

2007. VII. évfolyam 4. szám

Tartalom:

Karácsonyi vers

Fatális kimenetelű szepszist okozó, vancomycinnel szemben mérsékelt szintű heterorezisztenciát mutató *Staphylococcus aureus* (h-VISA) első izolálása Magyarországon

Kispál Gyula, Tóth Ákos, Szeberin Zoltán, Ungvári Erika, Viola, Melinda, Gacs Mária, Füzi Miklós

A biológiai hadviselés rövid története

Bognár Csaba

A humán herpesvírus 6-os és a humán herpesvírus 7-es jelentősége és vizsgálata

Csire Márta

A klinikai bakteriológiai jártassági körvizsgálat 2007/I értékelése

Gacs Mária

A vancomycin MIC Etest-el történő meghatározása *Enterococcus* spp. törzsek esetében és a kapott értékek interpretációja

Libisch Balázs

A Mikrobiológiai Körlevél ezen számának megjelentetését
a **Frank DIAGNOSZTIKA** támogatta



Kányádi Sándor:

Isten háta mögött

üres az istálló s a jászol
idén se lesz nálunk karácsony
hiába vártok
nem jönnek a három királyok

sok dolga van a teremtőnek
mindenkivel ő sem törődhet
messzi a csillag
mindenüvé nem világíthat

megértjük persze mit tehetnénk
de olyan sötétek az esték
s a szeretetnek
hiánya nagyon dideregtet

előrelátó vagy de mégis
nézz uram a hátad mögé is
ott is lakoznak
s örülnének a mosolyodnak

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

Fatális kimenetelű szepszist okozó, vancomycinnel szemben mérsékelt szintű heterorezisztenciát mutató *Staphylococcus aureus* (h-VISA) első izolálása Magyarországon

Kispál Gyula, Tóth Ákos, Szeberin Zoltán, Viola Melinda, Gacs Mária, Füzi Miklós

A világszerte növekvő gyakoriságú, súlyos methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA) infekciók kezelésének alappillére az elmúlt 30 évben a glikopeptid terápia volt.

1996-ban Japánban a Juntendo klinikán Hiramatsu és mtsi izolálták az első vancomycinnel szemben mérsékelt érzékenységet mutató *S. aureus* törzset (Mu3) egy 64 éves beteg köpetéből. A hagyományos rezisztencia vizsgálattal vancomycinre érzékenynek tűnő (MIC 3 mg/L) MRSA tenyészetet populáció analízissel is megvizsgálták, mivel a beteg nem reagált a vancomycin terápiára. A vizsgálat igazolta, hogy a törzs heterogén sajátságú (h-VISA), mivel egyes sejtjei csökkent érzékenységet (MIC 4-9 mg/L) mutattak vancomycinnel szemben (1).

Néhány hónappal később ugyanezen a klinikán, egy nagyér műtéten átesett négy hónapos gyermek műtéti sebváladékából tenyésztettek ki vancomycinre mérsékelt érzékeny MRSA törzset. Mikrodilúciós módszerrel mérve az izolátum MIC értéke 8 mg/L volt, a tenyészet minden sejtje csökkent vancomycin érzékenységet mutatott. Ez volt az első - Mu 50-ként közölt - klinikai esetből származó VISA törzs (2).

A heterogén és homogén rezisztencia fenotípust mutató törzsek (Mu3 és Mu50) PFGE vizsgálattal kapott makrorestrikciós mintázata teljesen megegyezett (1).

Mindkét esetben vancomycin terápiára refrakterek voltak a betegek, csak arbekacin (Japánban, az 1990-es években bevezetett aminoglikozid) és ampicillin-sulbactam kombináció alkalmazásával sikerült gyógyulást elérni (1, 2).

Az első eset leírását követően világszerte számos helyről közöltek h-VISA törzsek okozta infekciókat (3, 4), klonális terjedésről is beszámoltak (5), viszont jóval kisebb számú közlemény szólt olyan esetekről, melyekből VISA-t izoláltak. Az USA-ban öt év alatt csupán 8 ilyen esetet közöltek (6).

Kimutatták, hogy a homogén-VISA törzsek a heterogén-VISA törzsekből képződhetnek hosszantartó vancomycin kezelés szelekciós hatása révén (7), de ez *in vivo* nem jön létre minden esetben.

Egyre több tanulmány hangsúlyozta a VISA mellett a h-VISA jelentőségét is súlyos, glikopeptid refrakter MRSA infekciók létrejöttében (8).

A csökkent vancomycin érzékenység kialakulásának pontos mechanizmusa máig sem ismert, valószínűleg mutációs mechanizmuson alapuló többlépcsős

sejtfal felépítési rendellenességről van szó, mely a sejtfal megvastagodását okozza (9).

2002-ben, az USA-ban közölték az első magas szinten vancomycin rezisztens *S. aureus* (VRSA) izolálását, melynek háttérében - a VISA-tól eltérően - szerzett rezisztencia mechanizmus állt (6). Ezt követően 2005-ig ugyancsak az USA-ból még 3 VRSA esetről számoltak be. A vancomycin rezisztenciát minden izolátumnál plazmidon kódolt *vanA* operon okozta (8).

Tudomásunk szerint Magyarországon 2006-ig nem izoláltak bizonyítottan vancomycinre csökkent érzékenységgű *S. aureus* (h-VISA vagy VISA) törzset.

ESETISMERTETÉS:

2006. júniusában R.L. 47 éves beteg a budapesti Szív-és Érsebészeti Klinikán aorta dissectio miatt aorta re fenestrations műtéten esett át. Műtéti sebe per primam gyógyult, ám 11 nappal a műtét után belázasodott, hemokultúráiból és centrális kanüljéből MRSA és *Enterobacter cloacae* tenyésztett ki.

Az elkezdett 2x1g vancomycin és 2x400mg ciprofloxacín terápia ellenére lázas maradt, CRP és vérszejtszüllyedés emelkedett volt, a CT vizsgálat nem mutatott lényeges eltérést.

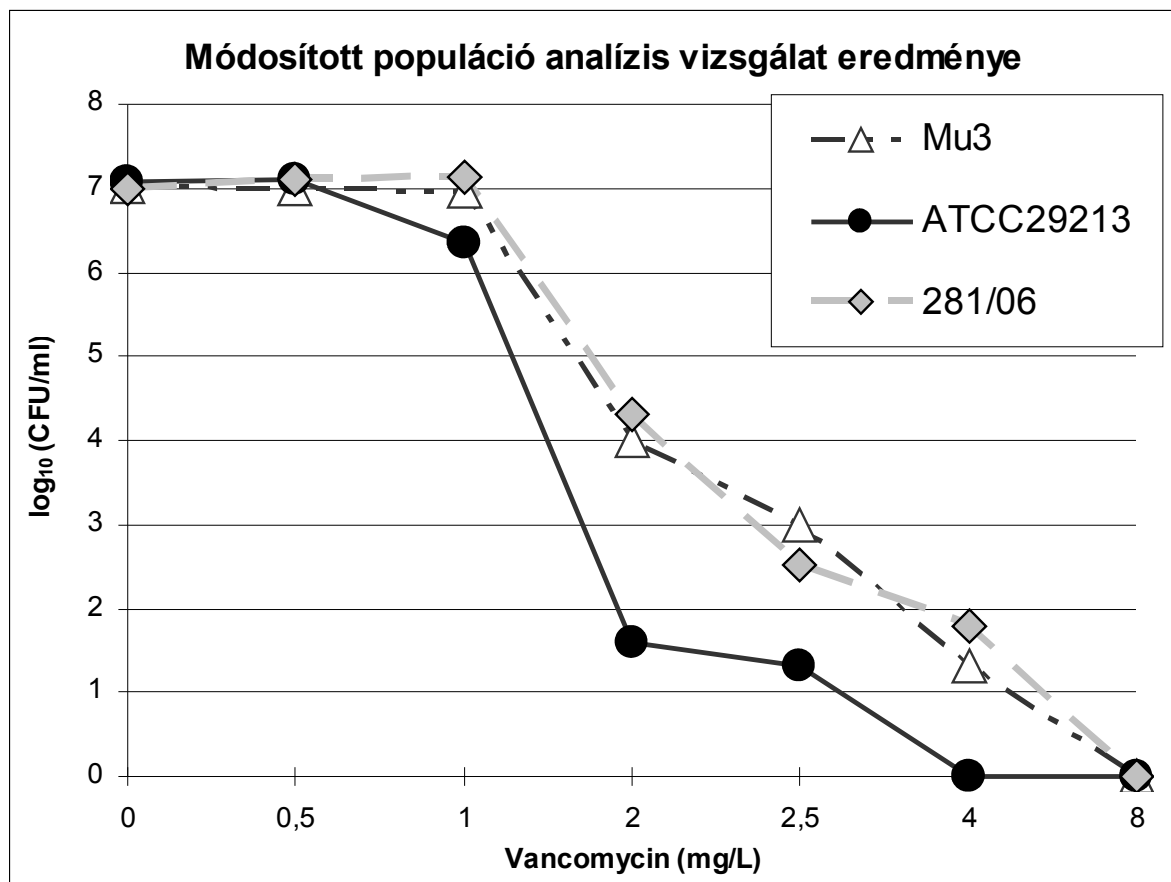
Néhány nappal a célzott antibiotikum terápia elindítása után áthelyezték a szolnoki kórház Infektológiai Osztályára, ahol az áthelyezés napján levett hemokultúráiból MRSA tenyésztett ki. Az izolált MRSA vancomycin E-teszt vizsgálattal 4mg/L-es MIC értéket, azaz csökkent érzékenységet mutatott, ezért referens laboratóriumba küldtük további vizsgálatra.

Képpalkotó eljárásokkal baloldali tüdőgyulladást és aorta ruptura gyanúját véleményezték a betegnél, ezért 3 nap múlva visszahelyezték a Szív-és Érsebészeti Klinikára, ahol szeptikus állapota miatt műtétet nem végeztek, s 2 nap múlva a beteg meghalt.

A kórbonctani vizsgálat során a halál okaként súlyos tüdőgyulladás következtében kialakult szepszist állapítottak meg.

Az OEK MRSA Referencia Laboratóriumában elvégzett módosított populáció analízis vizsgálattal igazolódott a beküldött MRSA törzs h-VISA sajátsága.

(1. ábra)



1. ábra

A vizsgálat során az adott törzs pontosan beállított sűrűségű szuszpenzióit kenik ki különböző vancomycin tartalmú táptalajokra. 48 órás inkubáció után az egyes táptalajokon kinőtt telepeket (CFU) megszámlolva ki lehet számolni az adott koncentrációjú antibiotikumot túlélő sejtek arányát a populációban. Ezeket féllogaritmikus skálán az antibiotikum koncentráció függvényében ábrázolva kapjuk a populáció analízis eredményét. A kiértékelésnél a vizsgált törzsekhez tartozó görbék alatti területet (area under curve-AUC) hasonlítják össze a Mu3 (ATCC 700698) pozitív kontroll törzs görbe alatti területével. Ha a kettő aránya $\geq 0,9$, akkor h-VISA törzsről, ha $\geq 1,3$, akkor VISA törzsről beszélünk. Esetünkben az MRSA-AUC és Mu3-AUC aránya 1,06 volt, tehát az izolátum h-VISA törzsnek bizonyult.

Ez a módszer „gold standardnak” tekinthető a vancomycin rezisztencia mértékének és a heterorezisztencia kimutatásának vizsgálatában (10).

Rutin laboratóriumi kimutatása nem problémamentes, beszámoltak róla, hogy a VISA törzsek lassú növekedése és atípusos telepmorfológiája miatt nem sikerült észlelni jelenlétüket a 24 órás primokulturán, sőt antibiotikummentes táptalajon való többszöri átoltás során el is vesztheti a törzs a vancomycinnel szembeni heterorezisztens sajátosságát (11, 12). A szokásos rezisztencia vizsgálatok (korongdiffúzió és az automatákkal végzett folyadékkihígításos MIC

meghatározás) nem mutatják ki a csökkent vancomycin érzékenységet, sőt esetenként még a rezisztenciát sem (13, 14).

Glikopeptid antibiotikum tartalmú screening lemezek használatának elterjedésével lehetne a VISA észlelések gyakoriságát és gyorsaságát növelni.

Kétféle módszert ajánlanak jelenleg erre a szakmai szervezetek: a 6mg/L vancomycin tartalmú Brain Heart Infusion (BHIA6V) és az 5 mg/L teicoplanin tartalmú Mueller-Hinton agart (MHA5T).

A szűrőlemezeken kinőtt telepeket standard vancomycin E-teszt, vagy még inkább „makro E-teszt” vizsgálattal javasolják tovább vizsgálni (2McFarland sűrűségű inoculummal, BHI táptalajon (Mikrobiológiai körlevél 2007./2. szám). Egy ez évben megjelent brit tanulmány szerint az MHA5T-vel végzett vizsgálatok jelentősen érzékenyebbek, mint az CDC által javasolt BHIA6V –nal végzettek (15).

A h-VISA magyarországi felbukkanása felhívja a figyelmet arra, hogy

- vancomycinre mérsékelten érzékeny *S. aureus* törzsek előfordulására hazánkban is számítani lehet, különösen azokban az intézményekben, kórházi osztályokon, ahol az MRSA prevalenciája nagy.
- a laboratóriumoknak minden MRSA izolálás esetén további screening vizsgálatokat indokolt végezni. Ha a glikopeptid tartalmú screen lemezen növekedést észlel, javasolt a vancomycin és teicoplanin érzékenység vizsgálata makro E-teszttel az EARSS javaslatára szerint, és pozitív esetben a törzs referens laboratóriumba küldése.
- figyelembe kell venni a CLSI (korábban NCCLS) 2006-ban megjelent változásait a *S. aureus* MIC határértékeivel kapcsolatban. (Vancomycin $\dot{E} \leq 2\text{mg/L}$) (16).
- a methicillin rezisztencia vizsgálatának specificitását növelő módszerek alkalmazásával (cefoxitin 30 μg) korongdiffúziós vizsgálat, PBP2a-fehérje és/vagy *mecA* gén kimutatás) az MRSA diagnosztika megbízhatóságának érdekében.
- a glikopeptid terápia javallatainak következetes betartásával kerülni kell szükségtelen használatukat
- az alternatív terápiás lehetőségekre is fel kell készülni a linezolid mellett quinupristin/dalfopristin, tygecyclin
- a korszerű infekció kontrollnak megfelelő szemléletű és azt lehetővé tevő körülmények között végzett betegellátással mérsékelni kellene az MRSA előfordulás növekedését.

Irodalom:

1. **Hiramatsu K., Aritaka N., Hanaki H., Kawasaki S., Hosoda Y., Hori S., Fukuchi Y., Kobayashi I.** 1997. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. **Lancet Vol. 350:**1670-1673.
2. **Hiramatsu K., Hanaki H., Ino T., Yabuta K., Oguri T., Tenover F.C.** 1997. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. **J. Antimicrob. Chemother. Vol. 40:** 135-136.
3. **Bierbaum G., Fuchs K., Lenz W., Szekat C., Sahl H.-G.** 1999. Presence of *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in Germany. **Eur. J. Microbiol. Infect. Dis. Vol. 18:**691-696.
4. **Chesneau O., Morvan A., El Solh N.** 2000. Retrospective screening for heterogeneous vancomycin resistance in diverse *Staphylococcus aureus* clones disseminated in French hospitals. **J. Antimicrob. Chemother. Vol. 45:** 887-890.
5. **Kim M.-N., Hwang S.H., Pyo Y.-J., Mun H.-M., Pai C.H.** 2002. Clonal spread of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin in a university hospital in Korea. **J. Clin. Microbiol. Vol. 40:** 1376-1380.
6. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC)** 2002. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin-USA 2002. **Morb. Mortal. Wkly. Rep. Vol. 51:** 565-567.
7. **Hiramatsu K.** 2001. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. **Lancet Infect. Dis. Vol. 1:**147-155.
8. **Tenover F.C., McDonald L.C.** 2005. Vancomycin-resistant staphylococci and enterococci: epidemiology and control. **Curr. Opin. Infect. Dis. Vol. 18:**300-305.
9. **Hanaki H., Kuwahara-Arai K., Boyle-Vavra S., Daum R.S., Labischinski H., Hiramatsu K.** 1998. Activated cell-wall synthesis is associated with vancomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains Mu3 and Mu50. **J. Antimicrob. Chemother. Vol. 42:** 199-209
10. **Wootton M., Howe R.A., Hillman R. et al.** 2001. A modified population analysis profile (PAP) method to detect hetero-resistance to vancomycin in *Staphylococcus aureus* in a UK hospital. **J. Antimicrob. Chemother. Vol. 47:**399-403.
11. **Marlowe E.M., Cohen M.D., Hindler L., et al.** 2001. Practical strategies for detecting and confirming vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*: a tertiary-care hospital laboratory's experience. **J. Clin. Microbiol. Vol. 39:** 2637-2639.

12. **Boyle-Vavra S., Berke S.K., Lee J.C., Daum R.S.** 2000. Reversion of the glycopeptide resistance phenotype in *Staphylococcus aureus* clinical isolates. **Antimicrob. Agents Chemother.** Vol.44:272-277.
13. **Tenover F.C., Lancaster M.V., Hill B.C. et al.** 1998. Characterization of staphylococci with reduced susceptibilities to vancomycin and other glycopeptides. **J.Clin.Microbiol.** Vol.36:1020-1027.
14. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** 2004. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* -New York 2004. **Morb.Mortal.Wkly.Rep.** Vol.53:322-324.
15. **Wooton M., Macgowan A.P., Walsh T.R., Howe R.A.** 2007. A multicenter study evaluating the current strategies for isolating *Staphylococcus aureus* strains with reduced susceptibility to glycopeptides. **J.Clin.Microbiol.** Vol.45:329-332.
16. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2006. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing fifteenth informational supplement

A biológiai hadviselés rövid története

Bognár Csaba

Napjainkban számos probléma (éhínség a „harmadik világban”, globális felmelegedés, környezetszennyezés, új kórokozók megjelenése, világméretű járványok kialakulásának veszélye, az ismert kórokozók antibiotikumok és kemoterapeutikumok iránti fokozódó rezisztenciája, stb.) mellett egy egészen új, és paradox módon az orvostudomány és a biológiai tudományok fejlődésével egyre veszélyesebb fenyegetéssel kell szembesülnünk, a bioterrorizmussal.

A terrorizmus a XX. század második felében vált világszerte jelentős tényezővé. A terrorizmus fogalmát, jellegét, természetét sokan és sokféleképpen fogalmazták meg. A bioterrorizmus 2001 szeptember 11. után vált a média „kedvenc” témájává, és szinte szuggerálta a közvéleményt, hogy a repülőgépes támadások után most biológiai ágensekkel, azok közül is anthrax spórákkal fognak a közeljövőben nemzetközi terrorcsoportok támadást elkövetni a „haladó világ” ellen. Sajnos e támadások 2001 októberétől be is következtek. Azt még ma is kevesen tudják, ill. kevesekben tudatosult, hogy e cselekményeket nem szervezett terrorszervezet, hanem „magányos farkas”, egy volt mikrobiológus követte el. Ez utóbbit azért tartjuk fontosnak megjegyezni, mert a későbbiekben szeretnénk hangsúlyozni, hogy „nem szervezett” elkövetőkkel is számolni kell. Az általuk használt biológiai ágensek talán nem annyira veszélyesek, nagy valószínűséggel nem tartoznak a tömegpusztító fegyverek közé, de pánikot, járványt ugyanúgy képesek kelteni, és az e célra felhasználható biológiai ágensek palettája sokkal szélesebb, mint az úgynevezett biológiai fegyvereké. Ezen elkövetők felderítése is lényegesen nehezebb feladat.

A 2001. októberi események új kihívást jelentettek a mikrobiológusok számára. Át kellett értékelni a mikrobiológiai mintavétel szabályait. Új biztonsági rendszabályokat kellett kidolgozni a biztonságos mintavételezéshez. Előtérbe került a környezeti mikrobiológiai mintavétel.

A biológiai fegyverkezés és a bioterrorizmus rövid története.

Járványok és háborúk

A háborúk során komoly járványok fellépésére is mindig számítani lehetett. A XX. századig a járványok a háborúk természetes velejárói voltak, és sokkal több áldozatot szedtek, mint maguk a hadicselekmények.

Mekka ostromának (i.e. 570) himlőjárvány vetett véget. Görögország meghódításáról Xerxész valószínűleg vérhas járvány miatt mondott le i.e. 480-ban. Athén és Spárta vitájába pestis járvány szólt bele. A keresztes háborúk során VII. Lajos félmillió seregét a Szentföldön pestis, tífusz és vérhas tizedelte. A keresztes háborúk katonái ráadásul magukkal hozták és Európában

széthurcolták a himlőt és a leprát. Napóleon seregében a moszkvai hadjárat idején (1812) kiütéses tífusz és vérhas szedte áldozatait. Az amerikai polgárháború során a hastífuszban megbetegedettek száma százezres nagyságrendű volt. A krími háború idején (1853-1856) fellépő járványok közül csak a kolera 20 000 ember megbetegedését és 11196 halálát okozta a francia oldalon, míg az angoloknál – a szakszerű orvosi ellátásnak köszönhetően – a halálos áldozatok száma csupán 4514 volt.

A krími háború és a francia-angol tapasztalatok vezettek a modern katonáorvosi szolgálatok létrehozásához, melynek eredményeképpen az 1870-71-es francia-porosz háborúban - a történelem során először - a fegyverek okozta harci sérülések számának alig negyedét érte el a fertőző betegségek okozta halálozás, mindkét oldalon. A fertőző betegségek ennek ellenére tovább szedték áldozataikat. Az I. világháború alatt az Osztrák-Magyar Monarchia egyes hadifogolytáboraiiban a kiütéses tífusz előfordulásának aránya elérte a 90 %-ot. A járványügyi helyzet súlyosbodását csak az 1917-től bevezetett tömeges védőoltások akadályozták meg. A II. világháború során Rommel El Alamein-nél elszenvedett vereségében a katonái között fellépő (csaknem 50%-ukat érintő) hasmenéses megbetegedéseknek a harcképességre gyakorolt hatása is szerepet játszott.

Biológiai fegyverek és történetük

A biológiai csapás kiváltásának gondolata valószínűleg egyidős a hadviseléssel. Az ősi civilizációk (görög, római, perzsa) döglött, rossz szagú állatokkal mérgezték ellenségeik ivóvizét. A kutak „mérgezése” Dél-kelet Ázsiában egészen a XX. századig bevett szokás volt az egymással küzdő, vetélkedő földesurak, hadurak között. A Krím-félszigeten fekvő Kaffa (ma Feodoszija) várába 1347-ben az ostromló tatár seregek pestisben meghaltak tetemeit dobálták be a falakon át hajítógépekkel. A középkorban szinte „rutin eljárásnak” számított a visszavonuló seregek részéről a falvak, a termés felégetése mellett a hátrahagyott kutak tetemekkel való fertőzése. A XV. században, Karlstein várának ostrománál, emberi hullákat és hordókba gyűjtött ürüléket egyaránt „löttek” a hajítógépekkel. A tatár „hadicselt” 1710-ben a cári hadsereg is bevetette a svédek által tartott Reval (ma Riga) ostrománál.

Amerikában, Pontiac által vezetett felkelés során két himlős beteg takaróját és zsebkendőit ajándékozták két indián törzsfőnöknek. A „himlős takaró” módszert a franciák is alkalmazták az indián háborúk során. A Brazil Indián Védelmi Szolgálat hivatalnokai föld spekulánsokkal összejátszva 1957 és 1965 között himlőt, influenzát, kanyarót és tuberkulózist terjesztettek Amazonia bennszülöttei között.

XX. Század

I. világháború

Főleg diverzáns, zavarkeltő akciók során alkalmaztak, illetve terveztek alkalmazni biológiai fegyvert.

Német ügynökök próbálták megfertőzni takonykórral 1915-ben az amerikai expedíciós hadsereg lóállományát. 1917-ben a francia állományból Mezopotámiában 4500 öszvért sikerült megfertőzniük.

II. világháború és a „hidegháború”

Szovjetunió: 1941-ben, két évvel a sztálingrádi csata előtt tularémia-fegyvert állított elő. 1942-ben a Dél-Oroszországi német hadjárat átmenetileg elakadt. A Volga térségében 100.000 orosz megfertőződött tüdő-tularémiában. („Kedvezőtlen” szélirány).

Németország: Az I. világháborút követően biológiai programja csak 1936-ban indul újra, de az intenzív fejlesztést Adolf Hitler parancsa 1942-ig (a sztálingrádi vereségig) tiltotta. Munkájuk során létre hozták a biológiai fegyver új, ma is használható bevetési módszerét a biológiai aeroszolt, amely a biológiai fegyvert igazi tömegpusztító fegyverré képes tenni. Kifejlesztették az elektromágneses aeroszol generátort és a nagy belső nyomású üvegbombát, a **Himler-gunt**. Az általuk kifejlesztett robbanó aeroszol és a V2-es ballisztikus rakéta egy rendszerbe foglalva még ma is tökéletes biológiai tömegpusztító fegyver lenne.

Japán: Programja az 1920-as években indult, és a II. világháború alatt teljesebben ki. Ekkor fejlesztették ki az ún. elsőgenerációs biológiai fegyvereket, melyek feladata nem annyira a közvetlen pusztítás, mint inkább az irányított járványkeltés volt. Mandzsúria 1932-es megszállása után az Ishii Shiro orvos altábornagy vezette 731-es Víztisztító Alakulat és a Vakamacu Judzsiro állatorvos vezérőrnagy által vezetett 100-as különleges egység kínai polgári lakosokon, majd később szövetséges hadifoglyokon hajtottak végre kísérleteket emberi kórokozók felhasználásával. (A kísérleteknek becslések szerint 10.000 ember esett áldozatul.) Tevékenységük során több száz kg pestis-, kolera-, anthrax-, és tífusztenyésztet állítottak elő. Fertőzött rágcshálók és bolhák tömegét tenyésztették és bocsátották szabadon a megszállt területeken.

A biológiai harcanyagok alkalmazásának több lehetőségét is kidolgozták, melyeket a megszállt területek kínai lakosságán ki is próbáltak: tífusszal fertőzött zsemleket hagytak hátra az éhező kínai lakosok számára. Nimpo város körül 1940-ben pestissel fertőzött bolhákat szórtak le repülőgépről. A visszavonuló csapatok 1942-ben elszennyezték a víznyerő helyeket, folyókat, tavakat. A civil lakosság számára fertőzött süteményeket „veszítették el”,

valamint mesterségesen megfertőzött foglyokat engedtek szabadon. Kidolgozták a fertőzött legyek célba juttatásához a 25, 50 és 100 kg-os **Udzsi** nevű porcelán bombát polgári célpontok, valamint a **Ha** nevű, 1500 fertőzött repeszt tartalmazó acéltestű bombát katonai célpontok ellen.

A II. világháború során a japán biológiai fegyverkezési program dokumentációja, eredményei a Szovjetunió birtokába kerültek.

Anglia: Nagy Britannia biológiai hadviselési programja az 1940-es években indult. Egy kis létszámú egység kezdte meg a biológiai fegyverek fejlesztését, valamint az ellenük való védekezés lehetőségeinek kutatását Porton Down-ban. Anglia meg volt győződve, hogy Németország biológiai fegyvert fog bevetni ellene, ezért kutatásait az ún. „**N-bomb** project” keretében folytatta. A project a „bosszúállás fegyverének” kidolgozását célozta. A fejlesztés során a Skócia partjainál fekvő Gruinard szigeten végeztek anthrax-al kísérleteket. A munka olyan „sikeres” volt, hogy 45 éven keresztül az évente partra tett birkák mindegyike elpusztult. A szigetet 1979-től 1987-ig mentesítették, és csak ezután oldották fel a szigorú zárlatot. Végül is a támadó jellegű (offenzív) kutatásokat 1957 végén leállították.

Amerikai Egyesült Államok: A biológiai fegyver kutatások 1941 végén kezdődtek Fort Detrick-ben, főként humán pathogén kórokozókkal és toxinjaikkal, majd később állat- és növénypathogén mikroorganizmusokkal is. Az anthrax kórokozója mellett a tularémia, a Q-láz, valamint a sárgaláz kórokozója is a fegyvergyártási kísérletek alanyává vált.

A sárgaláz kiválasztásában az is szerepet játszott, hogy Eurázsia északi féltékén a betegség és kórokozója orvosföldrajzi értelemben ismeretlen, és így az ott élő civil lakosság gyakorlatilag teljesen fogékony a betegséggel szemben. A sárgaláz terjesztését mesterségesen, nagy mennyiségben szaporított fertőző szúnyogok (termelésük 1959-ben elérte a napi 500 000 élő szúnyogot) speciális repülő bombákkal, ill. rakéta-robbanófejekkel való célba juttatásával tervezték.

A Manhattan-tervhez (az „atombomba” előállításához) hasonlóan szigorúan titkos fejlesztési programokban optimalizálták az előállított biológiai fegyverek harci alkalmazásának körülményeit. Vizsgálták az aeroszol felhőként alkalmazott biológiai fegyverek hatását befolyásoló tényezőket, az aeroszol részecskék optimális cseppátmérőjétől a hatékony kijuttatás meteorológiai feltételéig. Kutatásaik során kiterjedten alkalmaztak imitáló eljárásokat apathogén baktériumok (*Bacillus subtilis* var. *niger*, *Serratia marcescens*) felhasználásával. A hidegháborús évek alatt összesen 239 alkalommal végeztek vizsgálatokat tengeri partszakaszokon, kisebb - nagyobb városokban, nagyvárosok metrórendszerében (pl.: New York), az alkalmazási feltételek optimalizálása, illetve a hatékony védekezés kidolgozása céljából. Próbatámadásokat végeztek Winnipeg, Saint Louis és Minneapolis ellen, szovjet

városok (Leningrád, Moszkva, stb.) elleni támadást modellezve. Egy bomba 536 bombácskát tartalmazott, melyek egyenként 30g anthrax spórát bocsátott volna ki. (Saint Jo Project – 173 kísérleti kiszórás.).

Az USA offenzív biológiai fegyver kutatási programját R. Nixon elnök rendeletére 1969-ben szüntették be. (1940-es évek elején OSS (Stratégiai Szolgálatok Hivatala) ügynökök *S. aureus* enterotoxin B-vel mérgezték meg Hjalmar Schacht-ot, a III. Birodalom pénzügyi „agyát”.)

Egyes elemzők szerint az angol és az amerikai kísérletek nem váltották be a katonai stratégiák a biológiai fegyver, mint tömegpusztító fegyver iránti reményeit

Szovjetunió: 1931-ben alakul az első titkos laboratórium. 1933-ban a GPU (későbbi NKVD) Szuzdalban egy kolostorban saját kutatóbázist alakít ki. A Vörös Hadsereg 1933-ban hozza létre Perkusovó-ban saját bázisát. (E bázis települ át később az Aral-tó két szigetére, a Vozrozsdenyije- és a Komszomolszk-szigetre. Itt hozzák létre a világ legnagyobb szabadtéri biológiai fegyver tesztelő terepét. Új lendület a japán eredmények megszerzése után, 1945-től.

1946-ban Berija (a KGB vezetője) felépíti az új kutató komplexumot Szverdlovszk-ban. A Földművelésügyi Minisztériumban új főosztályt hoznak létre Tudományos és Termelő Vállalatok Főigazgatósága néven, melynek feladata az állatállomány, és a növénytermesztés elleni fegyverek kifejlesztése. 1973-1974 között létrehoznak egy új kutató és termelő intézet-hálózatot Biopreparat néven. Ekkor a biológiai fegyverkezés központjai: Akszu, Berdszk, Pmutnyinszk, Pokrov, Szverdlovszk, Zagorszk és Aralszk.

A „szverdlovszki baleset”: 1979 márciusának utolsó péntekjén a szverdlovszki létesítmény a 19-számú telepén, ahol a nagy mennyiségben termelt anthrax spóra szárítása folyt, műszak végeztével a szokásos karbantartási munkák folytak. Az eltömődött levegőszűrőt a technikus eltávolította, de a következő műszak előtt azt nem pótolták, így nagy mennyiségű anthrax spóra került a környezetbe. A következő néhány nap folyamán a szemközt levő kerámiagyár éjszakai műszakos dolgozói valamennyien megbetegedtek. A szovjetek évekig tagadták a balesetet. A szovjet vezetés 1993-ban (Borisz Jelcin május 27-én, a Komszomolszkaja Pravdának adott interjújában) ismerte el az esetet. Az áldozatok pontos száma azonban máig sem ismert. A világ először az 1990-es évek elején értesült a szovjet biológiai hadviselés programról, miután Vlagyimir Paszecsnyik, majd később a Biopreparat igazgatóhelyettese, Kanatjan Alibekov is emigrált. A kísérleteket Borisz Jelcin 1992-ben, a 390-es számú elnöki rendeletben tiltotta be.

A biológiai fegyverkezési program hivatalos leállításáig a Biopreparat mintegy 6 500 magasan képzett tudományos dolgozót, köztük legalább 1000 PhD-

fokozattal rendelkező tudóst, 150 felső vezetőt, valamint 25 000 egyéb dolgozót foglalkoztatott. Évi költségvetése közel 100 millió régi rubel volt. Működése alatt fegyvert állított elő:

***Bacillus anthracis*-ből**

***Francisella tularensis*-ből**

***Yersinia pestis*-ből**

Q-lázból

Venezuelai lóencephalitis vírusából.

Az 1980-as évektől kezdve előtérbe kerültek a rekombináns DNS-technikák. Előállítottak emberi myelin gént hordozó *Legionella pneumophila*-t. A Szovjetunió 1992. előtt több mint 30 tonna *B. anthracis* spórát és több mint 20 tonna himlő vírust tárolt. K. Alibekov könyvében azt írja, hogy 1988-ban parancsot kapott SS-18-as interkontinentális rakéták anthrax-al való „feltöltésére”. Egy ilyen rakéta tíz, egyenként 500 kilótonnás robbanófejet vihet magával. Ilyen rakétákat szándékoztak New Yorkra, Los Angelesre, Seattle-re és Chicago-ra irányítani.

A szovjet biológiai fegyverkezési program tudományos kapacitását tekintve bármit előállíthatott, amit csak a hadvezetés céljai megkívántak. A program mind tartalmában, mind módszereiben lezárta a klasszikus biológiai fegyverek korát, és utat nyitott a részben, vagy teljesen módosított genetikai állományú kórokozók harctéri felhasználása előtt.

A biológiai fegyverből valódi tömegpusztító fegyver vált.

Magyarország: Budapesten 1938-ban egy tüzérszertár területén, négy diplomás és két asszisztens munkatárssal kezdte meg működését a Magyar Királyi Honvédség Egészségügyi Ellenőrző Állomása. A Bartos Dezső orvos ezredes vezette csoport a kor legfejlettebb technikai színvonalán *B. anthracis*, *Y. pestis*, *C. tetani* és *S. Paratyphi-A* baktériumok tüzérségi lövedékben, ill. gyalogsági lőszerben való felhasználását vizsgálta. Kísérleteik kiterjedtek ködképző berendezések, valamint ivóvíz hálózatok felhasználásának lehetőségeire is. Készítettek fertőzött csokoládét, fogkrémet és kölnit is. Vizsgálták az UV-sugárzás baktériumokra gyakorolt hatását. Kapcsolatot tartottak az olasz katonatorvosi intézetekkel. A háború után Bartos beszámolt kutatásairól Farkas Mihály akkori belügyminiszternek is, szorgalmazva a kísérletek újraindítását.

A Kubai válság, és a vietnámi háború : A „Marshall-terv” keretében, a Kubában partraszálló katonák „védelmében” az ellenséget cselekvésképtelenné tevő mikrobákat, ill. toxint terveztek „koktél” formájában bevetni.

- *S. aureus* enterotoxin-B: (3-12 óra multán hidegrázás, fej- és izomfájdalom, magas láz, köhögés. A láz 2 napig, a köhögés hetekig tart).

- Venezuella-i lóencephalitis (VEE) vírus: (5-10 nap után émelygés, hányás, láz, kb. 3 napig, majd hetekig gyengeség).
- Q-láz (10-20 nap után láz, szem és arcfájdalom, hallucinációk, cselekvésképtelenség legalább 2 hétig.).

Vietnam, Laosz: Az USA a Ho Si Minh-ösvényen történő fegyverszállítás megakadályozására himlő bevetését latolgatták

A Szovjetunió állítólagos biológiai támadása Laoszban („Sárga eső”). Bizonyítani a támadást eddig nem sikerült.

Ma 17 országban folynak biztosan, vagy nagy valószínűséggel biológiai fegyverkutatások annak ellenére, hogy 140 állam írta alá 1972-ben a Biológiai és vegyifegyverekről Szóló Egyezményt. Ezen 17 ország között van:

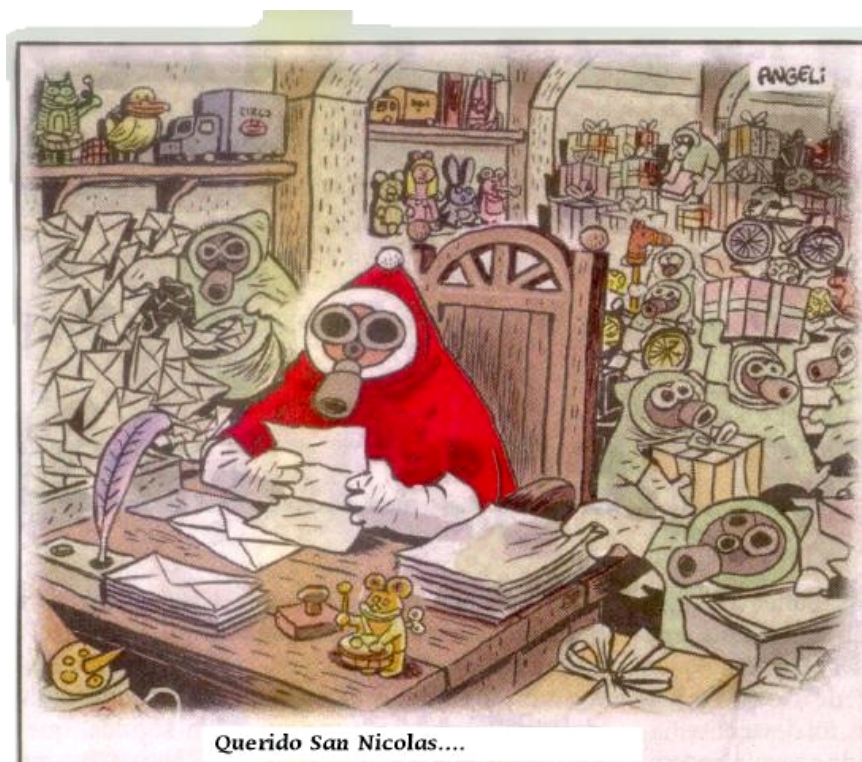
- Észak-Korea, Dél-Korea, Bulgária, Irán, Egyiptom, Izrael, Vietnam, Laosz, Kuba, Tajvan, Kína, Dél-Afrikai Köztársaság, Líbia. Szíria. (Lukács András, Mórvai Péter: Bioterror. Sprinter Kiadó, Budapest, 2002.)
- Irán, Izrael, Észak-Korea, Kína, Líbia. Szíria, Tajvan (Dr Faludi Gábor orvosvezető: A biológiai fegyver jelentőségének megváltozása. Honvéderős, Budapest, 1998.)

1. táblázat: Az USA és a Szovjetunió biológiai harcanyag- produktuma (Judith Miller, Stephen Engelberg, William Broad: Baktériumháború)

	Egyesült Államok Tonna/év	Szovjetunió Tonna/év
<i>Staphylococcus aureus</i> enterotoxin-B	1,9	0
<i>Francisella tularensis</i>	1,6	1 500
<i>Coxiella burnetti</i> (Q-láz)	1,1	0
<i>Bacillus anthracis</i>	0,9	4 500
Venezuelai lóagyvelő-gyulladás	0,8	150
<i>Clostridium botulinum</i> toxinja	0,2	0
<i>Yersinia pestis</i>	0	1 500
Himlő	0	100
<i>Burkholderia mallei</i>	0	2 000
<i>Marburg virus</i>	0	250

A következő számban a biológiai terrorizmus rövid történetével folytatjuk.

1. Faludi Gábor dr., RókuszLászló dr.: A biológiai fegyver Magyar Honvédség Egészségügyi Csoportfőnökség, Budapest 2003
2. Rózsa Lajos (2002): A biológiai hadviselés története I-II. Természettudományi Közlöny **133.**, 5., 217-220, **133.**, 6., 265-266
3. Ken Alibek, Stephen Handelman: Biohalál Ármádia, Budapest, 2000.
4. Judith Miller, Stephen Engelberg, William Broad: Baktérium-háború Gabo, Budapest, 2002
5. Kamen, P., Emil, P.(2004): Organization of Military Medical Response to Bioterroristic attacks
6. Christophrer, G. W., Cieslak, T. J., Pavlin, J.A., Eitzen, E. M. Jr. (1997): Biological warfare: a historical perspective. JAMA **278.**, 412-417
7. Davis, C. J. (1999): Nuclear blindness: an overview of the biological weapons programs of the former Sonjet Union and Irak. Emerg. Infect. Dis. **5.**, 509-512
8. Eickhoff, T. C. (1996): Airborne disease, including chemical and biological warfare. Am. J. Epidemiol. **144.**, S39-S46
9. English, J. F. (1999): Overview of bioterrorism readiness plan: a template for health care facilities. Am. J. Infect. Control **27.**, 468-469
10. Harris, S. (1992): Japanese biological warfareresearch on humans: a case study on microbiology and ethics. Ann. N. Y. Acad. Sci. **666.**, 21-52



A humán herpesvírus 6-os és a humán herpesvírus 7-es jelentősége és vizsgálata

Csire Márta¹, Ongrádi József² és Berencsi György¹

¹Országos Epidemiológiai Központ, Virologiai Főosztály, Budapest

²Semmelweis Egyetem, Közegészségtani Intézet, Budapest

A több mint 130 különböző herpesvírust tartalmazó *Herpesviridae* család tagjait izolálták már minden fontosabb evolúciós lépcsőt képviselő magasabb rendű állatfajból (kagylók, halak, kételtűek, hüllők, madarak, emlősök). E népes családból jelenlegi tudásunk alapján nyolc herpesvírust sorolunk az emberi megbetegedést okozók közé: Herpes simplex vírus 1 (HSV-1 vagy humán herpesvírus /HHV/-1); Herpes simplex vírus 2 (HSV-2 vagy HHV-2); Varicella-zoster vírus (VZV vagy HHV-3), Epstein-Barr vírus (EBV vagy HHV-4); Cytomegalovírus (CMV vagy HHV-5); Humán herpesvírus 6 (HHV-6A és HHV-6B); Humán herpesvírus 7 (HHV-7) és a Humán herpesvírus 8 (HHV-8 vagy Kaposi szarkóma herpesvírus). Kívülük egy a majom herpesvírus (B-vírus) fertőzheti még az embert.

Herpesviridae családon belül az *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* és *Gammapherpesvirinae* alcsaládot különböztetünk meg. A HHV-6 és a HHV-7 a CMV-vel együtt a *Betaherpesvirinae* alcsalád tagjai és a lympotrop herpesvírusok közé tartoznak. A HHV-6 sejtreceptora a CD46 receptor, a HHV7 receptora pedig egy heparan sulfate proteoglycan. Mind a HHV-6 mind a HHV-7 a CD4+ helper T-sejtekben szaporodik a legjobban. Mindkét vírus a heveny fertőzést követően egész életen át lappang a T4 sejtekben. A HHV-6B és HHV-7 cseppfertőzéssel is terjed. A fejlett országokban a gyermekek túlnyomó többsége 12 hónapos korára fertőződik HHV-6B-vel. A HHV-7 80-85%-os átfertőzöttség ugyanilyen módon 3-4 éves kor körül állandósul. A HHV-6A serdülőkortól fertőzi az embereket a mérsékelt égövi országokban, a trópusokon már gyermekkortól kezdve nagyon elterjedt. A HHV-6A is a lymphocytákban, macrophagokban élethossziglan tartó lappangó, de sokszor reaktiválódó fertőzést hoz létre. A HHV-6A és HHV-6B gyakorlatilag két külön speciesnek tekintendő a nagyfokú molekuláris és biológiai hasonlóság ellenére, ami legjobban az egyéb betegségeket okozó képességükben nyilvánul meg [19].

A vírushordozást specifikus IgG kimutatásával, vagy a fehérvérsejtekből specifikus primerek alkalmazásával PCR vizsgálattal lehet kimutatni. A heveny fertőzést a HHV-6 esetén az *exanthema subitum* kórképe, míg a HHV-7 esetén a *pythiriasis rosea* klinikai tünetei jellemzik.

A **Humán herpesvírus 6**-ot 1986-ban írták le. Az izolátumok két variánsként, mint HHV-6A és HHV-6B, csoportosíthatók. A B variáns az *exanthema subitum (roseola infantum)* kórokozója, bár a gyermekkori

elsődleges fertőződés legtöbbször tünetmentes vagy nem jellegzetes. A HHV-6 A és B látens fertőzést, lázas-görcsös állapotot, idegrendszeri tüneteket, valamint hepatitist is okozhat [1, 2]. Egyes emberekben a HHV-6 DNS vertikálisan öröklődhet. Szervtranszplantációval járó immunszuppresszió következtében a HHV-6 reaktiválódhat és *encephalitist, pneumonitist, hepatitist* idézhet elő. [3]. Ezért fontos a szervátültetés előtt virológiai vizsgálatot végezni, és pozitív donor esetében antivirális védelmet biztosítani (ez a HHV-6 és 7 esetében gancyclovir). A donorok CMV, HHV-6 és HHV-7 szerológiai vizsgálata nem ütközik nehézségekbe, és életmentő lehet [4, 5].

A **Humán herpesvírus 7-et** 1990-ben izolálták egy egészséges ember CD4+ sejteiből. A *pityriasis rosea* kórokozója, de okozhat *exanthema subitumot* is.

A HHV-7 az elsődleges fertőzést követően fertőzi a CD4+ immunsejteket, a nyálmirigyek sejteit és más szerveket. A HHV-7 az aktivált, latensen fertőzött, a perifériás vér egy magvú sejtjeiből szabadulhat ki. A T-lymphocytákban latens, viszont a nyálmirigy hámsejtekben produktív, perzisztáló fertőzést hoz létre. A vírus szerkezeti fehérjéit más szövetekből (tüdő, máj, vese, mandula, bőr, emlőmirigy) is kimutatták. HHV-7 gyakran izolálható egészséges emberek nyálából, és ez lehet a családon belüli átvitel legvalószínűbb formája, feltételezhető az anyatejjel történő átvitel lehetősége is. Transzaktiválhatja a HHV-6-ot. A HHV-6 és HHV-7 DNS kimutatható méhnyak váladékból is és egyes vizsgálatok szerint az egészséges egyének 10-20 %-ban jelen van [6].

Terhesség során a kimutathatóság még gyakoribb és felmerül a congenitalis terjedés lehetősége is. HHV-7-nek szerepe lehet az immunhiányos egyének megbetegedéseiben. A HHV-6 és a HHV-7 közreműködhet az ARDS (acut respiratorios distress syndrome) létrehozásában [7, 8].

HHV-6 és a Langerhans sejt hystiocytosis (LCH) kapcsolata

Az OEK Virológiai Főosztály laboratóriumában 12 LCH-ban szenvedő beteg lymphotrop herpesvírus vizsgálatára volt lehetőség, bennük a következő herpesvírusok jelenlétét lehetett kimutatni (fészkés PCR): 10 betegben EBV, 1 betegben CMV, 6 betegben HHV-6 és 5 betegben HHV-8 DNS volt kimutatható. Közülük 9 betegnek volt EBV, 8-nak CMV, 10-nek HHV-6 ellenes antiteste, de egyetlen egynek sem volt HHV-8 specifikus IgG-je.

A LCH-ban szenvedő betegek közül egynek 17 éven keresztül vett mintáit sikerült virológiailag megvizsgálni. A betegnek 17 éven át folyamatos HHV-6 virémiája volt. A többször különböző testtájakon kiújuló fájdalmas elváltozást műtétekkel sikerült eltávolítani. A hármas herpesvírus fertőzést pedig (EBV, HHV-6, HHV-8) 3 heti Famcyclovir és 6 havi interferon- α terápiával sikerült meggyógyítani. A HHV-6 virémia azonban folyamatosan fennmaradt. A későbbiekben kialakuló herpes zoster, majd csontkárosodást

Etoposide+Methylprednisolon és újabb 6 havi interferon- α adása állította meg. 30 éves korában a koponyakárosodást műtét és Zolendronate infúzió gyógyította meg. A beteg szövettani mintái HHV-6 DNS pozitívnak bizonyultak, EBV és HHV-8 vírusok nem voltak kimutathatóak.

Már korábban is felmerült a lehetőség HHV-6 és HHV-8 fertőzés előfordulása valamint az LCH közötti kapcsolat megfigyelésére [9], de 17 éven át tartó virémiát eddig senkinek sem sikerült nyomon követni [10].

HHV-6 és a sclerosis multiplex (SM) kapcsolata

A sclerosis multiplex (SM) a központi idegrendszer krónikus, demyelinizatio-val járó betegsége, amelynek oka és gyógyítása jelenleg nem ismert. Genetikai praedispositio és környezeti ártalmak járulnak hozzá a háttérben zajló autoimmun folyamatokhoz [11, 12]. A betegség iránti hajlam régóta ismert [13]. Előfordulása az Egyenlítőtől mindkét irányban a sarkok felé távolodva növekszik. Az európai eredetű népesség a legveszélyeztetettebb, feketékben ritka, és ismertek betegségmentes népcsoportok is. Egyes MHC antigének jelenlétéhez is társítható a gyakoribb előfordulás (HLA-DR2, -DQw1), a HHV-6A és az MHC2TA gén-polimorfizmusa közt is összefüggést találtak [14]. Környezeti hatásra utalnak egyes járványok [11, 14] Amennyiben a prevalencia 30/100 000 lakos feletti, magas a kockázat a betegség kialakulására, Magyarországon - a különböző felmérések szerint - ez 32-79/100 000 lakos közötti, így veszélyeztetett országnak számít [13].

Eddig több vírus esetleges kórokozó szerepét vizsgálták, a DNS vírusok közül a *Herpesviridae* család tagjai (HSV-1, VZV, EBV) esetében találtak egyértelmű összefüggéseket a betegséggel, de egyik vírus kóroki szerepét sem lehetett bizonyítani [12, 15]. A felmérések nagy része a betegek savójának, esetenként liquorának szerológiai vizsgálatára korlátozódott. Az utóbbi időben a HHV-6A és 6B változata esetében találtak egyértelmű molekuláris bizonyítékokat a betegséggel kapcsolatban [15]. A HHV-6B gyermekkori fertőzést követően a CD4 immunsejteken kívül az agy egyes sejtjeiben is lappangó fertőzést hozhat létre. HHV-6B hordozó, termelő idegsejt kultúrák is ismertek [15]. A HHV-6B antigének, DNS és mRNS mérése alapján megállapították, hogy a betegség előrehaladása, a demyelinizatio és az idegsejtek elhalása, főleg relapszusok idején, párhuzamos a HHV-6B reaktiválódásával [12, 15, 16]. Saját vizsgálatainkban megállapítottuk, hogy a betegség rosszabbodásával a liquor magasabb anti-HHV-6B IgG és IgM szintje a vírus intrathecalis szaporodását követi. A HHV-7 betegséggel kapcsolatos szerepét kizártuk [17]. Az SM gyakoribb a mérsékelt égövön élő emberekben, ahol a HHV-6B terjedt el [16]. Más szerzők a HHV-6A fokozott neurovirulenciáját állapították meg, ugyanis a liquorban ill. ennek sejtjeiben gyakrabban mutatható ki PCR-rel, mint a HHV-6B [1, 16]. Szaporodó HHV-6A

gyakran található relapszáló-remittáló betegek perifériás fehérvérsejtjeiben [16, 18]. Fokozott lymphoproliferáció, anti-myelin reaktivitás, demyelinizálódó agyterületek, oligodendrocyták pusztulása jár együtt a HHV-6A szaporodásával. A betegek vérenek fehérvérsejtjeiben és szérumában a HHV-6A megnövekedett jelenlétét és expresszióját észlelték relapszusok idején, de nem észlelték ezt más betegek másodlagos progressziója során. Az SM tanulmányok jelentős részében nem fordítottak gondot a HHV-6A és B elkülönítésére, ami rengeteg ellentmondás alapja. Mindkét HHV-6 változat U24 géntermékének első 13 szekvenciája megegyezik a myelin bázikus protein egy 13 tagú szekvenciájával, ami arra utal, hogy mindkét vírus hozzájárul a betegségekre jellemző autoimmun folyamathoz. Talán a HHV-6A a betegség elindításában, a HHV-6B a progresszióban és a relapszusok kiváltásában játszhat inkább szerepet, ami további vizsgálatokat igényel.

Lymphotrop herpesvírusok a magzatvízben és az anyai vérben

Herpesvírus DNS-eket vizsgáltak terhes nők magzatvíz és vérmintáiban. 106 magzatvíz és 106 anyai vérminta eredményei alapján a magzatvíz mintákból herpesvírus DNS 27 mintából volt kimutatható. CMV-t 9, HHV-7 8, HHV8 5, HHV4 DNS-t 4 mintában lehetett kimutatni, a HHV-6 DNS azonban csak egyetlen mintában volt kimutatható. A 106 anyai vérmintában, mind a fehérvérsejtben, mind a plazmában jelenlévő lymphotrop herpesvírus DNS is kimutatható volt. HHV-8 pozitív 7, HHV-6 pozitív 3, EBV pozitív 1, CMV pozitív 1, HHV-7 pozitív 1 minta volt.

Az anyák vérmintáiból és ezen anyák magzatvíz mintáiból kimutatható herpesvírus DNS-ek különböztek. Ez arra utalhat, hogy a vírus átjutása a placentán keresztül időigényes folyamat (hasonlóan a baktériumokhoz és a protozoonokhoz). További kutatások szükségesek annak a tisztázására, hogy a vírus placentán való átjutása immuntoleranciát indukálhat-e a magzatokban?

HHV-6, HHV-7 hatása más vírusokra

A HHV-6 ugyanazon immunsejteket fertőzi, mint a humán immundeficiencia vírusa (HIV). A két vírus közti kapcsolatot vizsgálva megállapították, hogy a HHV-6A igen korai géntermékei fokozzák a HIV-kötő CD4 receptor kifejeződését, ezáltal növelve a HIV-fertőzés bekövetkeztét. A HHV-6A fokozza a CXCR4 HIV-koreceptor és a RANTES kemokin (mely a CCR5 koreceptor természetes ligandja) termelődését, ezáltal gyorsítja a CCR5 monocytotrop HIV virionok közül az agresszív CXCR4 lymphocytotrop mutánsok szelektálódását. A HHV-6A fokozza a nukleáris transzkripciós faktorok termelődését, ezeknek a HIV genom regulátoros szekvenciáihoz való kötődését, ezáltal a HIV aktiválódását, fokozott szaporodását eredményezve. A HHV-6A korai géntermékeinek hatására fokozódik egyes cytokinek (pl. tumor

nekrózis faktor /TNF/ α termelődése), amely in vitro akár 30-szorosára növelheti a HIV szaporodását. HHV-6A hordozás hajlamosít HIV fertőzésre, mindkét vírussal fertőzött egyéneknél a HIV-termelés, CD4⁺ sejtpusztulás, AIDS-halálozás szignifikánsan magasabb, mint HHV-6A negatív HIV fertőzötteknél [19]. A HHV-6B közvetlenül és cytokinek hatásán keresztül is gátolja a HIV szaporodását. A HHV-6A igen korai géntermékei fokozzák a 16-os, 18-as humán papillomavírus E6, E7 génexpresszióját, ezáltal a méhnyak rák kialakulásának veszélyét. A HHV-6A viraemia súlyosbítja a HCV okozta májfibrózist és a JC-vírus hatását progresszív multifokális leukoencephalopathia során. A HHV-6 és HHV-7 együttesen aktiválhatja a kanyaróvírus, HSV-1, CMV, EBV, dengue-vírus, emberi adenovírus, Coxsackievírus B, humán parvovírus B19, *Legionella pneumophila*, *Pneumocystis carinii* szaporodását, ritkán afrikai és endémiás Kaposi-sarcomában is előfordulhatnak. A HHV-7 a CD4 receptorokhoz kötődve gátolja immunsejtek HIV-fertőzését. Az eltérő transzaktiváló és betegséget okozó hatásokban a fertőzött CD4⁺ immunsejtek megváltozott cytokin termelése alapvető szerepet játszik. A HHV-6A igen erős TNF- α indukáló. A HHV-6B immuszuppresszív hatásai a Th1 és Th2 cytokin rendszerek együttes elnyomásán alapulnak. Akut HHV-7 fertőzés hatására a fokozott IL-2, IFN- γ , IL-10 termelés gyors gyógyulást eredményez [20].

A HHV-6 és a HHV-7 májkárosító szerepe

Már többször előfordult, hogy heveny májkárosító vírus laboratóriumi diagnózisa nem hepatitis A vírus (HAV), nem hepatitis B vírus (HBV) és nem hepatitis C vírus (HCV) volt. (Ismételten előfordult, hogy víruseredetűnek tartott heveny májkárosítás esetén hepatitis A (HAV), hepatitis B (HBV) és hepatitis C (HCV) vírus fertőzés nem volt igazolható.) Irodalmi adatok alapján a következő vírusok képesek még, különböző gyakorisággal májkárosodást okozni (azaz Non-A, Non-B, Non-C májbeteg): hepatitis E vírus (HEV), hepatitis G vírus (HGV), TT vírus (TTV), SEN vírus (SENV), CMV, HHV-6, HHV-7, HHV-8. A HHV-6 és HHV-7 diagnosztikai fontosságát két, a közelmúltban szervátültetésen átesett beteg története is alátámasztja. Az egyik betegnél a májtranszplantáció után az eltávolított májban kimutatható volt a HHV-6 vírus DNS. HHV-6 specifikus IgG azonban kétes eredményt adott. A májtranszplantációt követően a donor máj mintáiból kimutatható volt mind a HHV-6 mind a HHV-7 vírus DNS-e is. A beteg halála után a tüdőmetszetből is kimutatható volt a HHV-6 vírus. A másik beteg esetében az eltávolított májban a HHV-6 és HHV-7 DNS is jelen volt. A transzplantációt követő 20. napon a beteg vérmintájából a HHV-6 specifikus IgG is kimutatható volt. Valószínűleg ez az immunválasz mentette meg a beteg életét.

Amennyiben a donor máj nem tartalmaz memóriasejteket, a májat megbetegítő vírusok ellen, a recipiens nagy valószínűséggel halálra van ítélve,

mert az eltávolított májat károsító vírusok az immunszuppresszió körülményei között, valószínűleg tönkre fogja tenni a transzplantált szervet is.

Indokolt lenne transzplantációs protokollba a donorok CMV vizsgálatán kívül a HHV-6 és HHV-7 vizsgálatát is bevonni, valamint a HEV, HGV, TTV és SENV közvetlen víruskimutatással történő ellenőrzését is.

Irodalomjegyzék

1. Ahlqvist J, Fotheringham J, Akhyani N, Yao K, Fogdell-Hahn A, Jacobson S: Differential tropism of human herpesvirus 6 (HHV-6) variants and induction of latency by HHV-6A in oligodendrocytes. *J. Neurovirol.* 11: 384-394; 2005.
2. De Bolle L, Naesens L, De Clercq E: Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features, and therapy. *Clin. Microbiol Rev.* 18:217-245; 2005.
3. Tetsushi Yoshikawa: Human herpesvirus 6 infection in haematopoietic stem cell transplant patients *British Journal of Haematology* 124:421-432, 2004.
4. Härmä M, Höckerstedt K, Lautenschlager I: Human herpesvirus-6 and acute liver failure. *Transplantation* 76; 536-539; 2003.
5. Kuntz E and Kuntz H-D: Acute concomitant viral hepatitis pp. 464-471 in *Hepatology, Principles and Practice* 2nd edition, Springer Medizin Verlag Heidelberg, 2006.
6. Okuno T, Oishi H, Hayashi K, Nonogaki M, Tanaka K, Yamanishi K. Human herpesviruses 6 and 7 in cervixes of pregnant women. *J Clin Microbiol.* Jul; 33(7):1968-70; 1995.
7. Dockrell DH, Paya CV.: Human herpesvirus-6 and -7 in transplantation. *Rev Med Virol.* Jan-Feb;11(1):23-36; 2001.
8. Yamamoto K, Yoshikawa T, Okamoto S, Yamaki K, Shimokata K, Nishiyama Y.: HHV-6 and 7 DNA loads in lung tissues collected from patients with interstitial pneumonia. *J Med Virol.* Jan; 75(1):70-5 2005.
9. Glotzbecker M P, Carpentieri D F, Dormans J P: Langerhans cell histiocytosis: a primary viral infection of bone? Human herpes virus 6 latent protein detected in lymphocytes from tissue of children. *J. Pediatr. Orthop.* 24:123-129; 2004.

10. Csire, Márta Gábor Mikala, János Jákó, Tamás Masszi, Judit Jánosi, János Dolgos, Tibor Füle, Attila Tordai, György Berencsi, István Vályi-Nagy: Persistent Long Term Human Herpesvirus 6 (HHV-6) Infection in a Patient with Langerhans-Cell Histiocytosis (Case Report), *Pathology Oncology Research*, 13(2):157-160; 2007.
11. Christensen T: Association of human endogenous retroviruses with multiple sclerosis and possible interactions with herpes viruses. *Rev Med Virol* 15, 179-211, 2005.
12. Höllsberg P, Kusk M, Bech E et al: Presence of Epstein-Barr virus and human herpesvirus 6B DNA in multiple sclerosis patients: associations with disease activity. *Acta Neurol Scand* 112, 395-402, 2005.
13. Rajda C, Bencsik K, Seres E. et al: A genome-wide screen for association in Hungarian multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 143,84-87,2003.
14. Martinez A, Alvarez-Lafuente R, Mas A et al: Environment-gene interaction in multiple sclerosis: Human herpesvirus 6 and MHC2TA. *Hum. Immunol.* 68, 685-689, 2007.
15. Opsahl M, Kennedy P: Early and late HHV-6 gene transcripts in multiple sclerosis lesions and normal appearing white matter. *Brain* 128, 516-527, 2005.
16. Rotola A, Merlotti I, Caniatti L et al: Human herpesvirus 6 infects the central nervous system of multiple sclerosis patients in the early stages of the disease. *Mult Scler* 10, 348-354, 2004.
17. Ongrádi, J., Rajda, C., Maródi, C.L., Csiszár, A., Vécsei, L.: A pilot study on the antibodies to HHV-6 variants and HHV-7 in CSF of MS patients *J. Neurovirool.* 5, 529-532, 1999.
18. Álvarez-Lafuente R, De las Heras V, Bartolomé M et al: Relapsing-remitting multiple sclerosis and human herpesvirus 6 active infection. *Arch Neurol* 61, 1523-1527, 2004.
19. Ongrádi J, Maródi CL, Nagy K, Csiszár A, Bánhegyi D, Horváth A: Risk of HHV-6A primary and recurrent infections during the course of AIDS. *J. AIDS* 22, 311-312, 1999.
20. Ongrádi J, Sonkoly E, Kövesdi V, Széll M: Cytokine pattern alterations in CD4 T lymphocytes by human herpesvirus 6B infection. *J. Clin. Virol.* 37, S106, 2006.

A klinikai bakteriológiai jártassági körvizsgálat 2007/I értékelése

Gacs Mária

A legutóbbi körvizsgálat alkalmával a laboratóriumok két tesztkészítményt kaptak, hogy a tesztpreparátumokat kísérőlapon feltüntetett klinikai anyagnak megfelelően az előírt módon feldolgozzák, az izolált baktériumok identifikálási és antibiotikum érzékenységi vizsgálatának eredményeit közöljék, s az eredményeket interpretálják.

A körvizsgálat eredményei az utóbbi évek megfigyeléseit igazolták, hogy a megoldásokban az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok területén sokkal inkább vannak hibák és bizonytalanságok, mint az izolálás és identifikálás terén. Emellett, azonban jelentős fejlődésként értékelhető, hogy a rezisztencia mechanizmusok felismerése és fenotípusos vizsgálata rutinszerű gyakorlattá vált, s ugyanígy szakmai színvonal növekedést eredményezett a CLSI legújabb kiadásában foglaltak széles körű ismerete. Ezeknek a pozitív változásoknak a háttérében nem elhanyagolható a Mikrobiológiai Körlevelekben megjelenő, legújabb ismereteket közlő írások szerepe.

Mind emellett az értékelések során még mindig gyakran tapasztalható - elsősorban az antibiotikum érzékenységi vizsgálatoknál - az alapismeretek maradéktalan betartásának hiánya: az előírt, és megfelelően kontrollált táptalaj használata, az inokulum sűrűsége, a vizsgálat módjának megválasztása, a vizsgált antibiotikumok köre területeken.

Az eredmények interpretálása különösen az antibiotikum érzékenység vizsgálatok területén csak néhány esetben volt teljes és hibátlan. A továbbiakban nagyon fontos hogy az elméleti ismeretek elmélyüljenek, és helyes értelmezést nyerjenek.

A maximálisan elérhető pontszám „20” volt, ezt két laboratórium érte el kiemelkedő teljesítéssel. Három laboratórium pontszáma volt 10 alatt, ez utóbbiak szakmai munkája feltétlenül javítandó.

A tesztkészítmények részletes értékelése:

KK 2007. I/2

A minta megnevezése: hasüri punktátum

A beteg kora, neme: 22 éves férfi

Anamnézis: perforált appendicitis

Klinikai tünetek: a műtétet követően láz, hányás, hasi fájdalom

Megelőző antibiotikum: Augmentin, Claforan

Eredmény:

Aerob tenyésztéssel:

- *Escherichia coli* (ESBL termelő)
- *Salmonella Bovismorbificans* (ESBL termelő)
- *Enterococcus faecalis* (HLAR, VRE)

Anaerob tenyésztéssel: *Fusobacterium nucleatum*

Interpretáció:

A bélperforáció során hasüregbe került izolált aerob és anaerob baktériumok mindegyike részt vehetett a kóros folyamat kialakításában. A megelőző antibiotikum terápia hozzájárult a multirezisztens törzsek szelektálódásához. Az izolált kórokozóknak nosocomiális jelentősége van. Javasolt a beteg elkülönítése, haemokultura és széklet vizsgálata.

Megjegyzés:

Indokolt konzultáció a klinikussal.

Az eredményről értesíteni kell a kórházhygiénikust, és az ÁNTSZ Járványügyi osztályát

Az aerob izolátumokat a rezisztencia mechanizmus további vizsgálatára ill. megerősítésre az OEK Bakteriológia I osztályra kell küldeni

Antibiotikum érzékenység:

Mindkét *Enterobacteriaceae* családba tartozó Gram-negatív pálca ESBL termelő volt.

Az *E. faecalis* HLAR pozitív volt gentamicinnel, HLAR negatív streptomycinnel szemben és a glikopeptidek MIC értékének meghatározása Van B típusú rezisztenciát valószínűsített. Az izolált anaerob törzs minden, anaerobokra szokásosan vizsgált antibiotikumra érzékeny volt. A CLSI már korábbi kiadványaiban is kiemelten meghatározta a salmonella és külön az extraintestinális salmonella infekciók esetében vizsgálandó antibiotikumok körét. Ezt az állásfoglalást a Mikrobiológiai Körlevél 2006 évi 1. számában az alkalmazandó antibiotikum sorok közt mi is közöltük. A CLSI szerint, a flouroquinolonokra érzékeny extraintestinális salmonella izolátumoknál vizsgálni kell a nalidixsav érzékenységet, mivel nalidixsavval szemben rezisztensek törzsek esetében a flouroquinolon terápia eredménytelen lehet, s a kórokozót nem sikerül eliminálni. Erről a klinikust tájékoztatni kell, s javasolni az infektológussal való konzultációt s ennek alapján kialakítani a megfelelő terápiát.

Értékelés:

Tenyésztés, identifikálás

- A tesztkészítmény feldolgozása a laboratóriumok többségében kifogástalan volt. (Egy laboratóriumból a hiányos eredményen és antibiotikum érzékenységen kívül egy sort sem kaptunk, így teljesítménye csak korlátozottan volt értékelhető.)

Gyorsabban jutottak kész eredményhez, ahol a feldolgozást a minta természete miatt kiterjesztették a leggyakoribb enterális pathogének irányába is (Bi, Br, szelenites dúsító használata). Gyakrabban izolálták közvetlenül, a kis csiraszámban mintában lévő laktóz negatív törzset (*Salmonella* spp.), azokban a laboratóriumokban, ahol MacConkey táptalajt használtak. (Természetesen ez kisszámú vizsgálat ahhoz, hogy ebből bármilyen további következtetés levonható volna.)

- A laboratóriumok közül néhány sajnálatos módon nem tenyésztette ki a mintában lévő összes baktériumot. Két laboratórium nem izolálta a *Salmonella* spp.-t, ezek közül az egyik az anaerob baktériumot sem tenyésztette ki. A mintában nem lévő Gram-pozitív anaerob baktérium tenyésztéséről számolt be egy másik laboratórium.

- A kitenyésztett baktériumok identifikálásának módja a laboratóriumok nagy részében több volt az egyszerű, minimálisan szükséges hagyományos meghatározásoknál. Az identifikálás megerősítésére szinte minden laboratórium használt identifikáló kitet, leggyakrabban API-t, ritkábban Crystal-t vagy Remel-t, két laboratóriumban VITEK automatát alkalmaztak.

- Az identifikálási eredmények 96%-a helyes volt. Egyetlen durva hiba az anaerob identifikálás során fordult elő, *Fusobacterium nucleatum* helyett *Streptococcus intermedius*-t közölt egy laboratórium. A további két esetben csak a species meghatározás nem volt helyes. A *Salmonella* esetében elegendő volt a genus meghatározása, a szerotipizálás nem volt követelmény, de feltétlenül szükséges volt jelölni a törzs továbbítási szándékát szerotipizálást végző régiós laboratóriumba.

A *Salmonella*-t 5 laboratórium genus szintig identifikálta, *Salmonella* Bovismorbificans-nak adta meg a laboratóriumok 2/3-a, egy helyen volt a szerotipizálás eredménye *S. Hindmarsh*. A két szerovarians valóban nehezen elkülöníthető, de a referens laboratórium a törzset. *S. Bovismorbificans*-nak határozta meg. A további két species identifikálása minden laboratóriumban helyes volt.

- Az eredmények írás módja és a helyesírás terén még mindig vannak zavarok. Például, hogy az eredményben a genus nevét is ki kell írni, a géppel írt szövegben a baktériumok neve dőlt betűvel vagy a haemophilus i-vel írandó. Az antibiotikumok vonatkozásában a legtöbb hiba az aminoglikozidok „i vagy y

írásával” kapcsolatos. Azokban a laboratóriumokban, ahol ezek a problémák az értékelés során felmerültek célszerű a számítógépes eredménykiadás helyes írásmódjának kontrollálása.

- Az eredmények interpretálásának fontossága minden egyes értékelés során jelentős hangsúlyt kap. Ezen a téren a legváltozatosabb teljesítményt nyújtották a körvizsgálat résztvevői. Több laboratórium kitűnő, hibátlan interpretációja mellett, néhányan semmiféle megjegyzést nem fűztek az eredményekhez. Ha a körvizsgálatok során ez minden esetben nem is nyilvánul meg, a mindennapi rutinban a laboratóriumok diplomásai által végzett aktív konzultatív tevékenység elengedhetetlenül hozzátartozik a szakmai munka hitelességéhez. (Mivel az interpretációk minden esetben kitérnek antibiotikum terápiais kérdésekre is, részletesebb elemzésükre az antibiotikum érzékenység értékelése után kerül sor.)

- Pozitívan értékelhető, hogy csaknem minden laboratórium elküldené megerősítésre, további szerológiai vagy molekuláris vizsgálatra az izolátumokat, helyesen jelölve meg a vizsgálatok célját. A törzsek tovább küldése lényeges, mivel csak így követhetők a járványügyi történések, nosocomiális infekciók, a különböző rezisztencia mechanizmusok előfordulása és a rezisztencia típusok terjedése. Kiemelendő, hogy a laboratóriumok - csaknem kivétel nélkül - jelentős elméleti ismeretek birtokában ítélték meg a további vizsgálatok szükségességét.

Antibiotikum érzékenységi vizsgálatok

A vizsgálatok módja: általánossá vált az Etest használata mind azokban az esetekben, ahol MIC meghatározás szükséges, vagy kívánatos.

Az alábbi táblázatban a MIC, és a breakpoint feletti értékek meghatározásának különböző vizsgálati módszereit alkalmazó laboratóriumok számát mutatjuk be

Vizsgált antibiotikum	Etest	VITEK	VITEK2	screen- lemez	ATB
vancomycin	13	1	1	3	-
teicoplanin	11	1	-	-	1
Gentamicin HLAR	12*	1	-	korong 120µg 2	-
Streptomycin HLAR	10	-	-	-	-
ESBL	10	1	chromagar 1	korong 9	1
Anaerob	11	-	-	-	1

* egy laboratórium 256 µg/ml (low range) gentamicin Etest-et használt

A használt táptalajok közül néhány nem felel meg a CLSI előírásainak. Két laboratóriumban vér tartalmú MH, ill. Columbia véresen vizsgálták az *Enterococcus faecalis* érzékenységét

Többféle táptalajt alkalmaztak az anaerob baktérium antibiotikum érzékenységének vizsgálatára, ez azt mutatja, széleskörűen nem ismert egyértelmű protokoll vagy ajánlás az anaerob baktériumok antibiotikum érzékenységének vizsgálatára. Három laboratórium birkavéres Shaedler-agart (bioMerieux), ketten anaerob V-agart, egy-egy columbia anaerob Vagart, ill. birkavéres MH-t használt. Ketten ATB ANA-val végezték a MIC meghatározást, egy anaerob referens laboratóriumba küldi az izolátumot. Többben csak ajánlást adtak.

A vizsgált antibiotikumok köre még mindig sok esetben kifogásolható. Feleslegesen sok vizsgálat történik elsősorban a Gram-negatív baktériumok érzékenységének meghatározása során. Teljesen hibás az a gyakorlat, hogy a salmonellák esetében is vizsgálnak minden általában a Gram-negatívokra hatékony antibiotikumot. Sajnálatos, hogy a vizsgálatban résztvevő laboratóriumok fele nem vette figyelembe a CLSI ajánlását, vizsgálta és megadta az összes aminoglikozid, és II gen. cefalosporin érzékenységet is.

Nagyon sok problémát vetett fel a flouroquinolonok érzékenységének vizsgálata. Csak kevés laboratórium vizsgálta a nalidixsav érzékenységet a flouroquinolonok hatékonyságának megítélésére. A vizsgált antibiotikumok köre szerint a *Salmonella* spp. érzékenységét vizsgáló laboratóriumok a következő csoportokba sorolhatók:

- a vizsgálta a nalidixsav érzékenységet is és a hibátlan eredményt a CLSI által javasoltnak megfelelően adta meg, egy laboratórium (kód: 285)
- vizsgálta a nalidixsav érzékenységet, s mivel rezisztensnek találta, a ciprofloxacint és levofloxacint rezisztensként interpretálta, de vizsgálta és megadta az aminoglikozid és II. gen. cefalosporin érzékenységet is két laboratórium
- vizsgálta a nalidixsav érzékenységet is, de érzékenynek találta, így az összes flouroquinolont érzékenyként interpretálta egy laboratórium
- vizsgálta a nalidixsav érzékenységet, s mivel rezisztensnek találta, nem adott meg flouroquinolon érzékenységet (nem ez a helyes eljárás és sajnos minden β -laktámot így a 3. gen. cefalosporinokat is érzékenynek adta meg egy laboratórium
- nem vizsgálta a nalidixsavat, de csak a szükséges antibiotikumok érzékenységét vizsgálta, 3 laboratórium
- nem vizsgálta a nalidixsav érzékenységet, de vizsgálta és megadta az aminoglikozidokat és II. gen cefalosporint 4 laboratórium

A rezisztencia mechanizmus felismerése és vizsgálata:

E. coli ESBL: egyetlen laboratórium volt, amelyik többféle módszerrel vizsgálva sem találta pozitívnak törzset, s így a ceftazidim értéket nem interpretálta rezisztensnek. (Ugyanakkor a salmonellát ESBL pozitívnak adta meg.)

Salmonella spp. ESBL: az izolált törzset 2 laboratórium érzékenynek találta a 3. gen. cefalosporinokra. Elképzelhető plazmidvesztés, de ez, az általunk végzett többszörös visszatenyésztés, és a laboratóriumok eredményei alapján csak ebben a két esetben történt meg. Oka lehet, hogy sokszoros átoltások után és/vagy nem több, egymástól morfológiailag esetleg minimálisan különböző telepet megérintve készült a szuszpenzió.

Az ESBL meghatározás módja: a laboratóriumok 2/3-a az ESBL termelés vizsgálatára szolgáló kombinált Etest-t használta, többen alkalmazták a két-, négy-, vagy ötkorongos módszert is. Részletesen lásd a fenti „a MIC és breakpoint feletti értékek meghatározása” táblázatban.

Az *Enterococcus faecalis* HLR vizsgálatát és kimutatását csaknem minden laboratórium jól oldotta meg. Minden laboratórium 120 µg-os gentamicin korongot használt és csak néhányan nem erősítették meg a kapott eredményt Etest vizsgálattal. Sokan vizsgálták a streptomycin HLR-t is Etest MIC meghatározással, miután a szerre a törzs érzékenységet mutatott, többen terápiásan is ajánlották. Úgy gondolom ennek alkalmazásához mindenképpen infektológussal való konzultáció szükséges.

A VRE felismeréséről és vizsgálatáról minden laboratórium beszámolt. A vancomycin és teicoplanin érzékenységet minden laboratórium MIC érték meghatározással végezte. Bár a vancomycin MIC érték mindenhol magasabb volt az érzékenységi breakpoint-nál, a kapott értékek nagyon nagy különbségeket mutattak. Ezt mutatja az alábbi ábra:

Vancomycin MIC (µg/ml)	6	8	12	16	24	32	64	192	256
Laboratóriumok száma*	1	2	1	2	2	2	1	1	1

*1 laboratórium ≥ 32 µg/ml eredménye nem szerepel a táblázatban

Az antibiotikum érzékenységi eredmények interpretálása: ezen a területen is a Gram-negatívok esetében volt több probléma. A legváltozatosabb volt az ESBL pozitívoknál a β -lactam/ β -lactamase kombinációk interpretációja. A β -laktám/ β -laktamáz kombinációk bizonytalan klinikai hatása ESBL törzsekre irodalmi adat, a CLSI a rezisztens interpretálás mellett egyértelműen még nem foglalt állást, így az érzékeny eredményt megjegyzéssel kívánatos kiadni. Nagyon helyesen jártak el, akik, bár kiadták az érzékeny eredményt csillaggal

jelölve a csatolt megjegyzésben kitértek a nem egyértelmű klinikai hatékonyságra. Néhányan ugyan vizsgálták, de az eredmény rovatban egy vízszintes vonalat húzva a β -laktám/ β -laktamáz kombinációkra vonatkozóan értelmezhetetlen eredményt közöltek. Ez utóbbi, ahogy fentebb látszott előfordult a flouoroquinolon rezisztencia interpretációjánál is.

A salmonellák flouoroquinolon érzékenységet csak nagyon kevesen interpretálták helyesen. (Lásd a részletes eredményeket a vizsgált antibiotikumok köre bekezdésben.)

Az *E. faecalis* glikopeptidekkel szembeni rezisztenciáját minden laboratórium jól interpretálta, és a glikopeptidek rezisztencia képe alapján több laboratórium felismerte, és közölte a VanB-típusú rezisztencia gyanúját. Az anaerob species antibiotikumokra érzékeny volt, minden laboratórium jól interpretálta.

A tesztkészítmény jele: KK 2007 I/3

A minta megnevezése: liquor

A beteg kora, neme: 2 éves fiú

Anamnézis: 1-2 napos bágyadság után hányás, magas láz,

Klinikai tünetek: láz, tarkókööttség, somnolens állapot

Megelőző antibiotikum terápia:-

Eredmény:

Aerob tenyésztéssel: *Haemophilus influenzae* (nem „b” szerotípus)

Anaerob tenyésztéssel: Anaerob baktérium nem tenyésztett ki

Interpretáció:

Az izolált törzs a *Haemophilus influenzae* típus b savóval nem agglutinált, tehát vagy más szerotípusba tartozó, vagy nem agglutinálható.

A *Haemophilus influenzae* a csecsemő és kisgyermekkorú meningitisek egyik leggyakoribb kórokozója volt. A Hib védőoltás bevezetésével (1999), a *H. influenzae* b szerotípus által okozott súlyos infekciók (bejelentett meningitis) száma folyamatosan csökkent (2006-ban *Haemophilus influenzae* kiváltotta meningitis purulenta-t nem jelentettek). A védőoltás bevezetése óta gyakrabban fordulnak elő korábban nagyon ritka egyéb szerotípusok, vagy a haemophilusokhoz hasonló sajátságokat mutató baktériumok által okozott súlyos infekciók. Az eredmény birtokában a klinikussal való konzultáció feltétlenül szükséges. A törzs antibiotikum érzékenysége alapján is a ritkábban előfordulók közé tartozik, mivel a kialakult rezisztenciát nem β -laktamáz termelés okozza, hanem a PBP változás következménye u.n. (BLNAR típusú). (Részletesebben lásd az antibiotikum érzékenység interpretációja részben.)

Megjegyzés:

A meningitis purulenta bejelentendő. A *H influenzae* törzset, mivel invazív infekcióból került izolálásra az OEK Bakteriológiai osztályára kell küldeni.

Antibiotikum érzékenység

A haemophilus törzsek, a gyakorlatban leginkább a *Haemophilus influenzae* antibiotikum érzékenységének vizsgálata nagy körültekintést igényel, mivel nincs egyértelmű megbízható protokoll, sem a használandó táptalaj, sem a breakpontok tekintetében. A Magyarországon az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok végzésekor referens módszerként általánosan alkalmazott eljárás a CLSI ajánlása. E szerint a HTM táptalaj használata, s rutinszerűen csak a liquorból izolált törzsek esetében, az ampicillin, egy 3. gen cefalosporin, a chloramphenicol, és a meropenem vizsgálata ajánlott. Amennyiben egyéb antibiotikum/organizmus kombináció vizsgálata indokolt, az eredményt meg kell erősíteni a referens laboratóriumban végzett CLSI folyadék hígítási módszerével. Egyéb per os készítmények empirikusan használhatók, érzékenységi vizsgálatuk csak surveillance, s epidemiológiai célokból ajánlott. Az ampicillin rezisztenciát β -laktamáz termelés vizsgálatával szükséges megerősíteni, a β -laktamáz negatív és ampicillin rezisztens törzsek BLNAR-nak tekintendők és a törzset amoxicillin/clavulansav, ampicillin/sulbactam, és 2. gen. cefalosporinokkal szemben rezisztensként kell interpretálni.

Értékelés

Tenyésztés, identifikálás:

A *Haemophilus influenzae*-t minden résztvevő laboratórium kitenyésztette és jól identifikálta. A minta feldolgozásához a laboratóriumok többsége bioMérieux Haemophilus chocolate agar kész lemez táptalajt használt.

Az identifikálást a klasszikus módszerek mellett API NH kittel erősítette meg 10 laboratórium, 1 labor Crystal NH-t használt.

A laboratóriumok egy része már az eredményben, mások az interpretációban jelezték, hogy a törzs nem b szerotípusú. A szerotípusra vonatkozóan csak egy laboratórium nem tett megjegyzést.

A haemophilus genus nevét egy résztvevő írta helytelenül y-nal. Hárman a b szerotípust nagybetűvel jelölték. Helyesen a haemophilus szerotípusokat kisbetűvel írjuk

Interpretáció

Az eredményt a laboratóriumok többsége kifogástalanul interpretálta, egy laboratórium „nem b típusú” megjegyzésen kívül nem fűzött hozzá semmit, és egy másik csak a tenyésztés eredményét közölte. E két utóbbi laboratóriumot kivéve mindenki utalt a változásokra, amit az aktív immunizálás bevezetése

eredményezett, s elsősorban emiatt tartották szükségesnek a klinikussal való konzultációt és a törzsek további vizsgálatát.

Kevesen jelezték, (összesen 4-en) hogy a purulens meningitisből kitenyésztett kórokozót az epidemiológia felé jelenteni kell.

A törzset minden laboratórium tovább küldené, és csak két laboratórium nem jelölte ennek célját. Hét laboratórium szükségesnek tartja a szerotipizálást, s ugyancsak hét laboratórium az antibiotikum érzékenység eredmény további vizsgálata céljából küldené be a törzset.

Antibiotikum érzékenységi vizsgálat

A vizsgálathoz használt táptalajok: meglepően kevesen csak 3-laboratóriumban végezték a vizsgálatot. HTM táptalajon (kettő OEK, egy saját), a laboratóriumok többsége bioMérieux kész táptalajt használt, ezen belül négyen Chocolat+PolyVitex-agart, ketten csak Chocolat agar, és további kettő csak a táptalaj származását jelölte, egy laboratórium csokoládé agart (OEK) használt. Két laboratórium végezte a vizsgálatot ATB-vel, amelyhez viszont a törzset szelektív táptalajlemezről (CHOC. HAEMOPHILUS) nyerte.

A fenti adatokból látszik, hogy a meghatározó jelentőségű táptalaj használat területén is jelentős mértékű az eltérés a referens módszertől, ami a rutinvizsgálatok során még fokozódik, az izolátumok származási helye (orr-garat, köpet) és a vizsgált antibiotikumok köre vonatkozásában.

A körvizsgálatban, - ahol éppen egy liquorból izolált haemophilus-ról volt szó - a vizsgálandó antibiotikumok körét a laboratóriumok jelentős többsége jól választotta meg, csak két laboratórium terjesztette ki számos meningitisben fel sem merülő antibiotikumra a vizsgálatot.

Az ampicillin érzékenységi vizsgálatot, amely a haemophilusok esetében különlegesen lényeges, minden laboratórium elvégezte, 10 laboratórium MIC vizsgálattal is, négy csak korongdiffúzióval, minden esetben 10 µg-os korongot használtak. Hárman korongdiffúziós eredmény alapján érzékenyként interpretálták Az ampicillin érzékenységi vizsgálat megerősítésére használt β-laktamáz termelés vizsgálata, a cefináz teszt negatív eredménnyel zárult minden laboratóriumban. Csak egy laboratórium nem jelölte, hogy elvégezte a vizsgálatot, bár az ampicillint a MIC (2 µg/ml) érték alapján rezisztensként interpretálta, β-laktamáz termelés vizsgálata nélkül a rezisztencia mechanizmust nem ismerhette fel. Az ampicillin rezisztencia és a β-laktamáz termelés hiánya miatt BLNAR-nak valószínűsítette az izolátumot 7 laboratórium, 7 nem jelölte vagy nem ismerte fel ennek a rezisztencia mechanizmusnak a lehetőségét.

Ampicillin MIC (µg/ml)	2	4	8
Laboratóriumok száma	4	4	2
Interpretáció	2M, 2R	R	R

Ampicillin korongdiffúzió (mm)	17	22	23	24
Laboratóriumok száma	1	1	1	1
Interpretáció	R	E	E	E

Az ebben az esetben terápiásan szóba jöhető ceftriaxont, meropenemet, minden laboratórium vizsgálta és érzékenynek adta meg. A ceftriaxon MIC értékét 9 helyen, a meropenemét 6 helyen Etest-el vizsgálták, az egyes laboratóriumok között az értékek legfeljebb csak egy nagyságrenddel tértek el. A nálunk ritkán alkalmazásra kerülő chloramphenicol-t minden laboratórium rezisztensnek találta.

Összegezve: a *Haemophilus influenzae* törzsek esetében az ampicillin antibiotikum érzékenységének helyes meghatározása döntő a releváns eredmény szempontjából

Így, szükséges mielőbb egyértelmű, megbízható protokoll kidolgozása ezen a területen.

(További számunkban részletesen foglalkozunk e témával.)

A vancomycin MIC Etest-el történő meghatározása *Enterococcus* spp. törzsek esetében és a kapott értékek interpretációja

Libisch Balázs

Az enterococcusok glikopeptidekkel (vancomycin és teicoplanin) szemben mutatott MIC értékeinek Etest-el történő meghatározásához az AB Biodisk által kiadott információs adatlapok közölnek instrukciókat. Ezek közül több korábban kiadott adatlap (pl. Etest Application Sheet Enterococci, EAS 009, 2004 és 2007, Organism Fact Sheet Enterococci and VRE, OFS002, 2007) 2 McFarland-es szuszpenziót és BHI agar táptalajt alkalmazó protokollt közöl vancomycin és teicoplanin érzékenységi vizsgálatokhoz, de nem tárgyalja, hogy az így kapott MIC értékek alapján besorolható-e a törzs a „érzékeny”, „mérsékelt” illetve „rezisztens” kategóriákba.

A BHI agart és 2 McFarland szuszpenziót alkalmazó protokollt „makromódszernek”, míg a Mueller-Hinton agart és 0.5 McFarland szuszpenziót alkalmazó protokollt „standard” módszernek nevezzük az Etest-el történő MIC meghatározások esetében.

A 2007 júliusában kiadott, „Etest, catching emerging glycopeptide resistance” c. adatlap (kód: M0000221-MH0271) egy megjegyzésében a makromódszerrel kapcsolatban specifikusan közli, hogy „This modified procedure optimises the detection of glycopeptide resistance and should not be viewed as a standard MIC determination”, azaz, a makromódszer alkalmazásával kapott gátlási koncentrációk nem tekinthetők standard MIC értékeknek *Enterococcus* spp. vizsgálatoknál.

Az alkalmazandó módszerrel kapcsolatos egyértelmű állásfoglalást kaptunk az AB Biodisk Technical Support csoportjától (techsupport@abbiodisk.se, 2007 október), mely szerint a „Standard Etest methodology is suitable for detection of resistant enterococci strains to vancomycin (i.e. 0,5 McFarland, Mueller Hinton agar)”.

A standard módszer alkalmazásával az ATCC 29212 *E. faecalis* vancomycin érzékeny kontroll törzs MIC értékei az 1-4 µg/ml tartományba esnek (2 µg/ml ± 1 hígítási eltérés). Ez a jelenlegi CLSI breakpoint-ok alapján az érzékeny kategóriába esik (≤ 4 µg/ml). A makromódszer alkalmazása viszont az ATCC 29212 kontroll törzs esetében 2-6 µg/ml gátlási koncentrációkat eredményez (lásd: Etest Application Sheet Enterococci, EAS 009), ahol a 6 µg/ml koncentráció már a mérsékelt rezisztencia tartományába esik a CLSI breakpoint-ok alapján, holott ez vancomycin érzékeny törzs. Ezek az értékek szintén jelzik, hogy a **standard módszer (azaz 0,5 McFarland, Mueller-Hinton agar) alkalmazásával leolvasott MIC értékek alapján lehet az *Enterococcus* spp. izolátumokat az „érzékeny”, „mérsékelt” illetve „rezisztens” kategóriákba besorolni.**

Egy ezzel kapcsolatos fontos tanulmány (Jones RN, Erwin ME, Anderson SC. Emerging multiply resistant enterococci among clinical isolates. II. Validation of the Etest to recognize glycopeptide-resistant strains. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1995;21(2):95-100.) 1936 *Enterococcus* spp. izolátum vizsgálata alapján kimutatta, hogy a vancomycin Etest Mueller-Hinton agar alkalmazásával 98.7%-os egyezést mutatott a CLSI (akkor: NCCLS) referencia módszerrel, és nem fordult elő egyetlen súlyos, vagy nagyon súlyos hiba sem a vizsgálatok során.

A makromódszer (BHI agar + 2 McFarland szuszpenzió) egy fenotípusos karakterizálási módszernek tekinthető, melynek alkalmazásával a klinikai jelentőséggel rendelkező VanB izolátumok leolvasott vancomycin gátlási koncentrációi (8-256 µg/ml) nem fednek át a vancomycin érzékeny törzsekével (≤ 6 µg/ml), lásd: Etest Application Sheet Enterococci, EAS 009, 2007).

Az OEK saját tapasztalatai alapján a VRE izolátumok szűrésére a CLSI által javasolt 6 µg/mL BHI agar screen lemez alkalmazását (0.5 McFarland szuszpenzió, 24 órás leolvasás) javasolja, és nagyon fontosnak tartja *Enterococcus* spp. esetén (Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Fifteenth Informational Supplement, M100-S15, Table 2D, 119. oldal). A screen lemezen való növekedés estén mozgás és pigment vizsgálat elvégzése javasolt. Amennyiben az izolátum a screen lemezen növekedést mutat, valamint mozgás és pigment negatív (tehát nem VanC rezisztencia van jelen) javasolt az izolátum beküldése az OEK Bakteriológia I osztályára molekuláris vizsgálatokra. A 6 µg/mL koncentráció pontos beállítása a screen lemezben rendkívül fontos a megfelelő eredmények elérése érdekében.

A MAST DIAGNOSZTIKA által újabban forgalmazásra kerülő CHROMagar VRE táptalaj rövid ismertetője

CHROMagar VRE

A Frank DIAGNOSZTIKA által forgalmazni kívánt **CHROMagar VRE** kromogén táptalaj mintát kipróbáltuk, s alkalmazására vonatkozóan nagyon kedvező tapasztalatokat szereztünk.

A táptalaj könnyen elkészíthető forralással a CHROMagar VRE base porból, amelyhez (45-50° C-ra hűtve) a feloldott CHROMagar VRE szupplementből az előírt mennyiséget hozzáadjuk, s Petri-csészékbe adagoljuk. (Részletek a portáptalajhoz mellékelt utasításban)

Az elkészített CHROMagar táptalaj lemezekre és a kontrollként használt véres-agarra a CLSI által ajánlott ATCC kontroll törzseket, egy WHO/CDC körvizsgálatból származó *vanB* rezisztencia gént hordozó *Enterococcus faecalis*-t, s egy általunk molekulárisan karakterizált VRE törzset (*vanB* *Enterococcus faecium*) oltottunk, a növekedést 24h inkubálás után vizsgáltuk

Értékelés:

CHROMagar VRE táptalaj

ATCC 25923 <i>Staphylococcus aureus</i>	nincs növekedés
ATCC 25922 <i>E. coli</i>	nincs növekedés
ATCC 29212 <i>Enterococcus faecalis</i> (vancomycin érzékeny)	nincs növekedés
ATCC 51299 <i>Enterococcus faecalis</i> (vancomycin rezisztens)	1-2 mm átmérőjű, domború, fényes, lilaszínű telepek
WHO/CDC 38 <i>Enterococcus faecalis</i> (vancomycin rezisztens) VanB	1-2 mm átmérőjű, domború, fényes, lilás telepek
E 312 (saját) <i>Enterococcus faecium</i> (vancomycin rezisztens) VanB	1-2 mm átmérőjű, mályvaszínű, fényes, domború telepek
ATCC 700327 <i>Enterococcus casseliflavus</i>	1-2 kékeszöld telep

A véres kontroll táptalajon minden törzs jól növekedett. Az eredmények a táptalajhoz mellékelt ismertetőben leírtaknak teljesen megfeleltek

A vancomycin rezisztens törzsekből készített hígítási sorokból a CHROMagar VRE és véres agar táptalajra kioltva közel azonos számú telepet kaptunk.

Frank

DIAGNOSZTIKA

Örömmel értesítjük Önöket, hogy cégünk az AB Biodisk céggel folytatott sikeres tárgyalások eredményeképpen **2007. július 1-től** az

E-teszteket 30-as kiszerezésben is forgalmazza.

A megrendelt termékeket 3 héten belül szállítjuk.

Amennyiben további kérdései vannak, forduljon hozzánk bizalommal