályokon 2005-ben

A metallo- β -laktamázok (MBL) klinikai és járványügyi jelentőségét a Mikrobiológiai Körlevél 2003. 3. évfolyam 4. számában foglaltuk össze. Azóta megjelent fontos nemzetközi közlemények szerint Olaszországban a Trieszti Egyetemi Kórházban 1999-ben sporadikusan megjelent MBL terlemlő izolátumok 2001-re endemikussá váltak, és az imipenem rezisztens *P. aeruginosa* 70%-a MBL termelő lett (1). Koreában már a kórházak 68%-ban van jelen MBL pozitív *P. aeruginosa* (2), és Franciaországban is országsszerte izolálnak ilyen törzseket (3).

Az első ismert hazai izolálás (2002. 08. 26) óta az OEK Bakteriológia I. osztályra beküldött, klinikai anyagból izolált multirezisztens *Pseudomonas aeruginosa* törzsek között eddig összesen 29 MBL termelő volt. Ezek kettő budapesti és négy vidéki kórházból származtak. 2005 április-július során két vidéki kórház 7 betegéből 16 MBL termelő izolátumot azonosítottunk, ugyanezen időszakban, egy budapesti kórházban 4 beteg klinikai anyagából izoláltak MBL pozitív törzset.

A kórházi környezet mint rezervoár valamennyi esetben bizonyítást nyert. Az összesen hat MBL pozitív környezeti izolátum forrása kacsá, ágytál, csaptelep, zuhanytálca illetve csaptelep közelében levő, gyakran nedves felület volt. A kórházhygiénés szűrés során ajánlott a piperacillin-tazobactam (esetleg más β -laktám) tartalmú dúsító használata, ahol a dúsító antibiotikum koncentrációját a beteganyagból izolált törzs MIC értékének ismeretében kell meghatározni.

A hazai MBL termelő *P. aeruginosa* törzsek (az aztreonam esetleges kivételével, melyet nem hidrolizál az enzim) egyik β -laktám antibiotikumra sem érzékenyek. Intermedierek lehetnek a rezisztencia ceftazidim illetve piperacillin/tazobactam esetében. Néhány hazai izolátum MIC értékeit az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat Egyes antibiotikumok MIC értékei MBL-termelő *P. aeruginosa* izolátumok esetében

Vizsgálati Anyag	IMIPENEM	MEROPENEM	AZTREONAM	CEFTAZIDIME	CEFEPIME	PIP / TAZO	GENTAMICIN	AMIKACIN	CIPROFLOX.
vizelet	32	>32	32	>256	>256	>256	6	24	>32
vizelet	>256	>32	6	>256	>256	>256	>256	>256	>32
haemokult.	>32	>32	4	>256	>256	>256	>256	8	>32
trachea	>32	>32	32	>256	>256	>256	64	>256	>32
sebváladék	>32	>32	2	16	32	32	24	>256	>32

A 2005 során először megfigyelt halmozott előfordulások felhívják a figyelmet a MBL termelő *P. aeruginosa* endemikussá válásának illetve a további hazai elterjedésének veszélyére. Az OEK által igazoltan MBL termelő izolátumok kórházhygiénés szempontból azonos megítélés alá esnek, mint az MRSA, ESBL és VRE.

Kérjük valamennyi laboratóriumot, hogy a β -laktámokra multirezisztens *P. aeruginosa* izolátumokat küldjék be további vizsgálatra az OEK Bakteriológia I. osztályára. Az imipenemre és/vagy ceftazidimre érzékeny törzseket nem kérjük beküldeni.

Irodalom:

1. Lagatolla C, Tonin EA, Monti-Bragadin C, Dolzani L, Gombac F, Bearzi C, Edalucci E, Gionechetti F, Rossolini GM. Endemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with acquired metallo-beta-lactamase determinants in European hospital. *Emerg Infect Dis.* 2004 Mar;10(3):535-8.
2. Lee K, Ha GY, Shin BM, Kim JJ, Kang JO, Jang SJ, Yong D, Chong Y; Korean Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance (KONSAR) group. Metallo-beta-lactamase-producing Gram-negative bacilli in Korean Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance group hospitals in 2003: continued prevalence of VIM-producing *Pseudomonas spp.* and increase of IMP-producing *Acinetobacter spp.* *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004 Sep;50(1):51-8.
3. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev.* 2005 Apr;18(2):306-25.

Összeállította: Libisch Balázs, dr Gacs Mária, dr Füzi Miklós
OEK Bakteriológia I. osztály

Változások az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok területén a 2005 évi CLSI/NCCLS M100-S15 alapján

1. Általános változások

- Az inkubációs hőmérséklet a *Staphylococcus spp.* esetében: 33-35 °C (ne haladja meg a 35 °C-ot). Minden más esetben 35 °C ± 2 °C.
- Két újabb antibiotikum a **daptomycin** és a **telithromycinre** vonatkozóan a CLSI / NCCLS M100-S15 megadja, hogy milyen kórokozók esetében indokolt vizsgálatuk és az antibiotikum érzékenységi eredmény közlése.

A **daptomycint** *Staphylococcus aureus*, A, B, C, G, csop. *Streptococcus*, és vancomycin érzékeny *Enterococcus faecalis* okozta komplikált bőr infekciók esetében javasolt alkalmazni.

Daptomycin breakpontok

	érzékeny	mérsékelt	rezisztens
<i>Staphylococcus spp.</i>			
korongdiffúzió 30 µg (mm)	≥ 16	-	-
MIC (µg/ml)	≤ 1	-	-
<i>Enterococcus spp.</i>			
korongdiffúzió 30 µg (mm)	≥ 11	-	-
MIC (µg/ml)	≤ 4	-	-

Mérsékelt és rezisztens eredmény a táblázatban nem szerepel, mivel a meghatározás során hibák előfordulhatnak. Néhány esetben a korongdiffúziós vizsgálat érzékeny eredménye mellett is előfordulhat klinikai hatástalanság.

A **telithromycin** *Streptococcus pneumoniae* (multirezisztens, macrolid rezisztens is), *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* okozta bronchitis, sinusitis, közösségben szerzett pneumonia és *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* okozta pneumonia, *S. aureus* okozta sinusitis esetében, lehet hatékony.

A CLSI/NCCLS telithromycinre nem ad meg breakpont értékeket, mivel a vizsgálati eredmények egyes esetekben nem megbízhatóak, csak empirikus terápiára ajánlja.

2. Változások a Gram- negatív baktériumok területén

A *Proteus mirabilis* ESBL vizsgálata

A vizsgálat elvégzése elsősorban normálisan steril testtájékokról származó mintákból és nosocomialis járványokból izolált törzsek esetében javasolt.

A *Proteus mirabilis* ESBL screen-teszt

antibiotikum	korong screen (mm)	MIC-screen (µg/ml)
cefpodoxim	≤ 17	≥ 2*
ceftazidim	≤ 22	≥ 2
aztreonam	NA	NA
cefotaxim	≤ 27	≥ 2
ceftriaxon	NA	NA

* csak a *P.mirabilis* esetében (*E.coli* és *Klebsiella spp.*-nél ≥ 8 µg/ml)

NA: nem alkalmazandó

Schwaber et. al. JCM 2004.42:294

Quality control (QC) vizsgálatokat szükséges elvégezni az ESBL termelés kimutatása esetében is. A kontroll törzsek:

Klebsiella pneumoniae ATCC 700603*

Escherichia coli ATCC 25922

*az ESBL gén plazmidon van, így a törzset -60° C-on, vagy ez alatt kell tárolni.

Egyre gyakrabban okoz gondot a **Gram-negatív nem-fermentálók** elsősorban a *Pseudomonas aeruginosa* izolátumok körében előforduló panrezisztencia, amikor csak **polymyxin B**-re látszik érzékenynek a törzs. Ez utóbbi érzékenységi vizsgálatára vonatkozó szabályokat a CLSI/NCCLS 2005 az alábbiakban foglalja össze:

Colistin/ Polymyxin -B vizsgálat

MIC és korongdiffúziós QC vizsgálat szükséges

- MIC breakpointok csak polymyxin B esetében vizsgálandók

Polymyxin B MIC eredményből megítélhető a colistin MIC értéke:

- $S \leq 2 \mu\text{g/ml}$; $R \geq 4 \mu\text{g/ml}$
- A klinikussal közölhető, hogy a polymyxin B eredmény érvényes a colistinre is
- A korongdiffúziós eredmény néhány rezisztens izolátum esetében felvetheti a hibás meghatározás lehetőségét (elsősorban *S. maltophilia* és *Acinetobacter spp.* esetében)
- A *Pseudomonas aeruginosa* ritkán rezisztens

Neisseria meningitidis esetében standardnak a MIC vizsgálat tekinthető

A korongdiffúziós vizsgálatához:

- Inokulum: a telepek direkt szuszpenziója 24 órás csokoládé agarról.
- Inkubálás: 35 °C; CO₂; 20-24h.
- A munka BSL 2 szintet igényel, biohazard box szükséges!

Neisseria meningitidis érzékenységi vizsgálatát terápiás célból az alábbi antibiotikumokra kell elvégezni:

Terápiás szerek:

- penicillin
- ampicillin
- cefotaxim
- ceftriaxon
- meropenem
- chloramphenicol

Az alábbi felsorolt antibiotikumok breakpontjait csak a meningococcusos esetek kontaktjainak profilaxisa céljából kell meghatározni:

Profilaktikus szerek:

- azithromycin
- ciprofloxacín
- levofloxacín
- rifampin
- trimetoprim-sulfametoxazole

Nagyon ritka a β -laktamáz termelő izolátum

A penicillin mérsékelt vagy rezisztens törzsek esetében, a rezisztencia mechanizmusa általában a PBP változás. Ezekben az esetekben a széles spektrumú cefalosporinok MIC értéke alacsony marad.

A profilaktikusan használt szerek közül a szulfonamidokkal szemben gyakori, a ciprofloxacinnal szemben ritka, a rifampicinnel szemben nem gyakori a rezisztencia.

3. Változások a Gram-pozitív baktériumok területén

A 2005. évi CLSI /NCCLS M100-S15 összefoglalja, és egyértelművé teszi a laboratóriumok számára az oxacillin rezisztens staphylococcusok vizsgálatát.

A *mecA* a genetikai determinánsa a „klasszikus” oxacillin rezisztenciának az MRSA és MRCoNS (methicillin rezisztens coagulase-negatív staphylococcus) törzsekben.

A *mecA* kódolja a PBP2a-t, amely felelős az oxacillin rezisztenciáért

A *mecA* vagy a PBP2a kimutatására végzett vizsgálatokkal detektálható a klasszikus oxacillin rezisztencia

Ritka az olyan oxacillin rezisztens *Staphylococcus* spp.(nem klasszikus), amely *mecA* vagy PBP2a negatív.

Fenotipusos vizsgálatok a staphylococcusok *mecA* – közvetítette rezisztenciájának kimutatására:

- Korongdiffúzió – vizsgálat 30 μ g-os cefoxitin koronggal (CX DD)
 - *S. aureus* esetében az eredmény összevethető az oxacillin koronggal (OX DD) kapott eredménnyel
 - koaguláz-negatív *Staphylococcus* esetében az eredmény jobb, mint az OX DD
 - a cefoxitin gátlási zóna méretének leolvasása könnyebb, mint az oxacilliné
 - oxacillin eredményt adjunk ki, ne cefoxitint A MIC vizsgálata oxacillinnel történik

A cefoxitin koronggal végzett vizsgálatok értékelése

	Cefoxitin zóna átmérő (mm)	
	rezisztens	érzékeny
<i>Staphylococcus aureus</i>	≤ 19	≥ 20
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	≤ 19	≥ 20
Koaguláz-negatív <i>Staphylococcus</i>	≤ 24	≥ 25

A cefoxitin használata jobb, mint az oxacilliné, mivel a *mecA* magasabb szinten „fejeződik ki” cefoxitin jelenlétében.

Staphylococcus spp.- oxacillin MIC

	MIC (µg/ml)	
	érzékeny	rezisztens
<i>Staphylococcus aureus</i>	≤ 2	≥ 4
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	≤ 2	≥ 4
Koaguláz-negatív <i>Staphylococcus</i>	≤ 0,25	≥ 0,5

A *S. aureus mecA* közvetítette rezisztenciájának kimutatására végzett vizsgálatok szenzitivitása és specifitása:

Szenzitivitás

OX MIC=	OX DD=	CX DD=	PBP2a=	<i>mecA</i>
99%	98%	98%	100%	

Specifitás

OX MIC=	OX DD=	CX DD=	PBP2a=	<i>mecA</i>
100%	99%	100%	100%	

A koaguláz-negatív *Staphylococcus spp. mecA* közvetítette rezisztenciájának kimutatására végzett vizsgálatok szenzitivitása/specifitása:

Szenzitivitás

OX MIC=	OX DD=	CX DD=	PBP2a=	<i>mecA</i>
99%	99%	98%	100%	

Specifitás

OX MIC=	OX DD=	CX DD=	PBP2a=	<i>mecA</i>
61%	67%	96%	94%	

A *Staphylococcus lugdunensis* jellemzői:

- koaguláz:
 - lemez-koaguláz: pozitív vagy negatív
 - cső-koaguláz: negatív
- ornithine decarboxylase: pozitív
- PYR: pozitív
- Penicillin: érzékeny

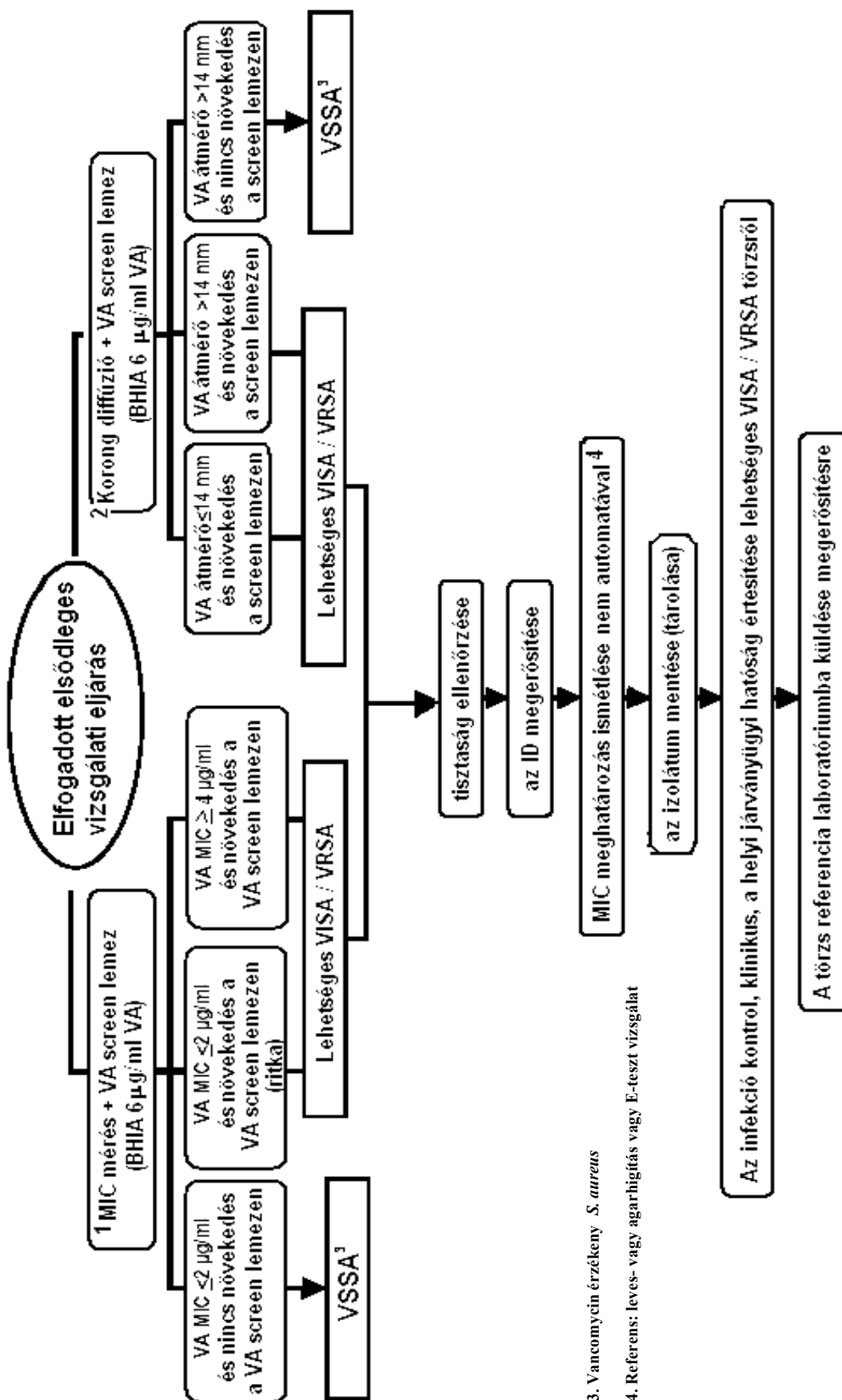
Amennyiben oxacillin rezisztens a törzs, az érzékeny kategóriába eső penicillint is rezisztensnek kell interpretálni.

A **glikopeptidekkel szembeni rezisztencia** korrekt vizsgálata a *Staphylococcus spp.* esetében ugyanolyan fontos, mint az *E. faecalis* és az *E. faecium* törzseknél.

(Az alábbiak csak a *Staphylococcus spp.*-re vonatkoznak)

A korong diffúziós módszer és az automatával végzett MIC meghatározás nem ad megbízható eredményt, így a mikrohígításos leves, vagy az agarhígításos eljárás alkalmazható, az E-tesztel való MIC meghatározás mellett. Az **E-teszt vizsgálatot 0,5 McFarland sűrűségű inokulummal, Mueller-Hinton táptalajon, 24 órás inkubációval kell végezni.**

A *Staphylococcus aureus* vancomycin érzékenységének vizsgálati menete



3. Vancomycin érzékeny *S. aureus*

4. Referens: leves- vagy agarhígítás vagy E-teszt vizsgálat

Kérjük a laboratóriumokat, amennyiben vancomycin > 4 µg/ml MIC értékű *S. aureus*-t izolálnak, csak a VISA gyanút közölgjék a beküldővel, s küldjék a törzset az OEK Bakteriológia I. osztályára megerősítésre.

A staphylococcusok esetében megváltoztak a flouroquinolonok breakpontjai.

	RÉGI			ÚJ		
	érzékeny	mérsékelt	rezisztens	érzékeny	mérsékelt	rezisztens
ciprofloxacín	≤ 1	2	≥ 4	Nincs változás		
gatifloxacín	≤ 2	4	≥ 8	≤ 0,5	1	≥ 2
levofloxacín	≤ 2	4	≥ 8	≤ 1	2	≥ 4
moxifloxacín	none			≤ 0,5	1	≥ 2

A *Streptococcus pneumoniae* érzékenységi vizsgálatában annyi változás történt, hogy a gatifloxacín, levofloxacín és moxifloxacín közti „or” szót törölték, mindegyik flouroquinolon érzékenységét külön meg kell határozni.

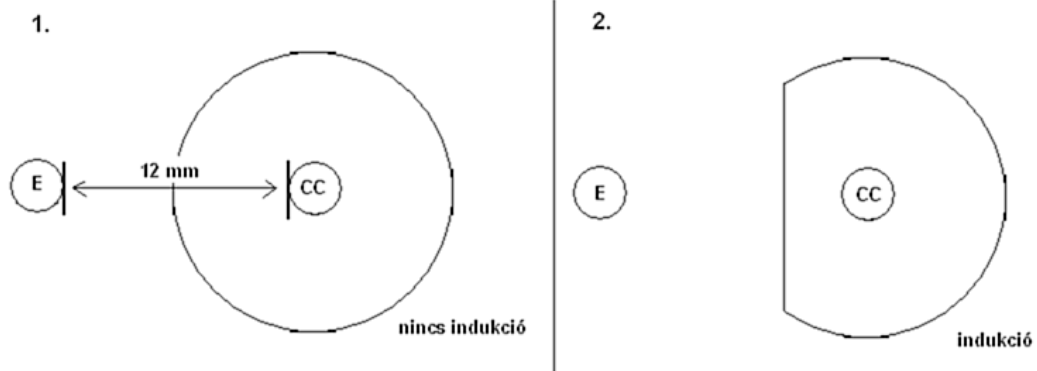
A **β**-haemolizáló *Streptococcus* erythromycin/clindamycin érzékenységi vizsgálatokor figyelembe kell venni a *Staphylococcus* spp. esetében, a Mikrobiológiai Körlevél előző számában már leírt indukálható clindamycin rezisztenciát.

β-hemolizáló *Streptococcus* spp. erythromycin/clindamycin

mechanizmus	meghatározó gén	erythromycin	clindamycin
Efflux	<i>mef</i>	R	S
Riboszóma módosulás	<i>erm</i>	R	S**
Riboszóma módosulás	<i>erm</i>	R	R constitutive

**Szükséges a D zóna-teszt elvégzése

A β-haemolizáló *Streptococcus* spp. indukálható clindamycin rezisztenciának gyakorlati jelentősége leginkább a terhes nők B csop. *Streptococcus* szűrése alapján végzett antibiotikum profilaxis esetében van. Ugyan a profilaxist penicillin vagy ampicillinnel, esetleg enyhébb penicillin allergia esetén cefazolinnal végzik, de súlyosabb allergia veszélyekor felmerül az erythromycin, clindamycin használatának szükségessége. Amennyiben erythromycin rezisztens és clindamycin érzékeny a törzs, el kell végezni a „D zóna tesztet”, s ha indukció látható, a törzs clindamycinre is rezisztens.



Rutin korong diffúziós vizsgálata:
2 μ g clindamycin korong szélétől 12 mm-re 15 μ g
erythromycin korong

A 2005 évi CLSI/NCCLS M 100 S15 újonnan forgalomba kerülő antibiotikumokról is beszámol:

Janet Hindler összeállítása alapján készítette: Gacs Mária dr., Tirczka Tamás
OEK, Bakteriológia I. osztály

Az antifungális terápia és az antimikotikum rezisztencia aktuális kérdései

A gombás betegségek antifungális terápiáját még napjainkban is sok probléma jellemzi.

- Csak nagyon kevés gombaellenes szer áll rendelkezésre.
- A szerek nemcsak a gombasejtekre, hanem a humán sejtekre is hatnak, ami nemkívánatos mellékhatásokat eredményez.
- A gombasejtek nagy biokémiai és genetikai változékonysággal rendelkeznek, ami rezisztencia kialakulásához vezethet.
- Az antifungális terápia a súlyos immunhiánnyal járó betegségben szenvedőknél a legfontosabb, de a hatás éppen ezekben az esetekben a legkevésbé előrelátható.
- A kevésbé toxikus azol származékok fungisztatikus hatásúak, ami a terápia sikerességét kedvezőtlenül befolyásolhatja.
- Újabban egyre több, eddig nem ismert opportunistá patogén gombafaj jelenik meg kórokozóként, melyeknek az antifungális érzékenysége többnyire ismeretlen.

A gondok enyhítésére a terápiában és az antifungális szerek alkalmazásában új irányvonalak kezdtek körvonalazódni az elmúlt időszakban, melyek célja minimalizálni a rezisztencia kialakulásának kockázatát és csökkenteni a toxikus mellékhatásokat.

Mindezek érdekében a szerek adagolásában vezettek be változásokat (profilaxis, célzott terápia, időtartam, mód, dózis), új hatékonyabb szerek kifejlesztésére indultak széleskörű kutatások. Így, számos új vegyület és formula készült el, és bizonyult hatásosnak. Az új vegyületek (voriconazol, posaconazol, ravuconazol) és új formulák (liposzómás AmB, Nys) bevezetése mellett, a hatékonyság és a rezisztencia kérdés megoldására új támadáspontok felé is irányult a figyelem (béta1-3 glukán szintézis: echinocandin, kitin szintézis: caspofungin, multidrug efflux pumpa). Az új szerek többsége azonban még a klinikai kipróbálás szakaszában van.

A már alkalmazottak közül az új triazol származék a voriconazol (Vfend) tűnik terápiás szempontból a legígéretesebbnek.

A ma még általánosan alkalmazott antifungális szerek két nagy csoportot képviselnek, a polién vegyületek és az azol származékok. Mindkét csoport fő támadáspontja a sejtmembrán ergoszterin tartalma. Az ergoszterin a gomba sejtmembrán fő szterin komponense, biztosítja a membrán fluiditását és egy sor membránkötött enzim működését is támogatja (pl. kitinszintetáz)

A POLIÉNEK (amphotericin B) az ergoszterinhez kötődve károsítják a membránfunkciókat (ionok és más kis molekulák kiáramlása a sejtéből), ezzel fungicid hatást érnek el. Az AZOLOK (fluconazol, voriconazol, itraconazol, ketoconazol) az ergoszterinszintézis biokémiai gátlását okozzák (14-alfa demetiláz - citokróm P450), ami fungisztatikus hatást eredményez.

A fungicid hatással szemben a rezisztencia kialakulására kisebb az esély, ezzel szemben a fungisztatikus hatású azolokkal szemben a gombasejtek változatos rezisztencia mechanizmusokat fejlesztenek ki.

Azol rezisztencia alapja lehet belső eredetű, veleszületett módosulás a

- A cél enzim szerkezetében
- Membrán összetételében (hidrofóbicitás)
- Membrán szerkezetében, enzimaktivitásában

- Bizonyos transzport rendszerek meglétében

A rezisztencia kialakulás gyakoribb módja, hogy genetikai változások indukálódnak:

- Tranziens génexpresszió (efflux) ABC transzporter (cdr1, cdr2)
- Major facilitator (mdr)
- Pontmutáció, overexpresszió,
- gén amplifikáció /célenzim/ (erg11)
- Biokémiai változások: más bioszintézis útvonal
- Azolok intracelluláris módosítása, lebontása

A sokféle rezisztencia mechanizmus következtében is a különböző gombafajok változatos érzékenységet mutatnak az antimikotikumokkal szemben. (1. ábra)

	FLU	ITR	VOR	AMB
Érzékeny fajok	<i>Candida spp.</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> Dimorf gombák	<i>Candida spp.</i> Dermatofytonok, Dimorf gombák	<i>Candida spp.</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Fusarium spp.</i>	<i>Candida spp.</i> Dimorf gombák, Penészgombák, <i>Aspergillus spp.</i> <i>Zygomycetes</i> , <i>Mucor spp.</i>
Csökkent érzékenységű fajok			<i>C. tropicalis</i> <i>Fusarium spp.</i>	<i>C. parapsilosis</i> , <i>C. lypholitica</i> , <i>C. lusitaniae</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. guilliermondii</i> , <i>Fusarium spp.</i>
Rezisztenciát mutató fajok	<i>C. krusei</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>Aspergillus spp.</i> <i>Zygomycetes</i> <i>Mucor spp.</i> Egyéb penész gombák	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Fusarium spp.</i> <i>Zygomycetes</i>	<i>Zygomycetes</i> , <i>Mucor spp.</i>	<i>Aspergillus terreus</i> , Egyes <i>Fusarium</i> fajok, <i>Trichosporon beigelii</i>

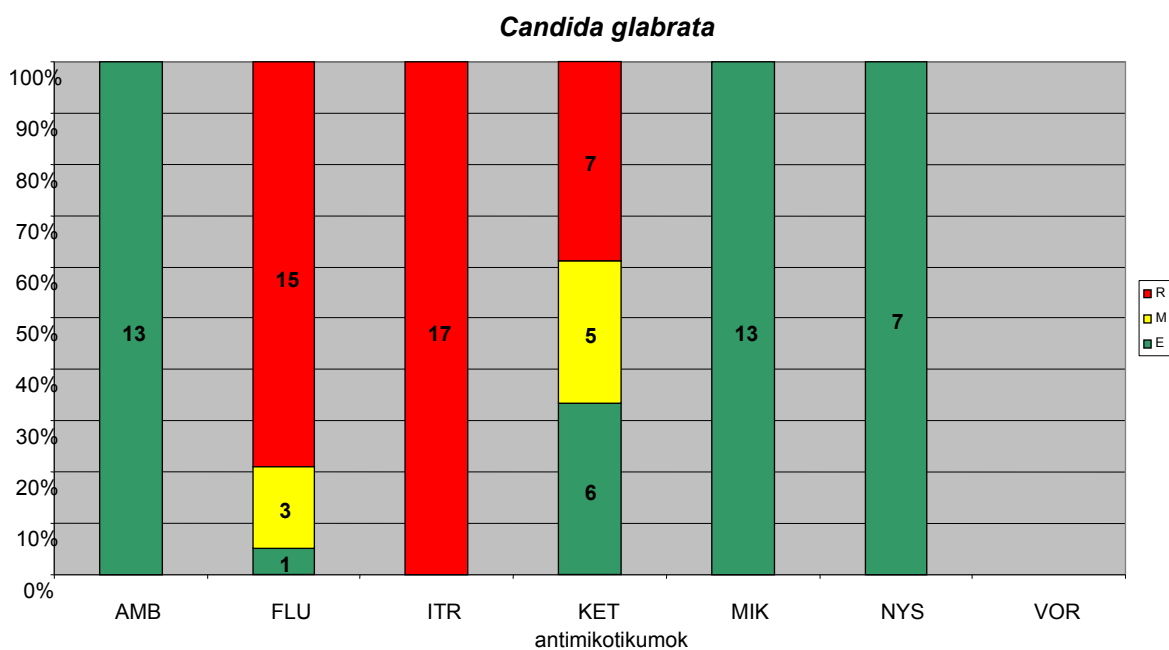
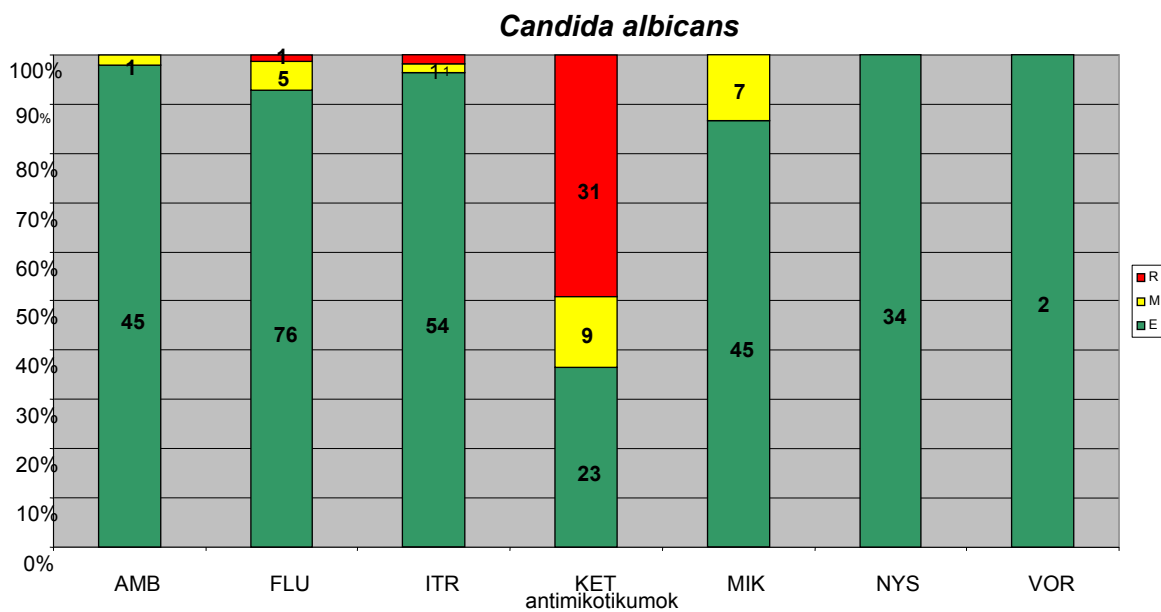
1. ábra

Az antimikotikumokkal szembeni érzékenység laboratóriumi vizsgálatára a MIC érték meghatározás a legalkalmasabb. E-test-tel vizsgálva, a MIC értékek megoszlása alapján az alábbi (2. ábra) értékelési séma alakult ki.

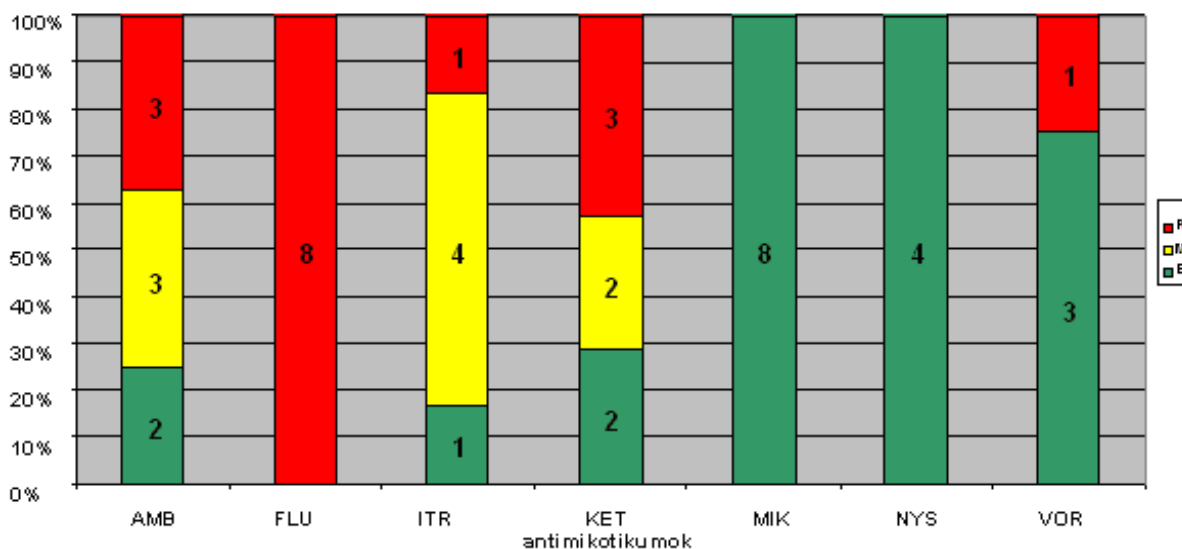
MIC (µg/ml) E-test	érzékeny	mérsékelten érzékeny	rezisztens
Fluconazol	0 - 4	4 – 8 (8 -32)	> 8 (> 64)
Itraconazol / voriconazol	0 – 0,1	0,1 - 1	> 1
Amphotericin B	0 - 1	1 - 2	> 2

2. ábra

A 2003-2005 évek vizsgálati eredményeit figyelembe véve egyes gombafajok érzékenységi megoszlásait mutatják a következő ábrák.



Candida krusei



Az ábrák és az eredmények tanulsága alapján a voriconazollal szembeni érzékenység jól kivehető egyrészt a fluconazollal szemben rezisztens élesztőgombák - *Candida krusei*, *C. glabrata* esetében -, bár különösen ez utóbbi egyes izolátumainál ez a hatás nem volt mindig észlelhető. Jó eredmények mutatkoztak bizonyos penészgombák esetében, így az *Aspergillus fumigatus*-nál is. A *Fusarium* fajok egyre többször okoznak súlyos invazív mikózisokat, amelyek terápiájában az AmB sok esetben hatástalan volt, viszont voriconazol alkalmazása több esetben sikeresnek bizonyult.

Összegzés

Az új reménykeltő, azol származékokkal szembeni érzékenység alakulásáról és a terápia kimeneteléről további vizsgálatok szükségesek a klinikailag releváns MIC értékek, határértékek és dózisok pontosítása céljából.

Az elmúlt időszak (2003-2005) adatai alapján a beteganyagból izolált gombafajok antifungális szerekekkel szembeni érzékenysége és a terápiás megfontolások a korábbi trendektől eltéréseket mutatnak

A Fluconazol alkalmazása mellett kiszelektálódott rezisztens fajok (*C. krusei*, *C. glabrata*) által okozott mikózisok terápiájában Voriconazol jó megoldás lehet.

A Voriconazol széles körű alkalmazásával új lehetőségek nyíltak a gombainfekciók terápiájában egyes penészgombák okozta fertőzésekben (*Aspergillus fumigatus*, *Fusarium* spp.), de egyes esetekben itt is számolni kell csökkent érzékenységgel, vagy nehezebb kiértékeléssel

Az Amphotericin B-vel szemben korábban nem, vagy csak elenyésző számban mutatkozott rezisztencia, ez a tendencia a legújabb eredmények alapján változáson ment keresztül, és egyre többször izolálhatók csökkent érzékenységgű gombafajok is.

Összeállította: Zala Judit, Kiss Katalin
OEK, Mikológiai osztály