

2008. VIII. évfolyam 3. szám

Tartalom:

Elköszönő levél

Füzi Miklós

„A mobilis genetikai elemek szerepe az antibiotikum rezisztencia terjedésében” c. DRESP2 FP6 projekt keretében az Országos Epidemiológiai Központban végzett vizsgálatok eddigi eredményei

Libisch Balázs, Balogh Boglárka, Füzi Miklós

Újabb PVL-pozitív MRSA klónok megjelenése hazánkban

Ungvári Erika, Tóth Ákos és dr. Gacs Mária

ESBL-termelő *Shigella sonnei* izolálásának és további vizsgálatának tapasztalatai

Borbás Klára, Tóth Ákos, Tóth Szilárd, Szabó Zsuzsa, Herpay Mária

Új szelektív és differenciáló táptalaj az ESBL-termelő Gram-negatív kórokozók szűréséhez

Tóth Ákos

A körlevél ezen számának megjelentetését a Biomérieux Hungária Kft. támogatta

Tisztelt Kollégák, Tisztelt Olvasóink!

Engedjék meg, hogy a karácsonyi ünnepek és az új esztendő közeledtével kívánjunk minden olvasónknak sok sikert és jó egészséget.

Fogadják szeretettel Ady Endre versét.

A téli Magyarország

Magyar síkon nagy iramban át
Ha nyargal a gőzös velem
Havas, nagy téli éjjelen,
Alusznak a tanyák.

Olyan fehér és árva a sík,
Fölötte álom-éneket
Dúdolnak a hideg szelek.
Vajjon mit álmodik?

Álmodik-e, álma még maradt?
És most karácsonyra megyek,
Régi, vén, falusi gyerek.
De lelke hó alatt.

S ahogy futok síkon, telen át,
Úgy érzem, halottak vagyunk
És álom nélkül álmodunk,
Én s a magyar tanyák.

Tisztelt Kollégák, Kedves Barátaim!

Szeretném tájékoztatni Önöket, hogy az Országos Epidemiológiai Központ Bakteriológiai, Parazitológiai, Mikológiai és Tipizáló Főosztályán eltöltött több mint hét év után a közelmúltban munkahelyet változtattam. Új munkahelyemen a Semmelweis Egyetem Orvosi Mikrobiológiai Intézetében olyan alapkutatói vizsgálatokat lesz alkalmam elvégezni, amelyek inkább egyetemi, mint országos intézeti feladatnak tekinthetők.

Az OEK-ben eltöltött idő alatt munkatársaimmal együtt kapcsolatunkat mind az állami, mind a magán laboratóriumokkal igyekeztünk fenntartani és ezúton is szeretnék köszönetet mondani azért a sok segítségért, amit a kollégáktól kaptunk. Igen fontos volt, hogy valamennyi magas anyagszámmal dolgozó hazai orvosi mikrobiológiai laboratórium részt vett a Mikrobiológiai Surveillance rendszerben; rendkívül hálásak vagyunk azért a sok törzsért, amelyeket referencia és egyéb laboratóriumaink kaptak genetikai vizsgálatra. (Nagyon örültünk a Mikrobiológiai Körlevél és éves rendezvényeink népszerűségének.) Reméljük, hogy a hét éve elindított és az évek során rendszeressé vált Mikrobiológiai körlevél és az évenként tartott szakmai rendezvények segítették a kollégákat ismereteik bővítésében.

Kérem a kedves kollégákat, hogy ezentúl is támogassák az Intézetet és volt munkatársaimat feladataik ellátásában.

A további munkához jó egészséget kívánok.

Szívélyes üdvözlettel

Füzi Miklós

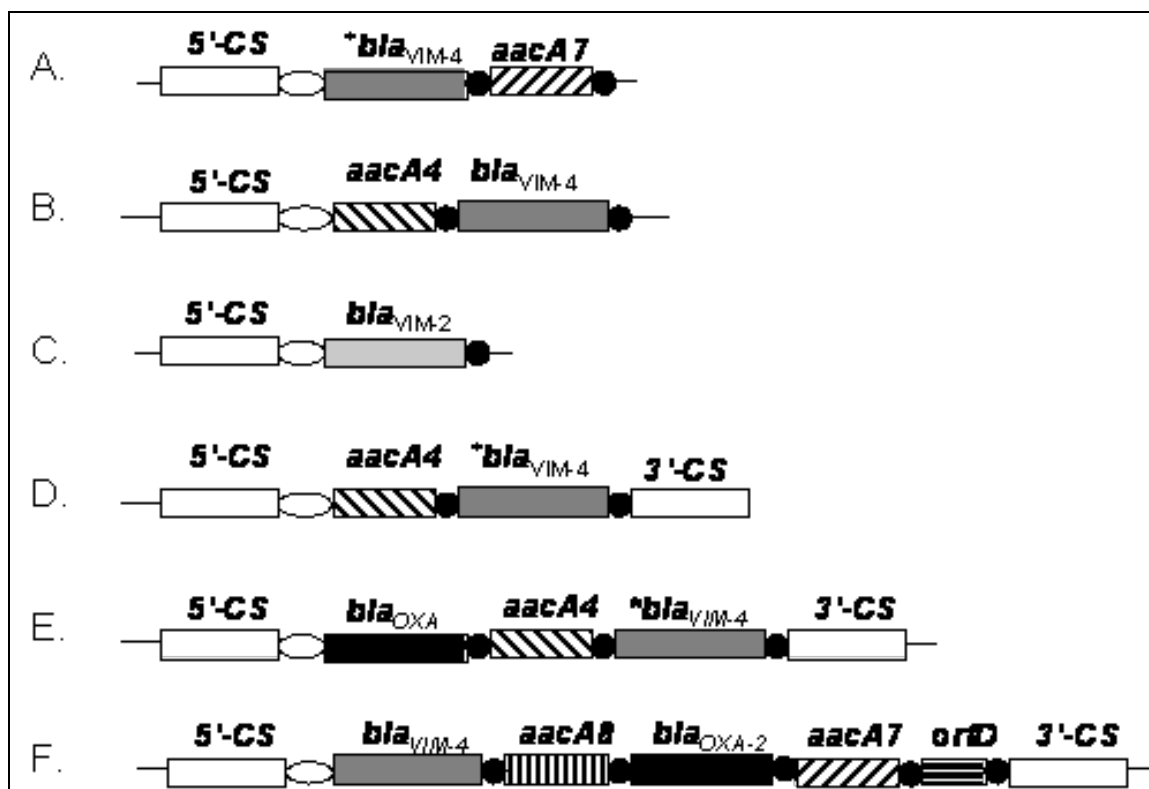
„A mobilis genetikai elemek szerepe az antibiotikum rezisztencia terjedésében” c. DRESP2 FP6 projekt keretében az Országos Epidemiológiai Központban végzett vizsgálatok eddigi eredményei Libisch Balázs, Balogh Boglárka, Füzi Miklós

Az (Országos Epidemiológiai Központ OEK) 2006 óta vesz részt partnerként az Európai Unió 6. Kutatási és technológiafejlesztési programjának keretében működő DRESP2 projektben. A projekt elsődleges célkitűzései közé tartozik a bakteriális antibiotikum-rezisztencia terjedésében szerepet játszó genetikai elemek (integronok, transzpozonok, plazmidok és más struktúrák) vizsgálata, a hordozott antibiotikum rezisztencia gének molekuláris és fenotípusos jellemzése. Az OEK e rendkívül szerteágazó témán belül elsősorban a multirezisztens *Pseudomonas* spp. izolátumok integronjai által kódolt rezisztencia mechanizmusokat vizsgálta, de hozzájárult Gram-pozitív kórokozók, mint a vancomycin-rezisztens enterococcusok és makrolid-rezisztens *Streptococcus pneumoniae* izolátumok karakterizálásához is. Ezeket az eredményeket szeretnénk az alábbiakban röviden összefoglalni.

1. Metallo- β -laktamáz (MBL) termelő hazai *Pseudomonas* spp. izolátumok

A MBL-termelő hazai *Pseudomonas* spp. izolátumok azonosításával intézetünk 2003 óta foglalkozik. E tevékenységet az MBL-pozitív izolátumok világszerte megfigyelt terjedése és a hozzá kapcsolódó multirezisztens, illetve gyakran panrezisztens fenotípus indokolja (1). A MBL laboratórium vizsgálatai alapján megállapíthatjuk, hogy a törzsek beküldésében részt vevő laboratóriumok körében az MBL termelő izolátumok aránya a dél-európai országokkal vagy több Európán kívüli országgal összehasonlítva alacsony, az összes klinikai izolátum kevesebb, mint 1 %-a (2). Az MBL-termelő izolátumok relatív alacsony előfordulása nagyobb lehetőséget biztosít az esetleges sporadikus megjelenés esetén az infekció-kontroll intézkedések hatékony alkalmazására. A DRESP2 projekt során végzett részletes vizsgálataink feltárták, hogy a MBL géneket hordozó hazai integronok nagy variabilitást mutatnak szerkezetükben, ami több különböző, részben lokális, azaz hazai gén pool (reservoir) jelenlétére utal (3). Egyes betegekből már a kórházba való felvétel napján izolálható volt MBL-pozitív törzs, ami a közösségben való hordozás lehetőségét veti fel. Azokban a kórházakban, ahol legalább egy alkalommal azonosítottunk ilyen izolátumot, szinte valamennyi esetben később, akár évek múlva is megjelentek klinikai vagy környezeti mintákban. Multilokus szekvencia tipizálással (MLST) kimutattuk, hogy az MBL-pozitív hazai *P. aeruginosa* törzsek körülbelül 80%-a két nagy, európai elterjedésű, O11 illetve O12 szerotípusú klónban sorolható (3). Ezeket a vizsgálatokat a Hôpital Général Rodez kórházzal (Rodez, Franciaország) együttműködésben végeztük.

Az MBL-gént hordozó integron egy esetben (1. ábra, integron D), egy Gyulán izolált O11-es szerotípusú izolátum esetében *in vitro* konjugálható volt egy *P. putida* recipiens törzsbe, ami a horizontális terjedés lehetőségét bizonyítja. Egy O12-es szerotípusú pécsi izolátum esetén pedig egy *in vitro* nem konjugálható plazmidon helyezkedett el ugyanez az integron.



1. ábra. Hazai *P. aeruginosa* izolátumokban azonosított MBL-gént hordozó integronok.

A * jel egy 170 bp-os duplikációt jelez a bla_{VIM}-típusú MBL génben. 5'-CS és 3'-CS: az integron konzervatív régiói melyek közé a szerzett rezisztencia gének integrálódnak. Az A-C integronok esetében a jellegzetes 3'-CS struktúra nincs jelen.

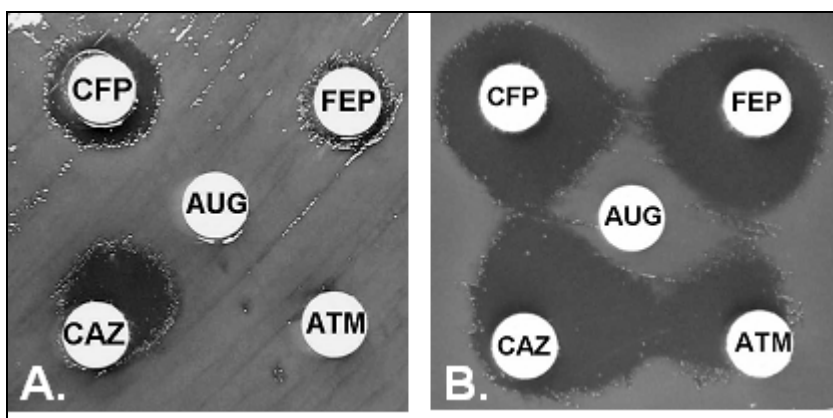
2. Az első szerzett MBL-termelő *Aeromonas hydrophila* izolátum azonosítása

A szerzett MBL gének eredete jelenleg ismeretlen, ezek feltehetően valamely környezeti baktériumból kerültek át horizontális gén-transzfer segítségével a klinikai *Pseudomonas* spp. izolátumokba. Az *Aeromonas hydrophila* növekvő klinikai jelentőségű pathogén baktérium, mely gyakran étel-eredetű fertőzések kórokozója. A legtöbb species, mely az *Aeromonas* genusba sorolható, beleértve a humán fertőzéseket okozókat is, széles környezeti elterjedtséget mutat, édesvizekben, szennyvizekben, tengerekben de ivóvízben és különböző

élelmiszerekben is. A táplálékláncba így bejutó *A. hydrophila* izolátumok kapcsolatot képezhetnek a horizontális géntranszfer során a klinikai és környezeti baktériumok között. 2005 októberében egy budapesti kórházban ápolt beteg székletéből tenyésztettek ki VIM-típusú MBL-termelő *A. hydrophila* izolátumot. A törzs rezisztens volt az aztreonam kivételével az összes β -laktám antibiotikumra, továbbá ciprofloxacinnra, polymixin B-re, tetraciklinre és tobramycinre. Ez az izolátum bizonyult világszerte az első ismert VIM-termelő *A. hydrophila* törzsnek (4). Molekuláris vizsgálataink kimutatták, hogy az izolátum ugyanazt az integront hordozza, mint a korábban Gyulán, Veszprémben, és Pécsen azonosított *P. aeruginosa* és *P. putida* törzsek (1. **Ábra**, integron D). Mindezen megfigyelések összhangban vannak azzal a feltételezésünkkel, hogy ez az integron fontos szerepet játszik a szerzett MBL génnek terjedésében horizontális transzfer útján, mind a *Pseudomonas* genuson belül, mind pedig a különböző bakteriális genusok között (3). E munkát a Department of Clinical Microbiology, Karolinska Institutet, Karolinska University Hospital (Stockholm, Svédország) intézettel együttműködésben valósítottuk meg.

3. ESBL-termelő hazai *P. aeruginosa* törzsek vizsgálata

A DRESP2 projekt során eddig több, mint 200 ceftazidim-rezisztens *P. aeruginosa* izolátumot vizsgáltunk meg fenotípusos és molekuláris módszerekkel kiterjedt-spektrumú β -laktamáz (ESBL) termelésre. Három ESBL-pozitív *P. aeruginosa* törzset azonosítottunk klasszikus fenotípusos módszerekkel (5 korong teszt, 2. **Ábra**), melyeket 2002-ben, 2005-ben és 2007-ben izoláltak sporadikus esetekből. Mindhárom törzs PER-1 típusú ESBL enzimet termel. A 2002-ben és 2005-ben izolált törzseket részletesen karakterizáltuk, és panrezisztensnek bizonyultak, beleértve a polymixin B-t és a ceftazidim/klavulánsav kombinációt is (5).



2. ábra Double Disk Synergy Test (DDST, 5 korong teszt) eredménye PER-1 ESBL termelő *P. aeruginosa* izolátumok esetén.

Mind az A mind a B törzs esetén látható a szinergizmus klavulánsavval. A: hazai izolátum, csak a CAZ korong mellett látható szinergizmus, B: szinergizmus mind a négy β -laktám korong mellett. ATM, aztreonam; AUG, amoxicillin/klavulánsav; CAZ, ceftazidim; CFP, cefoperazon; FEP, cefepim. (5).

Fontos epidemiológiai adat, hogy a 2002-ben izolált törzset egy sepsiszentgyörgyi (erdélyi) lakos orrváladékából izolálták a felvétel napján, szűrővizsgálat során, tehát egy PER-1 pozitív törzset hordozó beteget azonosítottunk. A 2005-ben és 2007-ben kitenyésztett másik két PER-1 ESBL-termelő hazai *P. aeruginosa* törzset pedig olyan betegekből izolálták, akiket közvetlenül romániai kórházi kezelést követően vettek át hazai ellátó intézményekbe, Gyulán illetve Budapesten. Egy a 18. ECCMID kongresszuson, Barcelonában bemutatott prezentáció szerint a szerzők által vizsgált romániai ceftazidim-rezisztens *P. aeruginosa* izolátumok 78 %-a (74/94) volt PER-1 ESBL pozitív (6). Mindhárom hazai PER-1 pozitív izolátum *Tn1213*-típusú transzpozonon hordozza a kódoló *bla*_{PER-1} gént, ami megegyezik a romániai vizsgálatok eredményével. Szintén közös tulajdonsága a hazai és romániai törzseknek egy *bla*_{OXA-74} és egy *bla*_{OXA-2} gén egyidejű jelenléte (6). Mindezek a megfigyelések arra utalnak, hogy a Délkelet-Európából érkező betegek esetében szűrő vizsgálatok elvégzése javasolható a felvételnélkor multirezisztens *P. aeruginosa* hordozásra, a *bla*_{PER-1} gén szélesebb körű magyarországi elterjedésének megelőzése érdekében. *In vitro* kísérletekkel kimutattuk, hogy a hazai izolátumok *Tn1213*-transzpozonon hordozott *bla*_{PER-1} génje konjugálható UWC1 *P. putida* recipiens törzsbe, ami a kórházi környezetben történő horizontális terjedés lehetőségét bizonyítja.

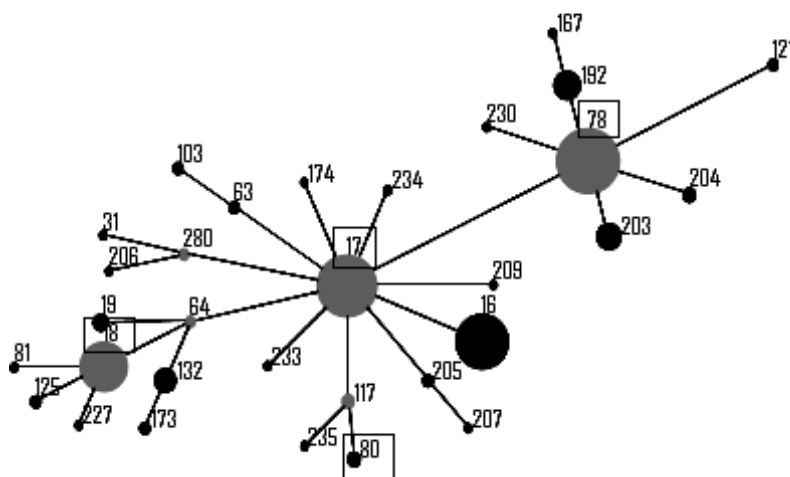
4. ESBL és MBL-negatív hazai multirezisztens *P. aeruginosa* izolátumok

A ceftazidimre, ciprofloxacinnal és gentamicinre egyidejűleg rezisztens *P. aeruginosa* izolátumok aránya Magyarországon 2006-ban illetve 2007-ben 3.0 illetve 4.1 %-volt a hazai surveillance adatok alapján. Vizsgálataink felfedték, hogy a hazai multirezisztens *P. aeruginosa* klinikai izolátumok között jelenleg nem az ESBL vagy MBL-termelés a legelterjedtebb rezisztencia mechanizmus. Ezért fenotípusos és molekuláris módszerek alkalmazásával karakterizáltunk egy magas szintű multirezisztenciát mutató, ESBL és MBL-negatív izolátumokból álló reprezentatív mintát (ceftazidim MIC \geq 32 μ g/ml, gentamicin MIC \geq 256 μ g/ml, ciprofloxacinnal MIC \geq 4 μ g/ml). E munka kimutatta két országos elterjedésű, az ország legalább 12 városában előforduló O4-es illetve O6-os szerotípusú *P. aeruginosa* klón jelenlétét Magyarországon, melyek integronon-hordozott aminoglikozid rezisztencia génekkel rendelkeznek (7). E klónok további jellemzője két különböző, a szerotípussal korreláló RAPD-

genotípus és az amikacin antibiotikumra való nagy arányú de nem teljes körű érzékenység. Az azonosított integronok terjedéséért feltehetőleg elsősorban nem a horizontális gén-transzfer, hanem a klonális terjedés a felelős.

5. Hazai és szerbiai eredetű vancomycin-rezisztens *Enterococcus* spp. (VRE) izolátumok molekuláris karakterizálása

A hazai és szerbiai eredetű VRE izolátumok karakterizálását holland partner laboratóriummal együttműködve végeztük, mely a University Medical Centre Utrecht keretében működő VRE kutató laboratórium Dr Rob Willems vezetésével. E kutatásaink során egy hazai VanB *Enterococcus faecium* okozta monoklonális járványból illetve sporadikus VanA pozitív *E. faecium* infekciókból származó izolátumokat vetettünk alá összehasonlító molekuláris analízisnek szerbiai eredetű VanA *E. faecium* izlátumokkal (8). Multilokus szekvencia tipizálással (MLST) kimutattuk, hogy valamennyi vizsgált *E. faecium* izolátum a globális elterjedésű CC17-es klonális komplexbe tartozik, mely a vancomycin-rezisztens *E. faecium* (VREF) okozta nosocomialis járványok túlnyomó többségéért felelős (3. Ábra). Bár jelenleg Magyarországon a VREF izolátumok aránya 1% alatt van az *E. faecium* klinikai izolátumok között, valamennyi karakterizált VREF izolátum fokozott járványképző potenciállal rendelkezik a CC17-es komplex speciális pathogenitási faktorai következtében (9).



3. Ábra. A CC17-es komplexhez tartozó 31 különböző szekvencia típus eBURST diagramja. A számok szekvencia típusokat (ST) jelölnek, ahol az 1 lókuszbán különböző ST-eket fekete vonal köti össze. A Magyarországon (ST17, ST78, ST80) és Szerbiában (ST17 és ST18) azonosított típusokat kerettel emeltük ki. A körök mérete az ST típus gyakoriságával arányos.

Bár mindkét országból származó VREF izolátumok a CC17-es komplexbe tartoznak szoros genetikai rokonság nem volt közöttük kimutatható az eltérő ST típusok és a jellemző vancomycin-rezisztencia típusok (VanB vs. VanA) különbözősége miatt. A vizsgálatban résztvevő belgrádi kórházban több különböző PFGE típusba sorolható VanA VREF halmozódását írtuk le, ahol a *vanA* géncsoportot két *E. gallinarum* invazív izolátumban is detektáltuk. További kísérletek igazolták a *vanA* géncsoport mobilizálhatóságát, melynek során egy *ermB* rezisztencia gén együtt konjugálódott a vancomycin-rezisztencia génekkel. Így egy lépésben több antibiotikum osztályra is rezisztens transzkonjugáns törzsek jöttek létre (8).

6. Új típusú, a *Tn916* transzpozon családba tartozó, *tetM*, *ermB*, és *mefE* géneket hordozó genetikai elem azonosítása hazai *Streptococcus pneumoniae* izolátumban

E vizsgálatokat az Istituto Superiore di Sanità intézettel (Róma, Olaszország) együttműködésben végeztük. A study kiindulópontja egy olyan 19F szerotípusba sorolható invazív *S. pneumoniae* hazai izolátum volt, melyről az OEK-ben folyó kutatások során PCR analízissel kimutattuk, hogy egyidejűleg hordozza az *ermB* és *mefE* makrolid rezisztencia géneket. A hordozó genetikai elem részletes térképezését a római laboratóriumban végezték el (10). E kísérletek felfedték, hogy a *mefE* gént az ún. *mega* genetikai elem hordozza, az *ermB* gént egy *Tn917*-típusú transzpozon, *tetM*-et pedig egy *Tn916*- típusú transzpozon. A *mega* elem és *Tn917* a *Tn916*-os transzpozon *orf6* illetve *orf9*-es génjeibe ékelődik. Így korábban már leírt genetikai elemek kombinálódásával egy új típusú összetett genetikai elem jött létre, mely három különböző antibiotikum rezisztencia gént hordoz. Ez összhangban van az izolátum multirezisztens fenotípusával, mely magas szintű rezisztenciát mutat erythromycin, clindamycin és tetraciklin antibiotikumokkal szemben (10).

7. Összefoglalás.

A fent részletezett kutatások eredményeit összefoglalva megállapíthatjuk, hogy hazai klinikai izolátumok molekuláris vizsgálatai során bizonyítottuk egy I. osztályú integron (1. ábra, integron D) szerepét egy VIM-típusú MBL gén horizontális terjedésében *P. aeruginosa*, *P. putida* és *A. hydrophila* törzsek között (3, 4). További *in vitro* kísérletekkel kimutattuk *Tn1213* transzpozonon hordozott *bla_{PER-1}* gének mobilizálhatóságát hazai *Pseudomonas* spp. izolátumok körében (5), valamint *vanA* és *ermB* gének horizontális transzferét szerbiai eredetű *Enterococcus* spp. izolátumok között (8). A horizontális gén transzfer mellett fontos szerepet játszik a klonális terjedés is az antibiotikum-rezisztens törzsek megjelenésében. Ezt PER-1 termelő *P. aeruginosa* törzseket hordozó betegek példája demonstrálja (5, 11) illetve két, országos elterjedésű, O4-es

illetve O6-os szerotípusú hazai multirezisztens *P. aeruginosa* klón azonosítása (7).

Köszönetnyilvánítás

Köszönetünket szeretnénk kifejezni az Országos Epidemiológiai Központ valamennyi munkatársának, akik közreműködésükkel, segítségükkel e vizsgálatok megvalósítását lehetővé tették, különös tekintettel a Bakteriológia I Osztály és a Fág- és Molekuláris Tipizálási Osztály dolgozóira. Szeretnénk megköszönni valamennyi laboratóriumnak a törzsek és az adatlapok beküldését. E munka elvégzését az Országos Epidemiológiai Központ és az Európai Unió támogatta a DRESP2 FP6 projekten keresztül (no. LSHM-CT-2005-018705).

Irodalomjegyzék

1. Cornaglia G, Akova M, Amicosante G, Cantón R, Cauda R, Docquier JD, Edelstein M, Frère JM, Fuzi M, Galleni M, Giamarellou H, Gniadkowski M, Koncan R, Libisch B, Luzzaro F, Miriagou V, Navarro F, Nordmann P, Pagani L, Peixe L, Poirel L, Souli M, Tacconelli E, Vatopoulos A, Rossolini GM; ESCMID Study Group for Antimicrobial Resistance Surveillance (ESGARS). Metallo- β -lactamases as emerging resistance determinants in Gram-negative pathogens: open issues. *Int J Antimicrob Agents*. 2007; 29(4):380-8
2. Libisch B, Muzslay M, Gacs M, Minárovits J, Knausz M, Watine J, Ternák G, Kenéz E, Kustos I, Rókusz L, Széles K, Balogh B, Füzi M. Molecular epidemiology of VIM-4 metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas* sp. isolates in Hungary. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50(12):4220-3.
3. Libisch B, Watine J, Balogh B, Gacs M, Muzslay M, Szabó G, Füzi M. Molecular typing indicates an important role for two international clonal complexes in dissemination of VIM-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Hungary. *Res Microbiol*. 2008; 159(3):162-8
4. Libisch B, Giske CG, Kovács B, Tóth TG, Füzi M. Identification of the first VIM metallo- β -lactamase-producing multiresistant *Aeromonas hydrophila* strain. *J Clin Microbiol*. 2008; 46(5):1878-80.
5. Libisch B, Lepsanovic Z, Krucso B, Muzslay M, Tomanovic B, Nonkovic Z, Mirovic, V, Szabo G, Balogh B, Füzi M. Characterisation of PER-1 extended-spectrum β -lactamase producing *P. aeruginosa* clinical isolates from Hungary and Serbia. Abstracts of the 17th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Munchen, Germany. 2007.
6. Straut M, Cretoiu S, Dragulescu C, Lixandru B, Petrescu AM, Surdeanu M. Molecular characterisation of PER-1 extended-spectrum β -lactamase

- producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Romania. Abstracts of the 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, Spain. 2008.
7. Libisch B, Füzi M. Oral presentation of Partner 11 at the DRESP2 Consortium Meeting, Catania, Italy, 2007.
 8. Libisch B, Lepsanovic Z, Top J, Muzslay M, Konkoly-Thege M, Gacs M, Balogh B, Fuzi M, Willems RJ. Molecular characterization of vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. clinical isolates from Hungary and Serbia. Scand J Infect Dis. 2008 Jun 2:1-7.
 9. Leavis HL, Bonten MJ, Willems RJ. Identification of high-risk enterococcal clonal complexes: global dispersion and antibiotic resistance. Curr Opin Microbiol. 2006; 9(5):454-60
 10. Del Grosso M, Barbabella G, Camilli R, Fuzi M, Libisch B, Pantosti A. A new association of known genetic elements in a Tn916-family transposon carrying tet(M), erm(B), and mef(E). Abstracts of the 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, Spain. 2008.
 11. Szabó D, Szentandrassy J, Juhász Z, Katona K, Nagy K, Rókus L. Imported PER-1 producing *Pseudomonas aeruginosa*, PER-1 producing *Acinetobacter baumannii* and VIM-2-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains in Hungary. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2008;7:12.

Újabb PVL-pozítív MRSA klónok megjelenése hazánkban

Ungvári Erika, Tóth Ákos, dr. Gacs Mária

Az utóbbi években világszerte növekvő problémát jelentenek a területen fertőzést okozó methillin rezisztens *Staphylococcus aureus* (community-associated; CA-MRSA) törzsek.

A CA-MRSA törzsek elsősorban bőr-, lágyrész infekciókat okoznak, ritkán súlyos nekrotizáló pneumóniát, osteomyelitist, nekrotizáló fascitist és szepszist. Legjellemzőbb mikrobiológiai sajátosságai, hogy többnyire csak béta-laktám rezisztensek, jellegzetes virulencia faktoruk Panton-Valentine leukocidin, és az SCC*mec* (Staphylococcal Chromosome Cassette *mec*) kazetta IV. vagy V. típusát hordozzák (3, 5, 17).

A korábbi években mindössze néhány PVL-pozítív CA-MRSA klón elterjedése volt megfigyelhető a világon. Közülük az ST1 (USA400) és ST8 (USA300) elsősorban az Egyesült Államokban, az ST80 Európában, míg ST30 (Southwest Pacific clone) többnyire Ausztráliában és Óceániában volt kimutatható (18).

Az elmúlt néhány évben újabb PVL termelő MRSA klónokat azonosítottak, és az eddig földrajzilag jól körülhatárolt klónok továbbterjedése, újabb kontinenseken való megjelenése figyelhető meg (17). Egyre gyakoribbá vált a legelterjedtebb CA-MRSA klónok törzseinek kórházi környezetben való felbukkanása, melyek a béta-laktámokon kívül mind több antibiotikummal szemben váltak rezisztenssé.

A CA-MRSA infekciók gyanújával beküldött törzsek vizsgálatát az OEK Nemzeti MRSA Referencia Laboratóriuma (NMRL) és Fágtypizálási és Molekuláris Epidemiológiai Osztálya (FMEO) 2004 óta folyamatosan végzi.

2006. január és 2008. június között 653 MRSA törzset küldtek be a NMRL-be megerősítés, és egyéb vizsgálatok céljából. A beérkezett törzsek közül a beküldő CA-MRSA fertőzés gyanújára történt megjegyzése, a klinikai diagnózis és a törzsek antibiotikum érzékenysége alapján 36 törzs került részletes vizsgálatra.

A törzsek antibiotikum érzékenységének megerősítése korongdiffúziós (ciprofloxacín, gentamicin, kanamycin, rifampicin, tetracyclin, erythromycin, clindamycin, fusidinsav, trimetoprim-sulfametoxazol, vancomycin) és Etest (oxacillin) módszerrel történt. A törzsek által hordozott legfontosabb toxin gének, PVL (*lukS_F-PV*), enterotoxin A, B, C, D, E, G és I (*sea-see, seg, sei*), toxikus shock szindróma toxin (*tst*), exfoliatív toxin A és B (*eta, etb*) kimutatása PCR-rel történt (1, 2, 9, 10, 14). A vizsgálatok kiterjedtek a virulencia faktorok kifejeződésében fontos szerepet játszó *agr* (accessory gene regulator) allélok és az SCC*mec* kazetta típusának meghatározására is (6, 8, 13). A törzsek genetikai

hátterének vizsgálata pulzáltatott mezejű gélelektroforézissel (PFGE) történt (11, 12). Az egyes PFGE típusok reprezentáns törzseinek szekvencia típusa (ST) multilokus szekvencia tipizálással (MLST) került meghatározásra (4).

2006 óta az OEK laboratóriumába CA-MRSA infekciók gyanújával beküldött törzsek száma nagyon csekély. A törzsek az epidemiológiai adatok rögzítésére szolgáló kísérőlapok nélkül érkeztek, így a CA-MRSA infekciók ténye egyetlen esetben sem igazolható. Ezért a korábbi évekhez hasonlóan a CA-MRSA törzsek hazai elterjedtségére vonatkozóan továbbra sem vonhatók le következtetések.

A 36 CA-MRSA gyanús törzsből 11 hordozta a PVL toxin génjét, 25 törzs PVL-negatívnak bizonyult.

A PVL-pozitív MRSA törzsek többsége járóbeteg szakellátásból származott, azonban három törzset fekvőbetegek mintáiból (> 48 óra ápolási idő), közülük kettőt hemokultúrákból izoláltak. A PVL-pozitív CA-MRSA törzsek fekvőbetegek körében való megjelenéséről számos nemzetközi közlemény is beszámolt (7, 16). Eredményeink arra utalnak, hogy erre hazánkban is számítani kell.

A CA-MRSA infekciók gyanújával beküldött törzsek többségét gyerekek és fiatal felnőttek vizsgálati anyagaiból izolálták. Míg a PVL-pozitív MRSA törzsek többsége sebváladékból és gennyből származott, addig a PVL-negatív MRSA törzseket elsősorban orr-, torokváladékokból izolálták. A CA-MRSA infekciók gyanújával beérkezett törzsek jelentős részénél az infekciók klinikai megjelenése ismeretlen, a PVL-pozitív MRSA infekciók közül 2 esetben sepsist, egy esetben pedig carbunculust diagnosztizáltak (1. táblázat).

Törzs	Izolálás helye	Szakrendelő/ Osztály	Ellátás típusa	Minta típusa	Beteg életkora	Klinikai megjelenés
B041/06	Budapest	Sebészet	Járó	sebváladék	64 év	-
B052/06	Szolnok	Intenzív	Fekvő	hemokultúra	49 év	kanül infekció, sepsis
B120/06	Budapest	Bőrgyógyászat	Járó	sebváladék	25 év	-
B173/06	Szentés	Sebészet	Fekvő	hemokultúra	51 év	sepsis
B238/06	Pásztó	Sebészet	Járó	genny	19 év	-
B324/06	Szolnok	-	Járó	sebváladék	8 év	carbunculus
B325/06	Budapest	Sebészet	Járó	sebváladék	40 év	-
B075/07	Budapest	-	Fekvő	orrváladék	34 év	-
B098/07	Budapest	Gyermeksebészet	Járó	sebváladék	9 év	-
B056/08	Gyál	Fertőző amb.	Járó	orrváladék	1 év	-
B086/08	Budapest	Fertőző amb.	Járó	orrváladék	17 év	testszerte léziók

1. táblázat: CA-MRSA infekció gyanújával beküldött PVL-pozitív MRSA esetek adatai

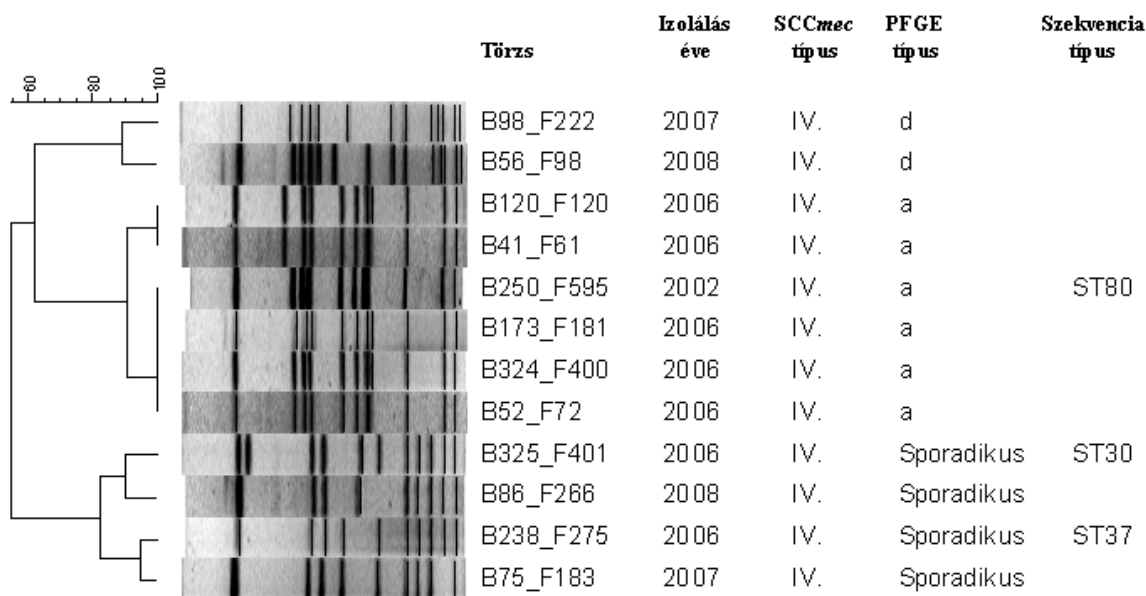
A 36 CA-MRSA gyanús törzsből 11 hordozta a PVL toxin génjét. Mivel a CA-MRSA infekció gyanújával beküldött törzsek közül a CA-MRSA infekció ténye epidemiológiai adatokkal egyetlen esetben sem alátámasztott, így csak a PVL-pozitív MRSA törzsek mikrobiológiai jellegzetességeit részletezzük.

A PVL-pozitív MRSA törzsek alacsony szintű oxacillin rezisztenciával rendelkeztek és többnyire érzékenyek voltak a legtöbb általunk vizsgált nem béta-laktám antibiotikumokra. Mindegyik PVL-pozitív MRSA törzs az SCC_{mec} kazetta IV. típusát hordozta. Két törzs kivételével 3 típusú *agr* allélt tartalmaztak (2. táblázat).

Törzs	Oxacillin MIC (mg/L)	Ciprofloxacín	Gentamicin	Kanamycin	Rifampicin	Tetracyclin	sulfamethoxazo/Trimethoprim/	Erythromycin	Clindamycin	Fuzidin sav	Vancomycin	Toxin gén hordozás	<i>agr</i> típus
B041/06	24	É	É	R	É	R	É	É	R	É	<i>lukS,F-PV</i>	3	
B052/06	16	É	É	R	É	É	É	É	É	É	<i>lukS,F-PV</i>	3	
B120/06	32	É	É	R	É	R	É	É	R	É	<i>lukS,F-PV</i>	3	
B173/06	48	É	É	R	É	R	É	É	R	É	<i>lukS,F-PV</i>	3	
B238/06	8	É	É	R	É	R	É	É	É	É	<i>lukS,F-PV, tst, sec, seg, sei</i>	3	
B324/06	48	É	É	R	É	É	É	É	É	É	<i>lukS,F-PV</i>	3	
B325/06	96	É	É	É	É	É	É	É	É	É	<i>lukS,F-PV, seg, sei</i>	3	
B075/07	48	É	É	R	É	R	É	É	É	É	<i>lukS,F-PV, tst, sec, seg, sei</i>	3	
B098/07	64	É	É	R	É	É	É	R	É	É	<i>lukS,F-PV</i>	1	
B056/08	64	É	É	R	É	É	É	R	É	É	<i>lukS,F-PV</i>	1	
B086/08	64	É	É	É	É	É	É	É	É	É	<i>lukS,F-PV, sea, seg, sei</i>	3	

2. táblázat. A PVL-pozitív MRSA törzsek antibiotikum érzékenysége, toxin gén hordozása és *agr* típusa

A 11 PVL-pozitív MRSA törzs közül 5 törzs PFGE mintázata megegyezett a már korábbi években azonosított ST80-MRSA-IV klón törzseinek mintázatával. A PFGE vizsgálatok alapján a további 6 törzs ettől eltérő genetikai háttérrel rendelkezett. Az egyes PFGE típusok reprezentáns törzseinek MLST vizsgálata három új PVL-pozitív MRSA klón jelenlétét igazolta: az ST8-MRSA-IV, az ST30-MRSA-IV és az ST37-MRSA-IV klónokét (1. ábra).



1. ábra. A PVL-pozitív MRSA törzsek molekuláris tipizálási eredményei

Az ST80 szekvencia típusba tartozó MRSA törzsek közül két törzs a béta-laktám antibiotikumokon kívül csak kanamycin rezisztens, a további három pedig kanamycin, tetracyclin és fusidin sav rezisztens volt. Míg Ramdani-Bouguessa és mtsai multirezisztens ST80 szekvencia típusú MRSA törzsek megjelenését írták le Algériában (15), az általunk vizsgált törzsek körében az európai ST80-as CA-MRSA törzsekhez hasonlóan, egyelőre nem figyelhető meg a multirezisztencia növekedése.

Két törzs az ST8-MRSA-IV (USA300) klónhoz tartozott, melynek korábban csak PVL negatív törzseit figyeltük meg hazánkban. Az USA300 klón hazai törzsei a béta-laktámokon kívül erythromycin és kanamycin rezisztensek voltak, ugyanakkor ciprofloxacinnal szemben továbbra is érzékenyeknek mutatkoztak.

A két ST30 szekvencia típusú törzs csak a béta-laktám antibiotikumokkal szemben bizonyult rezisztensnek. Egyikük a *lukS*, *F-PV* és *seg*, *sei* toxin géneken kívül enterotoxin A-t kódoló gént is hordozott. Bár egy átfogó nemzetközi tanulmány az utóbbi években az ST30-MRSA-IV klón globális előfordulásáról számolt be, törzsei egyelőre még csak szórványosan mutathatók ki Európában (17).

Két törzs a ST37-MRSA-IV klónhoz tartozott. A törzsek kanamycin és tetracyclin rezisztensek voltak és a PVL mellett a TSST-1 és az enterotoxin C génjét is hordozták. PVL-pozitív ST37 szekvencia típusú MRSA törzs előfordulását Hollandiában írták le először, ahol PVL-negatív változataik is viszonylag gyakoriak (19).

A fenti vizsgálatok újabb PVL-termelő CA-MRSA klónok megjelenését mutatják hazánkban. Az eredmények alátámasztják a PVL termelő MRSA klónok monitorozásának, tanulmányozásának szükségességét, amely segítséget nyújthat újabb rezisztencia és virulencia markerekkel rendelkező törzsek területi és kórházi elterjedésének megakadályozásában.

Irodalomjegyzék:

1. Becker K. et al.: Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus*: use of two multiplex PCR enzyme immunoassays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative toxin genes, and toxic shock syndrome toxin 1 gene. *J Clin Microbiol.* 1998, 36:2548-53.
2. Brakstad O.G. et al.: Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. *J Clin Microbiol.* 1992, 30:1654-60.
3. Dufour P. et al.: Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Pantone-Valentine leukocidin. *Clin Inf Dis.* 2002, 35:819-24.
4. Enright M.C. et al.: Multilocus sequence typing for the characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2000, 38:1008-15.
5. Fey P.D. et al.: Comparative molecular analysis of community- or hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003, 47:196-203.
6. Jarraud S. et al.: Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, *agr* groups (alleles), and human disease. *Infect Immun.* 2002, 70:631-41.
7. Kourbatova E.V. et al.: Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 clone as a cause of health care-associated infections among patients with prosthetic joint infections. *Am J Infect Control.* 2005, 33:385-91.
8. Lina G. et al.: Bacterial competition for human nasal cavity colonization: role of Staphylococcal *agr* alleles. *Appl Env Microbiol.* 2003, 69:18-23.
9. Lina G. et al.: Involvement of Pantone-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis.* 1999, 29:1128-32.
10. Monday S.R. et al.: Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in Staphylococcal isolates. *J Clin Microbiol.* 1999, 37:3411-14.

11. Mulvey, M. R. et al.: Development of a Canadian standardized protocol for subtyping methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using pulsed-field gel electrophoresis. J Clin Microbiol. 2001, 39:3481-3485.
12. Murchan S. et al.: Harmonization of pulsed-field gel electrophoresis protocols of epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spread of related strains. J Clin Microbiol. 2003, 41:1574-85.
13. Oliveira D.C. et al.: Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2002, 46:2155-61.
14. Pérez-Roth E. et al.: Multiplex PCR for simultaneous identification of *Staphylococcus aureus* and detection of methicillin and mupirocin resistance. J Clin Microbiol. 2001, 39:4037-41.
15. Ramdani-Bouguessa N. et al.: Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying the Panton-Valentine leukocidin genes in an Algiers hospitals. Antimicrob Agents Chemother. 2006, 50:1083-85.
16. Seybold U. et al.: Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 genotype as a major cause of health care-associated blood stream infections. Clin Infect Dis. 2006, 42:647-56.
17. Tristan A. et al.: Global distribution of Panton-Valentine Leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, 2006. Emerg Infect Dis. 2007, 13:594-600.
18. Vandenesch F. et al.: Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. Emerg Infect Dis. 2003, 9:978-84.
19. Wannet W.J.B. et al.: Emergence of virulent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains carrying Panton-Valentine leucocidin genes in The Netherlands. 2005, 43:3341-45.

ESBL-termelő *Shigella sonnei* izolálásának és további vizsgálatának tapasztalatai

Borbás Klára, Tóth Ákos, Tóth Szilárd, Szabó Zsuzsa, Herpay Mária

Esetismertetés

B.G. 35 éves férfi beteg 2008. augusztus 28-án jelentkezett infektológiai ambuláns szakrendelésen az alábbi anamnézissel:

Az olimpiai játékok idején Pekingben tartózkodott. Otlétének utolsó napjaiban, augusztus 21-22-én kezdte rosszul érezni magát. Hőemelkedést, gyengeséget észlelt, s nagyon sokszori, vizes, nem véres székletürítésről számolt be, hasi görcsöket, tenesmust nem említett. Augusztus 22-én repülőre szállt és hazajött. Itthon már magas, 40 °C láz, hidegrázás, általános gyengeség lépett fel. Az ambuláns vizsgálat napján már csak hőemelkedése volt és csak napi 5 székletürítést említett, de általános gyengesége változatlanul fennállt. További kezelés céljából beutalták az infektológiai osztályra, ahol az első napon megtörtént a széklet mintavétel és tüneti (elektrolit és folyadékpótlás) terápiában részesült. A széklettenyésztés két nap múlva negatív eredménnyel zárult. Az anamnézis, a tünetek és a negatív széklettenyésztési eredmény ismeretében a kezelő orvos „utazók hasmenésének” diagnosztizálta az esetet, és a harmadik napon hazabocsátotta a beteget. A beteg általános tünetei nem szűntek meg, és a láz is visszatért.

Időközben a betegtől augusztus 27-én székletminta érkezett. az OEK Bakteriológia II. Osztályának Központi Regionális Enterális laboratóriumába is. A vizsgálatkérő lapon feltüntették, hogy a beteg hosszabb időt töltött Kínában, és betegsége már ott jelentkezett. A Központi Regionális Enterális laboratóriumban a tenyésztést a felnőtt betegeknél szokásosan vizsgált bakteriális enterális kórokozók (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica*, *E. coli* O124, *Campylobacter*) vizsgálatán túl patogén *E. coli*, *Vibrio cholerae* és *Aeromonas* irányába is kiterjesztették. Ennek megfelelően a székletmintát DC, Bi, EM, TCBS és ampicillines V táptalajokra szélesztették, valamint szelenites és lúgos peptonvizes dúsító táptalajokba oltották. A 24 órás leolvasás során kórokozó gyanús telepek nem voltak észlelhetők, az EM táptalajon kitenyésztett telepekből tárgylemez agglutinációs módszerrel, a laboratórium rendelkezésére álló savó készlettel patogén *E. coli* nem volt kimutatható. Az egyetlen nem szokványos jelenség az volt, hogy az EM lemezen feltűnően sok laktózt nem bontó telep volt látható. Miután egyéb, szokatlanak minősíthető jelet nem talált a laboratórium, ezekből a laktóz negatív telepekből elindított egy rövid biokémiai vizsgálatot (Russel, kombinált ureum-indol, SLS és SIM). Kórokozó gyanús telepek 48 órás inkubációt követően sem jelentek meg, és a dúsító

táptalajokból kioltott Bi, Br, illetve TCBS, DC, valamint a CCDA táptalajok is negatívaknak bizonyultak.

Az EM táptalajról kinőtt laktóz negatív izolátum biokémiai vizsgálata vetette fel először a *Shigella* gyanút: laktóz bontás, gázképzés, kénhidrogén termelés és mozgás hiánya, nagyon apró telepekben való növekedés a Russel táptalajon, negatív indol és ureum reakciók. Az izolátum a *S. sonnei* I savóval egyáltalán nem, a *S. sonnei* II savóval atípusosan, az összes többi *Shigella* (*S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*) savóval egyáltalán nem agglutinált. A *Shigella* gyanú megerősítésére, illetve kizárására a laboratórium további biokémiai vizsgálatokat (Na-acetát táptalaj, mozgás vizsgálat U csőben) állított be és korongdiffúziós módszerrel elvégezte az antibiotikum rezisztencia vizsgálatot. A jobb agglutinálás érdekében újabb Russel szubkultúrát oltott le és DC lemezre szélesztett. A negatív Na-acetát próba és a mozgás U csöves módszerrel is bizonyított hiánya megerősítette a *Shigella* gyanút. A DC táptalajon az izolátum típusos *Shigella* telep morfológiát mutatott, de az R teleptípus miatt változatlanul nem agglutinált. A laboratórium a beküldőnek csak ekkor - a minta beérkezésétől számított 5. napon - tudta jelezni a *Shigella* gyanút. A korongdiffúziós vizsgálat alapján ugyanekkor felmerült a szélesspektrumú β -laktamáz (ESBL)-termelés gyanúja is.

A törzs további antibiotikum érzékenységi vizsgálatára és az ESBL termelés gyanú megerősítésére vagy kizárására az OEK Bakteriológia I Osztályára - megerősítő, automata berendezéssel történő identifikálásra (mini API, Biomérieux) és patogenitási, valamint toxin termelőképeség irányába végzendő vizsgálatra az OEK Bakteriológia II. Osztályának Enterális Nemzeti Referencia Laboratóriumába került.

Az izolált törzsek invazív tulajdonságát a klasszikus Serény-teszt (Serény, 1957; tengerimalac szemén keratokonjunktivitisz előidézése: KC+) helyett a toxingének kimutatásához hasonlóan a Referencia laboratórium PCR módszerrel vizsgálta. A keratokonjunktivitisz előidézése csak a virulencia plazmidot hordozó izolátumok esetén észlelhető, az állatkísérlet helyettesíthető a plazmidon kódolt *ial* gén detektálásával. *S. sonnei* esetén az O-antigén termelésért felelős génszakasz is a törzsek virulencia plazmidján kódolt, így a virulens törzsek I. fázisúak, vagy S teleptípusúak, míg a virulencia plazmidot vesztett, ezáltal avirulenssé vált izolátumok ún. II. fázisú, vagy R teleptípusúak (Sansonek és mtsai, 1981).

A Referencia laboratórium az inváziós tulajdonságért felelős *ial* génszakaszt, és az ugyancsak ezen plazmidon kódolt *sen* (*Shigella* enterotoxin-2) gén jelenlétét, valamint a kromoszómális kódoltságú *Shigella* enterotoxin-1 (*set*) gének kimutatását Vargas és mtsai (1999) módszere szerint végezte.

Közben a Regionális Enterális laboratóriumban végzett további átoltások eredményeként a Russel tenyészet már típusosan agglutinált a *Shigella sonnei* I. savóval, és az automata identifikáló rendszer is egyértelműen *Shigella sonnei* eredményt adott.

A törzs ESBL-termelésének igazolására kettős-korong szinergizmus (MAST Diagnostics) és ESBL-Eteszt (AB BIODISK) vizsgálatokat alkalmaztunk. A törzs mind ceftazidimmal, mind cefotaximmal szemben magas fokú rezisztenciát mutatott, és a PCR vizsgálat CTX-M-típusú β -laktamáz gén hordozását igazolta, melyet nukleinsav szekvencia elemzése alapján **CTX-M-55** ESBL génnek határoztunk meg.

Mivel korongdiffúziós módszerrel a törzs nalidixsavra rezisztens és ciprofloxacinra érzékeny volt, ezért meghatároztuk a ciprofloxacin MIC értéket is Eteszt módszerrel, mely 0,125 mg/L-nak adódott. Irodalmi adat alapján a ciprofloxacin megfelelő dózisú terápiás alkalmazása ilyen esetben sikeres lehet (Rahman és mtsai, 2004). Meg kell említenünk azonban, hogy ez az érték már a törzs csökkent fluoroquinolon érzékenységét mutatja, és előrevetíti a későbbi magasfokú rezisztencia kialakulásának lehetőségét is.

A Központi Regionális Enterális laboratórium a minta beérkezés 7. napján tudta kiadni az **ESBL-termelő *S. sonnei* pozitív** eredményt. A beteg ezzel a lelettel jelentkezett ismét az infektológiai szakrendelésen, ahol ambulánsan ciprofloxacin (első nap napi 2 x 1 g, majd a továbbiakban 2 x 500 mg dózisban) kezelést kapott. Az antibiotikum kezelést követően a beteg panaszai megszűntek. Az OEK Központi Regionális Enterális laboratóriumába időközben beérkezett kontroll székletminta vizsgálatának eredménye: ***Shigella sonnei* negatív, (azonban) *Salmonella* Infantis** tenyésztett ki, amit lehetséges társfertőzőként interpretáltunk. Az *S. Infantis* 3. gen. cefalosporinokra érzékeny volt.

Megbeszélés

Tudomásunk szerint ez az első hazai beszámoló ESBL-termelő *Shigella sonnei* törzsről. A nemzetközi szakirodalomban az 1990 évektől kezdve található közlemények előfordulásáról. Az utóbbi években retrospektív tanulmányok jelentek meg, amelyek több évre visszamenőleg nagyobb számú *Shigella sonnei* izolátumot vizsgálva keresték az ESBL-termelő törzseket (Rahman és mtsai, 2004; Morris és mtsai, 2007; Xiong és mtsai, 2007; Acikgoz és mtsai, 2008). Más közlemények konkrét megbetegedésekről számolnak be. Ezek között sporadikus esetek (Lartique és mtsai, 2005; Lefort és mtsai, 2007) és kisebb-nagyobb járványok (Huang és mtsai, 2005; Shimosako és mtsai 2006) egyaránt előfordulnak. Az esetek túlnyomó többségében ezeket a törzseket ázsiai országokban izolálták, melyek egy részében a bakteriális dizentéria még ma is gyakori megbetegedésnek számít, és gyakran mikrobiológiai vizsgálat

nélkül állítják fel a diagnózist. Így gyakran alkalmaznak empirikus antibiotikumos terápiát. Feltehetően ez eredményezi a rezisztens törzsek megjelenését. Az európai megbetegedések bizonyíthatóan nagy hányada import eset, de beszámoltak már olyan európai esetekről is, ahol az import eredetet egyértelműen ki lehetett zárni (Lartique és mtsai, 2005). Ezeknek a törzseknek az elterjedése azért is érdemel figyelmet, mert hosszabb távon már terápiás problémát is okozhatnak.

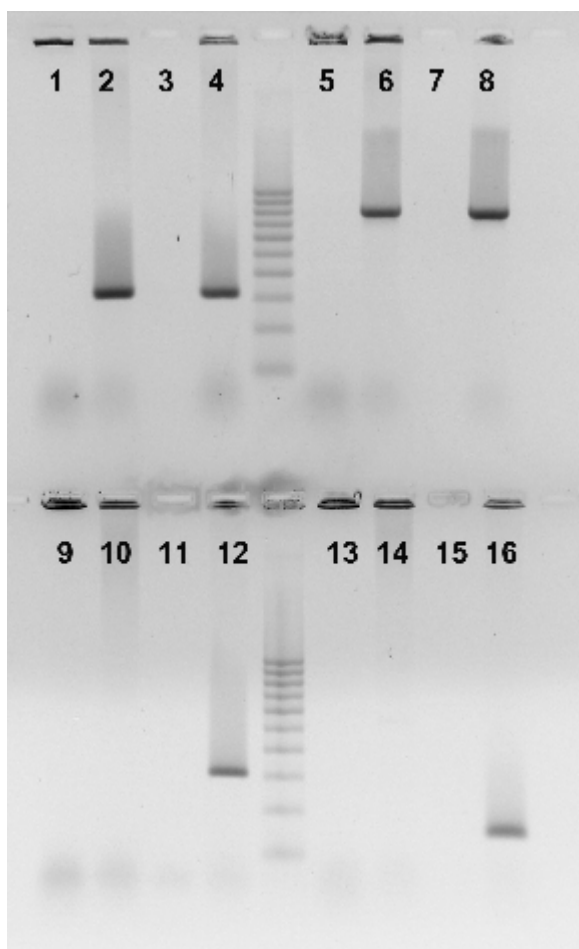
A vizsgált törzs által termelt CTX-M-55 β -laktamázt, amely a CTX-M-15 géntől csak egyetlen aminosav mutációban tért el, először 2006-ban mutatták ki thaiföldi betegekből izolált ESBL-termelő *Escherichia coli* és *Klebsiella pneumoniae* törzsekben (Kiratisin P és mtsai, 2007). Szintén 2006-ban - előbbivel közel egy időben - töltötték fel a BLAST adatbázisába a CTX-M-57 β -laktamáz gén szekvenciáját is. Ezt a gént egy ESBL-termelő *Salmonella* Typhimurium törzsben találták meg, melyet egy korábban thaiföldi kórházi kezelésben részesült, de akkor már Angliában kezelt beteg székletéből izoláltak (Hopkins KL és mtsai, 2008). Mint kiderült, a két elnevezés ugyanazt a génvariánst jelöli, ezért a kettőt egynek kell tekinteni. A CTX-M-55 tovább gyarapítja azoknak a CTX-M típusoknak a számát, melyek a cefotaxim mellett ceftazidimmal szemben is magas szintű rezisztenciát biztosítanak. Thaiföldön kívül eddig leírták már ezt a CTX-M-típust Angliában, mint importált esetet, valamint Koreában -nem publikált, a BLAST adatbázisában szereplő adat-, ahol esetünkhöz hasonlóan egy *Shigella sonnei* törzsből mutatták ki.

Bár az *Enterobacteriaceae* család képviselőinek klinikai gyakorlatban történő identifikálására ma már korszerűbb automata azonosító berendezések is vannak forgalomban, a mini API berendezést (Biomérieux, France) az ID 32 tesztcsíkok alkalmazásával még ma is széles körben alkalmazzák. Így - többek között - ESBL-termelő törzsek gyakoriságának és diverzitásának vizsgálata alkalmával Brasme és mtsai (2007) közel 22000 izolátumot határoztak meg ezzel a módszerrel. Alcoba-Flórez és mtsai (2005) egy multirezisztens *Shigella sonnei* által okozott járvány esetén az izolált törzset API ID 32 GN tesztcsíkkal és VITEK 2 rendszerrel azonosították, majd az eredmények megerősítése tárgylemez agglutinációval történt. Korábban Sirot és mtsai (2001) már beszámoltak egy olyan β -laktám antibiotikumokkal szemben rezisztens *Shigella sonnei* izolátumról, amelyet a betegből történő kitenyésztést követően API ID 32 E tesztcsíkkal és tárgylemez agglutinációval azonosítottak. Esetünkben a mini API berendezés, (TSA lemezen történő tenyésztés után), mind az ID 32 E, mind pedig az ID 32 GN tesztcsíkkal a betegből kitenyésztett izolátumot „kiváló azonosítással”, *Shigella sonnei*-ként határozta meg. Az ID 32 E esetén (%ID = 99.9, T = 0.97) ellene szóló teszt nélkül, ID 32 GN esetén (%ID = 99.9, T = 0.88) pedig egy (L-fukóz negatív) ellene szóló teszttel. A végleges azonosítást, a megerősítést a szerológiai vizsgálat adta.

A toxin géneket tekintve a *S. sonnei* törzsek esetén a Shigella enterotoxin-2-t virulencia plazmidon kódoló *sen* gén hordozásának gyakorisága a földrajzi elhelyezkedéstől függően 46-100% közé tehető (Talukder és mtsai, 2006; Vargas és mtsai, 1999), míg a kromoszómális kódoltságú *set* gén *S. sonnei* törzseknél nem mutatható ki (Nataro és mtsai, 1995; Talukder és mtsai, 2006).

Esetünkben a Shigella enterotoxin-2-t kódoló *sen* gén jelenlétét csak az I. fázisú vagy S teleptípusú izolátum esetén tudtuk kimutatni, míg a Shigella enterotoxin-1 (*set*) gének az irodalmi adatokkal megegyezően sem az S, sem az R teleptípusú izolátum esetén nem voltak detektálhatók (1. ábra).

1. ábra: az 5199/08 számú izolátum *ial*, *sen*, *set1A* és *set1B* gének hordozását kimutató PCR-es vizsgálatának eredménye



1-4: *ial* gén PCR, 5-8: *sen* gén PCR, 9-12: *set1A* gén PCR, 13-16: *set1B* gén PCR.

1, 5, 9, 13: 5199/08 izolátum, R teleptípus, 2, 6, 10, 14: 5199/08 izolátum, S teleptípus, 3, 7, 11, 15: negatív kontroll, 4, 8, 12, 16: pozitív kontroll.

Következtetések

- Fontosnak tartjuk felhívni a klinikus kollégák figyelmét arra, hogy ilyen betegek jelentkezésekor kérdezzenek rá az utazási anamnézisre, s ezt jelezzék is a vizsgálatkérő lapon. Ismertetett esetünkben csak ennek az információnak ismeretében vált lehetővé a kórokozó kitenyésztése.
- Amennyiben importált megbetegedéseknél a szokásosan alkalmazott enterális protokoll negatív eredményt ad, célszerű a kitenyésztett baktériumflóra egyéb szokatlanul minősülő jeleinek megfelelően további kiegészítő vizsgálatok végzése.
- Az exotikus utazások, külföldi munkavállalások számának megszaporodásával Magyarországon is számolni kell ESBL-termelő *Shigella* sp. törzsek további megjelenésével (is). A vizsgáló laboratóriumoknak gondolni kell erre a lehetőségre és célszerű legalább a feltehetően importált eseteknél vizsgálni a kórokozó antibiotikum érzékenységét a harmadik generációs cefalosporinokkal szemben is.
- Amennyiben a *Shigella* gyanús esetekben a tárgylemez agglutináció negatív vagy nem egyértelmű eredményt ad, az automata identifikáló rendszerek és a specifikus virulencia markereket detektáló molekuláris módszerek alkalmazása jó segítséget adhatnak a helyes diagnózis felállításában. A szerológiai megerősítés a végleges eredményhez minden esetben szükséges.
- A székletmintákból kitenyésztett *Shigella* törzseket kérjük minden esetben az OEK Enterális Nemzeti Referencia Laboratóriumába beküldeni a további megerősítő, patogenitási ill. antibiotikum érzékenységi vizsgálatra. Ez utóbbi az országban előforduló törzsek rezisztencia változásainak monitorozása miatt fontos.

Irodalom:

1. Acikgoz ZC et al. (2008) CTX-M-3 type β -lactamase producing *Shigella sonnei* isolates from pediatric bacillary dysentery cases. *Jpn J Infect Dis* 61(2): 135-137.
2. Alcoba-Flórez J et al. (2005) Outbreak of *Shigella sonnei* in a rural hotel in La Gomera, Canary Islands, Spain. *Internat Microb* 8, 133-136.
3. Brasme L et al. (2007) Incidence of class A extended-spectrum β -lactamases in Champagne Ardenne (France): a 1 year prospective study. *J Antimicrob Chemother* 60(5), 956-964.
4. Hopkins KL et al. (2008) Identification of novel plasmid-mediated extended-spectrum β -lactamase CTX-M-57 in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Int J Antimicrob Agent* 31:76-90.
5. Huang IF et al. (2005) Outbreak of dysentery associated with ceftriaxone-resistant *Shigella sonnei*: first report of plasmid-mediated CMY-2 type AmpC β -lactamase resistance in *S. sonnei*. *J Clin Microbiol* 43(6): 2608-2612.
6. Kiratisin P et al. (2007) The emergence of a novel ceftazidime-resistant CTX-M extended- spectrum β -lactamase, CTX-M-55, in both community-onset and hospital-acquired infections in Thailand. *Diag Microbiol Infect Dis* 58: 349-355.
7. Lartique MF et al. (2005) Multidrug-resistant *Shigella sonnei* and *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolates producing CTX-M β -lactamases as causes of community-acquired infection in France. *Clin Infect Dis* 40: 1069-1070.
8. Lefort A et al. (2007) Novel extended-spectrum β -lactamase in *Shigella sonnei*. *EID* 13(4) 653-654.
9. Morris D et al. (2007) Identification of CTX-M-15 extended spectrum β -lactamase in a clinical isolate of *Shigella sonnei* in Ireland. 17th European Congress of Clin. Microbiol. and Infect. Diseases, Munich, Germany, 31 Mar-04 Apr 2007, Abstract No.1732-1337.
10. Nataro P et al. (1995) Identification and cloning of a novel plasmid-encoded enterotoxin of enteroinvasive *Escherichia coli* and *Shigella* strains. *Infect. Immun.* 63, 4721-4728.
11. Rahman M et al. (2004) Extended-spektrum β -lactamase-mediated third generation cephalosporin resistance in *Shigella* isolates in Bangladesh. *J Antimicrob Chemother* 54(4): 846-847.
12. Sansonetti et al. (1981) *Shigella sonnei* plasmids: evidence that a large plasmid is necessary for virulence. *Infect. Immun.* 75-83.
13. Shimosako J et al. (2007) An outbreak of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Shigella sonnei* at a day care nursery in Sakai City, 2006. *Jpn J Infect Dis* 60(6) 408-409.
14. Sirot D et al. (2001) Inhibitor-resistant TEM-33 β -lactamase in a *Shigella sonnei* isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 45(7), 2179-2180.
15. Serény B (1957) Experimental keratoconjunktivitis Shigellosa. *Acta Microbiol Acad Sci Hung* 2, 367-376.
16. Talukder K et al. (2006) Antibiotic resistance and genetic diversity of *Shigella sonnei* isolated from patients with diarrhoes between 1999 and 2003 in Bangladesh. *J. Med. Microbiol.* 55, 1257-1263.
17. Vargas M. et al. (1999) Prevalence of *Shigella* enterotoxins 1 and 2 among *Shigella* strains isolated from patients with traveler's diarrhea. *J Clin Microbiol* 37, 3608-3611.
18. Xiong Z et al. (2007) Detection of CTX-M-14 extended-spectrum β -lactamase in *Shigella sonnei* isolates from China. *J Infect* 55(5): e125-e128.

Új szelektív és differenciáló táptalaj az ESBL-termelő Gram-negatív kórokozók szűréséhez

Tóth Ákos

Az utóbbi évtizedekben a multirezisztens kórokozók arányának növekedése világszerte egyre nagyobb gondot jelent az egészségügyi ellátásban. A ritka – de mindenképpen reményt adó – példák kivételével Európa-szerte évről-évre nő a multirezisztens törzsek aránya. A terjedés megakadályozása főleg a megelőzésben rejlik, melyhez hatékony infekciókontroll tevékenység szükséges (pl. megfelelő útmutatók, oktatások a probléma kezelésére, hatékony kórházhygiéne, körültekintő antibiotikum felhasználás, aktív surveillance, megfelelő gyakoriságú mikrobiológiai vizsgálatok).

A védekezés egyik fontos eleme, hogy ismerjük helyi szinten a multirezisztens kórokozók helyzetét. Mennyire gyakoriak, milyen módon terjedhetnek, milyen betegekre kell fokozottan figyelni? Fontos tudni pl., hogy egy adott intézetbe felvett beteg jelenhet-e potenciális fertőzőforrást saját magára és betegtársaira nézve, vagy egy járvány lezajlása közben kolonizálódtak-e a fertőzött betegek kontaktjai is. Mindehhez azonban szem előtt kell tartani, hogy az ezekhez szükséges vizsgálatokat minél gyorsabban és minél költséghatékonyabban kell elvégezni.

A többféle elvárás kielégítésére a különböző szűrővizsgálatok végzése általánosan alkalmazott módszer. A szűréskor vett minták mikrobiológiai feldolgozása során a megfelelő kimutatási módszer kiválasztása függ a vizsgált probléma komplexitásától, sürgősségétől és természetesen a pénzügyi háttértől. MRSA vagy VRE tekintetében talán könnyebb szűrési technikákat kidolgozni - legyen az fenotípusos vagy molekuláris vizsgálat -, hiszen jól definiálható, kevésbé változatos rezisztencia mechanizmussal rendelkező baktériumcsoportokat keresünk.

Az ESBL-termelő Gram-negatív kórokozók esetében már nagyobb kihívással kell szembenézni, hiszen sok species törzsei jöhetnek szóba, és az általuk hordozott ESBL-eknek is számos fenotípusos megjelenése - és így molekuláris háttere - lehet. Számos házi készítésű screen táptalajrecept létezik, azonban ezek nem standardizáltak, és érzékenységük és specificitásuk is nehezen értékelhető. Mindemellett a laborok nagy részének nincs is lehetősége arra, hogy saját maga készítse el ezeket a speciális táptalajokat.

Jelen írásunk célja ezért egy újfajta kereskedelmi forgalomban kapható ESBL-screen agar bemutatása, és egy modellkísérletben szerzett tapasztalataink rövid ismertetése.

A **ChromID ESBL (bioMérieux)** egy szelektív és differenciáló táptalaj, mely az ESBL-termelők szűréséhez cefpodoximot tartalmaz. Mivel a cefpodoxim általános szubsztrátja minden ESBL-típusnak, ezért megfelelő érzékenységet biztosít a vizsgálatokhoz. Meg kell jegyezni azonban, hogy specificitása már nem ilyen jó, hiszen számos egyéb rezisztencia mechanizmus esetében is leírtak cefpodoxim rezisztenciát. A táptalaj egyéb más antibiotikumokat is tartalmaz, melyek az esetleges nem kívánt kísérőflóra növekedését gátolják.

A ChromID ESBL agaron az *Enterobacteriaceae* család bizonyos csoportjai színreakciók alapján elkülöníthetők, mely segítséget nyújt a kevert tenyészetek gyors elkülönítésében és a törzsek előzetes identifikálásában:

i, β -glükuronidáz-termelő (szorbit-bontó) törzsek (*Escherichia coli*): **rózsaszín-burgundi piros színűek;**

ii, β -glükozidáz-termelő (β -D-glükóz bontó) törzsek (mint *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp.) **kékeszöld/zöld színűek;**

iii, a deamináz-termelő törzsek (mint *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp.) pedig **világostól a sötétbarnáig terjedő színekben** jelenhetnek meg (esetleg narancsos elszíneződés is tapasztalható a telepek körül).

A táptalaj működőképességének vizsgálatához a gyártó három ESBL-termelő kontroll törzset ajánl (*E. coli* CIP 103982 (TEM-3), *K. pneumoniae* ATCC 700603 (SHV-18) és *P. mirabilis* ATCC BAA-856 (TEM-10)), melyeknél a jellegzetes színek is megfigyelhetők.

Több tanulmányban is vizsgálták a ChromID ESBL táptalaj használhatóságát:

i, Glupczynski és mtsai. 644 klinikai mintát (561 széklet, 63 alsó légúti váladék, 20 egyéb) dolgoztak fel ChromID ESBL és 2mg/L ceftazidimet tartalmazó (MCKC) ill. antibiotikum mentes McConkey táptalajra párhuzamosan. Eredményeik azt mutatták, hogy mindkét antibiotikum tartalmú táptalaj hatékonyan gátolta a kísérőflóra növekedését -kivéve a ChromID ESBL táptalajon kinövő egyetlen VRE törzset. 135 *Enterobacteriaceae* törzs nőtt ki legalább az egyik táptalajon, melyek közül 37 bizonyult ESBL-termelőnek. Ebben a tekintetben a ChromID ESBL agar 97,3%, míg a MCKC 86,5% érzékenységet mutatott. Vizsgálatuk alapján az érzékenységet nem növelte a 48h után történt ismételt leolvasás. Összesített specificitásban valamivel jobbnak bizonyult az MCKC (58,1%), mint a ChromID ESBL agar (50%), azonban sem az érzékenységben, sem a specificitásban tapasztalt különbség nem volt szignifikáns. Az álpozitív eredményeket leginkább a kromoszómális AmpC-túltermelő (pl. *Enterobacter* spp, *Citrobacter* spp., *E. coli*), valamint a kromoszómális penicillinázt túltermelő (*K. oxytoca*) törzsek adták. A legtöbb nem-Enterobacteriaceae törzs, amely kinőtt a ChromID ESBL táptalajon, *Pseudomonas aeruginosa* és *Stenotrophomonas maltophilia* izolátum volt. A

szerzők úgy találták, hogy ezek a törzsek színtelen telepekben nőttek és ezért további vizsgálatot nem igényeltek.

ii, Montgomery és mtsai. a barcelonai ESCMID konferencián mutatták be eredményeiket. 244 *Enterobacteriaceae* törzs szintenyészetét vitték fel a táptalajra, a napi rutin identifikálás részeként. A 97 ESBL-termelő törzs közül 5 nem nőtt ki, 13 pedig nem termelt pigmentet a táptalajon (*C. freundii*, *E. coli*, *K. oxytoca*, *E. cloacae* és *P. vulgaris*). Az álpozitív eredményeket ebben a vizsgálatban is főleg az kromoszómális AmpC-túltermelő törzsek adták. Vizsgálatukban a ChromID ESBL agar érzékenységét 95%-nak, specificitását 80%-nak találták.

iii, Régelier-Poupet és mtsai vizsgálatukban a ChromID ESBL chromogén táptalajt hasonlították össze egy másik kereskedelemben beszerezhető screen agarral, a BLSE (AES) agarral. 765 klinikai mintát (468 rectális törlés, 255 vizelet minta és 42 tüdő aspirátum) dolgoztak fel ezekre a táptalajokra. 33 ESBL-termelő törzs nőtt ki a táptalajokon. Az érzékenységet 24h után 85%-nak, míg 48h után 94%-nak találták a ChromID ESBL esetében, míg a pozitív prediktív értéket 38,7%-nak. Az álpozitív eredményeket ebben a vizsgálatban is a kromoszómális cefalosporináz-túltermelő (pl. *Enterobacter* spp.) ill. a kromoszómális penillináz-túltermelő (*K. oxytoca*) törzsek adták.

Saját vizsgálatunk célja az volt, hogy a hazánkban előforduló, vagy a jövőben esetlegesen megjelenő néhány 3. generációs cefalosporin rezisztens törzs, különböző sűrűségben (100 CFU/lemez és 10000 CFU/lemez) kioltott szuszpenziójának növekedését megfigyeljük véres és ChromID ESBL agaron. A következő törzsek növekedését vizsgáltuk: ESBL-termelő *K. pneumoniae* (CTX-M-15), ESBL-termelő *K. pneumoniae* (SHV-2a), ESBL-termelő *K. pneumoniae* (SHV-5), ESBL-termelő *Salmonella* Enteritidis (CTX-M-4), ESBL-termelő *E. coli* (CTX-M-5), plazmidon kódolt AmpC-termelő *P. mirabilis* (AAC-4), plazmidon kódolt AmpC-termelő *E. coli* (MIR-1), *E. cloacae* (krom. AmpC túltermelő), MBL-termelő *P. aeruginosa* (VIM-4). A vizsgált törzsek mindegyik hígítása -kivéve a 100 CFU/lemez hígítású MIR-1 -termelő *E. coli* – kinőtt a chromogén táptalajon, bár a 100 CFU/lemez koncentrációnál kevesebb telepszámban nőttek ki a törzsek a screen lemezen, mint véres agaron. A telepek színei általában megfeleltek a várakozásainknak. Néhány fontos észrevételt kell azonban tennünk: az ESBL-termelő *S. Enteritidis* szinte ugyanolyan színtelen telepekben nőtt, mint a vizsgált *P. aeruginosa* törzs, valamint a MIR-1-termelő *E. coli* törzs sem képzett pigmentet a táptalajon. A vizsgálatunkról készült fotók letölthetők prezentációként az OEK honlapjáról, a Mikrobiológiai Körlevél oldalról. (1. melléklet)

Vizsgálatunk másik részében hazánkban gyakori két ESBL-típust (CTX-M-15, SHV-5) hordozó két *K. pneumoniae* törzs különböző hígítású szuszpenziójának (10-100-1000 CFU/lemez) növekedését vizsgáltuk kísérőflóra

jelenlétében. A kísérőflórát 1000 CFU/lemez hígításban alkalmaztuk, és a következő törzseket használtuk: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *E. faecalis* (ATCC 29212), *Bacillus cereus* (HNCMB 100002), *Staphylococcus aureus* (MRSA, ATCC 43300). Vizsgálatunk azt mutatta, hogy a chromogén táptalajon minden esetben, megfelelő telepszámban kinőttek az ESBL-termelő *K. pneumoniae* törzsek, míg a vizsgált kísérőflóra egyetlen esetben sem.

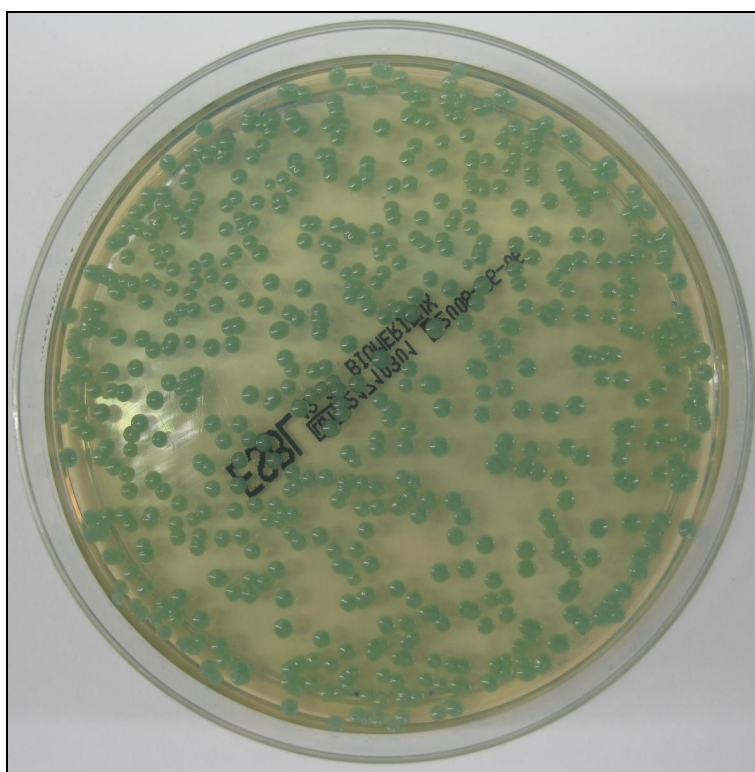
Az irodalmi adatok és a saját tapasztalataink alapján szeretnénk néhány pontban összefoglalni a fontosabb következtetéseinket:

- A ChromID ESBL egy széles körben elérhető, a hazánkban is jelentős problémát okozó ESBL-termelő Gram-negatív kórokozók szűrésére jól használható, megfelelő érzékenységgel rendelkező chromogén táptalaj
- Mivel számos nem-ESBL termelő, cefpodoxim rezisztens -és színreakciót is adó- Gram-negatív kórokozó képes kinőni a ChromID ESBL agaron (pl. AmpC-túltermelő *Enterobacter* spp, K1-túltermelő *K. oxytoca*), ezért a rezisztencia mechanizmus megerősítő vizsgálatának elvégzéséig csak az **ESBL-termelés gyanúját** közöljük a vizsgálat kérésével.
- Színtelenül növekvő telepek esetében is végezzünk el az adott törzssel legalább néhány biokémiai reakciót, mely eldönti, hogy a törzs Enterobacteriaceae család tagja, vagy egyéb Gram-negatív baktérium.
- A chromogén táptalajon nem csak az ESBL-termelő törzsek, hanem egyéb **horizontálisan terjedő** cefalosporin rezisztens törzsek is kinőhetnek (plazmidos- AmpC, MBL), ezért -főleg ha korábban előfordultak már az adott intézményben- ebben az irányban is tovább kell vizsgálni.

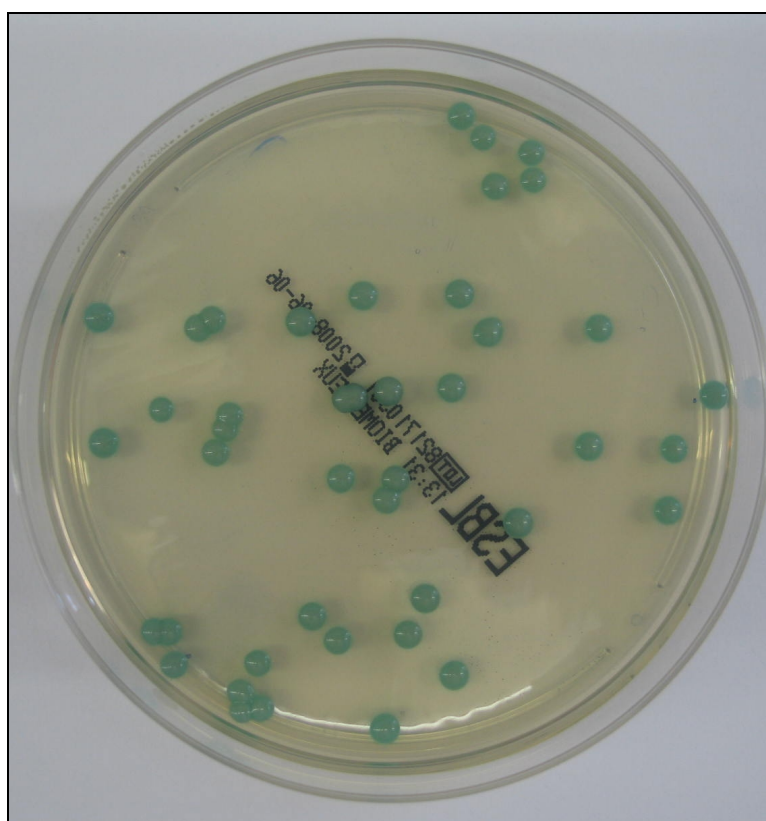
Irodalomjegyzék:

1. Glupczynski Y. et al. (2007) Evaluation of a new selective chromogenic agar medium for detection of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol. 45: 501-505.
2. Montgomery J. et al. (2008) ChromID ESBL agar for the detection of extended-spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae*. 18th ESCMID, Barcelona, Spanyolország, poszter (P882)
3. Mortensen JE. et. al. (2005) New quality control strain for use in routine testing for production of extended-spectrum β -lactamases by *Enterobacteriaceae*. J Clin Microbiol. 43: 2545.
4. Réglie-Poupet H. et al. (2008) Performance of ChromID ESBL, a chromogenic medium for detection of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum β -lactamases. J Med Microbiol, 57: 310-315

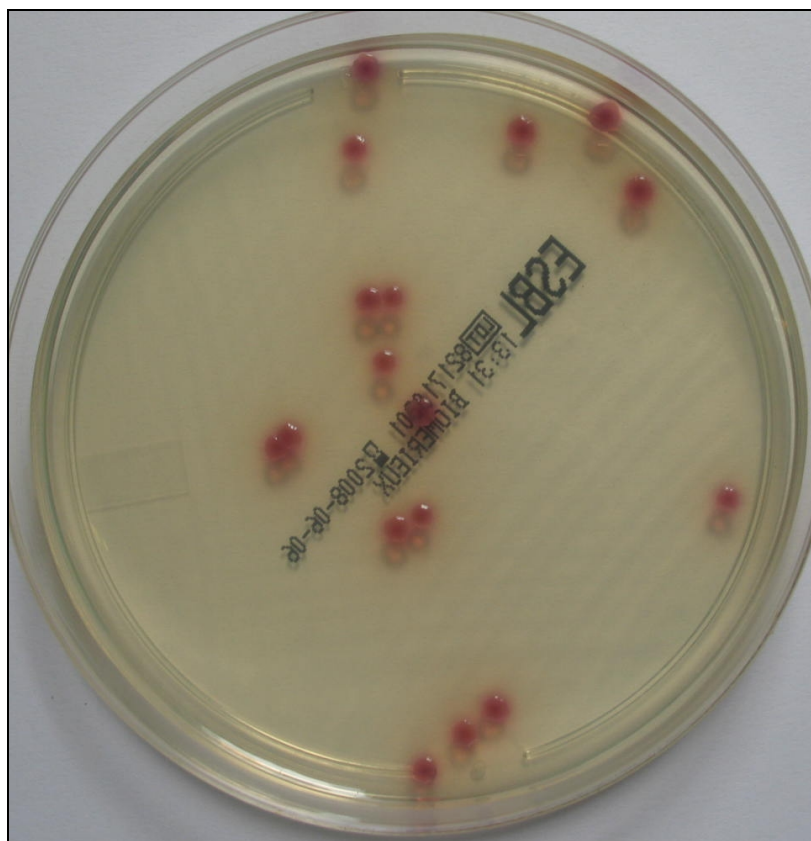
1. Melléklet



1. kép: CTX-M-15 termelő *Klebsiella pneumoniae* törzs



2. kép: SHV-2a-termelő *Klebsiella pneumoniae* törzs



3. kép: CTX-M-5 termelő *Escherichia coli* törzs



3. kép: AAC-4 termelő *Proteus mirabilis* törzs

Európai Antibiotikum Nap



Európai egészségügyi kezdeményezés



2008. november 18-án Európa szerte megrendezésre került az Első Európai Antibiotikum Nap. Ezt követően minden évben sor kerül majd az Európai Antibiotikum Nap megtartására, melynek célja, hogy felhívja az európai lakosság és az egészségügyi szakemberek figyelmét az antibiotikumok helytelen használatából eredő kockázatokra és a felelősségteljes antibiotikum-alkalmazásra.

Az Első Európai Antibiotikum Nap rendezvényeként az OEK tudományos ülést rendezett 2008. november 18-án.

Az elhangzott előadások felhívták a figyelmet az antibiotikumokkal szembeni rezisztencia kialakulásának veszélyeire, az antibiotikum surveillance fontosságára, a trendek követésében, a mikrobiológiai laboratóriumi ellátottság kiterjesztésére, a mikrobiológiai, s ezen belül bakteriológiai vizsgálatok növelésének szükségességére.



**Alapító szerkesztők: dr. Füzi Milós (PhD)
dr. Gacs Mária**

Szerkesztő: dr. Gacs Mária

Felelős szerkesztő: dr. Visontai Ildikó

**Operatív szerkesztő: Tirczka Tamás
Tóth Ákos**