



**2003. 3. évfolyam 3. szám**

**Tartalom:**

Protokoll a meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*  
(MRSA) identifikálására

Meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*  
(MONITOR 2003. január-május)

A yersinia fertőzések immunszerológiai diagnosztikájának fejlesztése

Borsav tartalmú transzport rendszerek vizelet minták szállítására  
és tárolására

*Helicobacter pylori* infekciók immunszerológiai vizsgálata

Könyvismertetés



## **Protokoll a meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA) identifikálására.**

A meticillin rezisztens *Staphylococcus aureus*, továbbiakban MRSA gyors és pontos identifikálásának óriási jelentősége van, nemcsak a beteg megfelelő antibiotikum terápia-ja, de a járványügyi eljárások szempontjából is. Surveillance adataink alapján a fekvő betegekre vonatkoztatott pozitivitás a 2002. évi 4,8%-ról 2003. első fél évében 7,3%-ra (tisztított adatok, egy beteg/egy izolátum) emelkedett, a nagyobb számú nosocomiális járványból izolált MRSA törzsek révén. A különböző surveillance adatokból ismert, hogy a nyugati országokban az előfordulás gyakorisága többszöröse a hazainak, amiatt, hogy az izolált MRSA törzsek, s az általa okozott nosocomiális járványok száma ne emelkedjen nálunk is drasztikusan, a helyes kórházhigiénés gyakorlaton túl, a bakteriológusoknak mindent meg kell tenni a mielőbbi, korrekt MRSA meghatározás érdekében.

Az OEK Bakteriológiai osztályára 2001-ben 210, majd 2002-ben 590 és 2003 augusztusáig beérkező 1100 MRSA gyanús izolátum vizsgálata alapján, az MRSA diagnosztikájában az alábbi vizsgálatokat és sorrendet tartjuk követendőnek:

### Identifikálás

**A *Staphylococcus aureus* meghatározásában döntő a koaguláz próba, amennyiben ez pozitív, a rutin diagnosztikában a *Staphylococcus aureus* eredmény kiadható.**

A **koaguláz próba** hagyományos módon alvadásgátolt emberi vagy, nyúl plazmával történik, csőben a „szabad” koaguláz enzim, tárgylemezen a sejt felszínhez kötött koaguláz vagy „clumping faktor” (CF) határozható meg. Míg a cső koaguláz meghatározó, a tárgylemezen végzett próba egy gyors screening módszer a *S. aureus* identifikálásban.(1)

Az utóbbi időben, széles körben elterjedt plazma helyett, a különböző kereskedelmi kitek használata, amelyeknek első generációja csak a (CF)-t mutatja ki, a második generációs készítmények a (CF) mellett már a protein A-t is, a 3. generációs kitek, a (CF) és protein A mellett képesek a *S. aureus* specifikus antigének detektálására.

A kitek érzékenysége és specificitása változó.



Az érzékenységet tekintve a 3. generációs kitek közel 100%-os eredményt adhatnak, de meglepő, hogy amennyiben MRSA törzseket vizsgáltak, a cső koaguláz érzékenysége csak 88,2%-os, az összes vizsgált *Staphylococcus aureus* 92,8%-val szemben.

A kitek specificitása 72,5%-tól – 84%-ig terjed, míg a cső koaguláz specificitása 94,4%-t is elérhet. Koaguláz enzimmel azonban nemcsak a *S. aureus* törzsek rendelkeznek. A koaguláz próbával pozitív eredményt kaphatunk más staphylococcus speciestek vizsgálatakor is. A *S. lugdunensis*, és a *S. schleiferi* elsősorban a különböző kitekkel vizsgálva, mivel clumping faktorról rendelkeznek, a kittől függően más-más %-os értékben, a *S. intermedius* mivel legtöbbször csak koaguláz enzime van, a cső koagulázzal adhat pozitív eredményt. Kisebb %-ban pozitívak lehetnek más speciestek is, pl. *S. hyicus*, *S. sciuri*.(2) Tapasztalataink szerint, ha telepmorfológiailag *S. aureus*-nak látszó tenyészetet, az agglutinációs kitek valamelyikével vizsgálva, bizonytalan eredményt kapunk, el kell végezni plazmával a cső koagulázt. Amennyiben így is bizonytalan a vizsgálat eredménye, a *Staphylococcus aureus* diagnózishoz más fenotípusos vizsgálatok is elvégezhetőek, pl. hagyományos biokémiai reakciók, vagy különböző kereskedelmi identifikáló kitek, identifikáló automata rendszerek. (Pl. API STAPH bioMerieux, BBL Crystal Gram Positive Identification System (BD), GP MicroPlate Biolog, GPI Card bioMerieux Vitek stb.) alkalmazhatók.

Az identifikálást megkönnyítheti számos speciális táptalaj használata.

(Pl. Baird Parker agar, Dnase Test Agar with Methyl Green, Thermonuclease Agar with Toluidin Blue, Mannitol Salt Agar.) (1) Mindezeket túl, bizonytalan koaguláz próba esetén csak a molekuláris vizsgálatok adnak biztos eredményt.

A genotípusos species meghatározás különféle molekuláris vizsgálatokkal lehetséges. Ezek az MRSA diagnosztikájában, leggyakrabban a meticillin rezisztenciáért felelős *mecA* gén meghatározásával egyidejűleg történnek.

Az EVIGENE MRSA Detection Kit egy DNS hibridizációs próba a *mecA* gén mellett a *Staphylococcus aureus*-ra specifikus thermostabil nuclease-t kódoló *nuc* gént és a 16S rRNS specifikus szakaszának detektálását teszi lehetővé.(3)

A különböző primerekkel elvégzett nukleinsav amplifikációs (PCR) vizsgálatok a *femB* *Staphylococcus aureus*ra specifikus szakaszát határozzák meg. (A *femA* polimorfizmusa miatt alkalmatlan erre a célra.) A *Staphylococcus aureus*-ra teljesen fajspecifikus *sa442*-bp kromoszóma fragment PCR-el való meghatározása is eredményes lehet.(4)



## **A methicillin rezisztencia meghatározása, az MRSA diagnózisának felállítása**

A magas szintű methicillin rezisztencia egy járulékos penicillin-kötő fehérje, a PBP2a (PBP2') jelenlétével függ össze, amely gyengén kötődik a  $\beta$ -laktám antibiotikumokhoz, így részt tud venni a sejtfalképzésben. A PBP2'-t a *mecA* gén kódolja, így a *mecA* gén kimutatása a methicillin rezisztenciát igazolja. Ez a típusú rezisztencia kifejeződik homogén, s gyakran, változó mértékben heterogén formában.(5) s kiterjed minden  $\beta$ -laktám antibiotikumra.

### Fenotípusos módszerek a methicillin rezisztencia vizsgálatára

- Korongdiffúziós érzékenységi vizsgálat 1 $\mu$ g-os oxacillin koronggal Mueller-Hinton táptalajon, közvetlenül készített 0,5 McFarland sűrűségű szuszpenzióból.
- A 0,5 McFarland sűrűségű szuszpenzióból 10  $\mu$ l foltszerű leoltása a 6  $\mu$ l oxacillin és 4% NaCl tartalmú Mueller-Hinton screen lemezre, s a növekedés vizsgálata.(NCCLS)
- Kereskedelmi screen agar használata (pl. ORSAB, Oxacilin Resistance Screening Agar Base)

Az érzékenységi vizsgálati és screen lemezeket 35°C-on teljes 24h-ig (ORSAB 48h) kell inkubálni. Amennyiben az oxacillin körüli gátlási zóna nagysága: <13 mm vagy, >13 mm-nél, de a gátlási zónán belül pontszerű vagy fátyolszerű növekedés látható, vagy a screen lemezen növekedés (ORSAB sötétkék telep) észlelhető, akár egy telep is, a staphylococcus törzset tovább kell vizsgálni.

Az MRSA gyanú felismerésében segíthet a cefoxitin korong használata.(6) Tapasztalataink szerint a cefoxitin körüli gátlási zóna nagysága, az oxacillin MIC értékével párhuzamosan változik.

Az MRSA gyanú megerősítésére többféle lehetőség kínálkozik

- Az oxacillin minimális gátló koncentráció (MIC) meghatározása leves- vagy lemezhibítással, vagy E test-tel.



- A methicillin rezisztenciáért felelős PBP2' latex reakcióval való kimutatása. (Pl. MASTALEX MRSA (MAST Diagnostica), Slidex MRSA Detection Kit (bioMerieux), DR900A (Oxoid )

Az E-teszt vizsgálattal homogén, magas szintű oxacillin rezisztenciát mutató, vagy az egyértelműen, néhány percn belül latex agglutinációt adó, PBP2' pozitív törzs, mint MRSA kiadható. A MIC érték vizsgálatakor heterorezisztensnek talált izolátumok esetében a gátlási zónán belül növekedő telepeket szélesztve, s az E-teszt vizsgálatot megismételve, a MIC vizsgálata általában magasabb értéket ad, vagy megerősíthetjük az MRSA eredményt a PBP2' kimutatásával is. További lépés lehet a *mecA* gén kimutatása a molekuláris módszerek valamelyikével, ezek eredményei „gold standard”nak tekintendők.

### Molekuláris módszerek a methicillin rezisztencia igazolására

- A PBP2'-t kódoló *mecA* gén kimutatása DNS hibridizációs teszttel (pl.EVIGENE MRSA Detection Kit)
- A *mecA* gén kimutatása DNS amplifikációval (PCR), Real-time PCR

Az alacsony MIC értéket adó, 2-8 mg/l közötti, és a heterorezisztenciát mutató törzseket tovább kell vizsgálni. Ezeknek az alacsony methicillin rezisztenciájú törzseknek egy része *mecA* negatív, másik része *mecA* pozitív. Ez utóbbiak erősen heterorezisztens törzseknek tekinthetők, a populáció elenyészően kis része mutat csak magas szintű rezisztenciát. A *mecA* negatív törzsek egy része  $\beta$ -laktamáz túltermelő. Erről úgy győződhetünk meg, ha vizsgáljuk a kérdéses törzs amoxicillin/clavulánsav MIC értékét E-teszttel, amennyiben ez 4x kisebb, mint az oxacillin MIC értéke, a törzs „borderline” rezisztensnek tekinthető. Ezek az u.n. BORSA törzsek csak methicillin/oxacillin rezisztensek, így, ezekben az esetekben a  $\beta$ -laktamáz stabil  $\beta$ -laktámok terápiásan hatékonyak lehetnek, a *mecA* típusú rezisztenciától eltérően. Ez a típusú rezisztencia elég ritka, s gyakorlati jelentősége kicsi. Gyakrabban találkozunk azzal, hogy az alacsony szintű methicillin rezisztenciát mutató és *mecA* negatív törzsek esetében, az amoxicillin/clavulánsav MIC értéke az oxacillinéhoz hasonló, s a  $\beta$ -laktamáz túltermelés, ill. methicillináz nem mutat-



ható ki. Ezekben az esetekben a rezisztencia kialakulása PBP-k módosulásával ill. túlermelésével függ össze.(7) Újabb irodalmi adatok szerint a methicillin rezisztencia mértéke molekuláris szinten történő, még nem teljesen ismert összetett regulációs mechanizmusok változásának eredménye.(8)

A molekuláris biológiai eljárások végzéséhez szükséges eszközök és eljárások terjedésével az MRSA diagnosztikájában is változások várhatók. Reálisak lesznek azok az elvárások, hogy súlyos esetekben valóban gyorsan, biztos eredményeket szolgáltatassanak a laboratóriumok. Irodalmi közlemények szerint, ha a haemokulturában mikroszkóposan csoportokba rendeződő Gram pozitív coccusok láthatók, a mintából közvetlenül elvégzett PCR, vagy DNS hibridizációs vizsgálat alapján az MRSA eredmény 4-6h múlva kiadható.(9)

Függelék:

Az MRSA az egyik legjelentősebb kórokozója a nosocomiális járványoknak, így nagyon lényegesek a góckutatás miatt végzett szűrővizsgálatok A szűrővizsgálatok hatékonyságát növelhetjük különböző szelektív és differenciáló lemez ill. dúsító táptalajok használatával. (10) Epidemiológiai szempontból ugyanilyen lényegesek a kitenyésztett törzsek azonosítására végzett különböző fenotipusos és genotipusos tipizáló eljárások.

A klasszikus fenotipusos antibiotikum rezisztenciakép és fágtipizálás mellett, ma már elterjedt a törzsek genotipizálására a Pulsed-field gélelektroforézis (PFGE), és további előrelépést jelent a jövőben várhatóan bevezetésre kerülő Multilocus sequence typing (MLST) eljárás.(11) A Pulsed-field -gél- elektroforézis (PFGE) gold standard a methicillin rezisztens (MRSA) törzsek molekuláris tipizálásában, de idő és munka igényessége miatt próbálkoznak gyors, multiplex PCR alapú módszerekkel ( spa, coa gén, mecA hipervariábilis régió vizsgálata) helyettesítésére. (12)

Irodalom:

1. *Manual of Clinical Microbiology* 7. Kiadás 1999. Főszerk.: P. R. Murray
2. *Personne, P. és mtsai.: J. Clin. Microbiol. 35: 1138-1140. 1997.*
3. *Skov, R. L., L.V. Pallesen, R. L.Poulsen, and F. Espersen. 1999. Evaluation of a new 3-h hybridization method for detecting the mecA gene in Staphylococcus aureus and*



*comparison with existing genotypic and phenotypic susceptibility testing methods. J. Antimicrob. Chemother. 43: 467-475.*

4. *Martineau, F., F. J. Picard, P. H. Roy, M.Oullette, and M. G. Bergeron. 1998. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of Staphylococcus aureus. J. Clin. Microbiol. 36: 618-623.*

5. *Klinikai és Járványügyi Bakteriológia 1999. Főszerk. Czirók Éva*

6. *Felten, A., B.Grandry, P. H. Langrange, and I. Casin. 2002. Evaluation of three techniques for detection of low-level methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): a disk diffuzion method with ceftoxitin and moxalactam the Vitek 2 system, and MRSA-screen latex agglutination test. J. Clin. Microbiol.. 40: 2766-2771.*

7. *Chambers. H. F.1997. Methicillin resistance in Staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. J. Clin. Microbiol.Reviews. 10:781-791.*

8. *Rohrer, S., H. Maki, B. Berger-Baechi. 2003. What makes resistance to methicillin heterogeneous? Journal of Medical Microbiology 52: 605-607.*

9. *Levi, K., and K. J. Towner. 2003. Detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus MRSA in blood with the EVIGENE MRSA Detection Kit. J. Clin. Microbiol.1:3890-3892*

10. *Safdar, N., L. Narans, B. Gordon, and D. G. Maki. 2003. Comparison of cultura screening methods for detection of nasal carriage of methicillin resistant Staphylococcus aureus: a prospective study comparing 32 methods. J.Clin. Microbiol. 41: 3163-3166.*

11. *van Leeuwen, W. B., C. Jay, S. Snijders, N. Durin, B. Lacroix, H. .A. Verbrugh, M. C. Enright, A., Troesch, A. van Belkum. 2003. Multilocus Sequence Typing (MLST) of Staphylococcus aureus with DNA Array technology J.Clin. Microbiol. 41:3323-3326.*

12. *Stranden, A., R. Frei, A. F. Widmer.2003. Molecular Typing of methicillin -resistant Staphylococcus aureus: can PCR replace Pulsed-Field Gel Electrophoresis? J. Clin. Microbiol.41: 3181- 3186.*

Dr. Gacs Mária

Tóth Ákos



**Methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus***  
(MONITOR 2003. január-május)

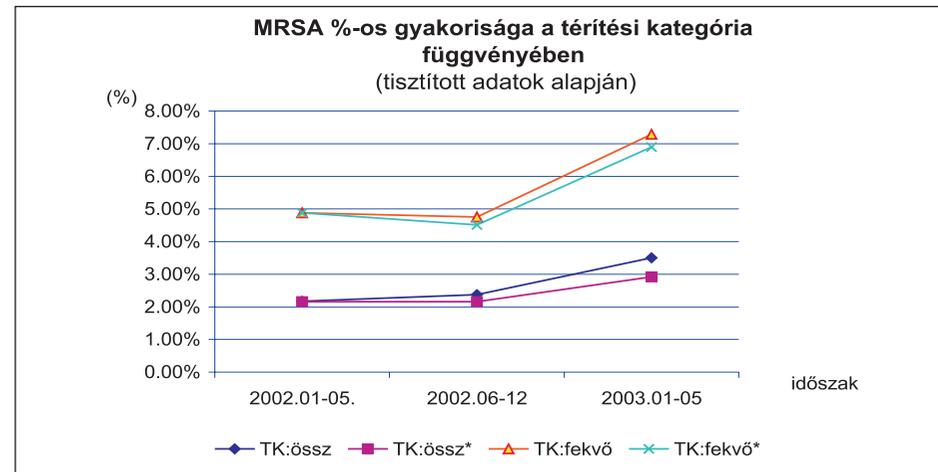
2003. év első felének adatait értékelve a legfőbb pozitív változásnak azt tarthatjuk, hogy újabb, jelentős, nagy mikrobiológiai laboratóriumok csatlakoztak adatszolgáltatással surveillance programunkhoz, s ezen keresztül, az EARSS surveillance rendszeréhez. Nagy jelentőségű ez a bővülés, mivel az újonnan csatlakozók szakmailag a legjobb, legteljesebb diagnosztikát végző laboratóriumok, – amelyek, s ez nagyon lényeges, nagyszámú invazív anyagot dolgoznak fel – így, sokkal hitelesebb, korrektebb lett adatszolgáltatásunk.

Hitelesebbek az adataink amiatt is, mivel ma már statisztikai értékeléseinkben csak tisztított adatokat használunk fel. Ez, bár a surveillance adatok értékelhetőségében jelentős fejlődést eredményezett, sajnos a jelenlegi szoftver alkalmazásával igen nagy munkát jelent. Részben ennek tudható be, hogy a 2003 első félévi értékelése a következő 4. számban lesz teljes, most ebből fő témánkhoz kapcsolódóan csak a *Staphylococcus aureus*-ra vonatkozó eredményeket emeljük ki.

A utóbbi időszakban a methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* törzsek számának Táblázatunkban (1. táblázat) egyrészt, az összes téritési kategória számaadait vetettük össze a fekvő beteg ellátás adataival, valamint figyelembe vettük az adatszolgáltatók számában bekövetkezett változásokat is. A táblázatban \*-gal jelzett adatok esetében összehasonlításunk alapjának a 2002. 01-05. közötti időszakban meglévő adatszolgáltatókat tekintettük.

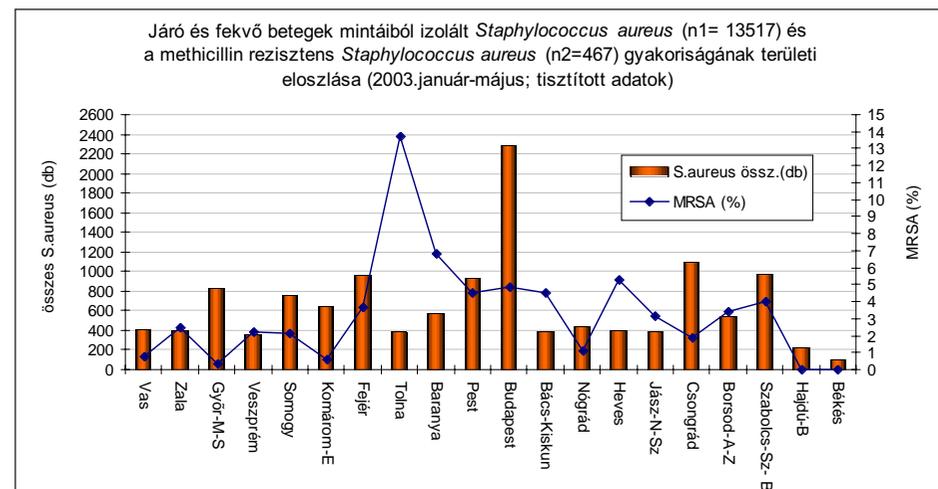
MRSA %-s gyakoriságának alakulása 2002.01 és 2003.05.között				
	TK:össz	TK:fekvő	TK:össz*	TK:fekvő*
2002.01-05.	2,16%	4,88%	2,16%	4,88%
2002.06-12	2,37%	4,75%	2,16%	4,51%
2003.01-05	3,45%	7,31%	2,92%	6,90%

1. táblázat

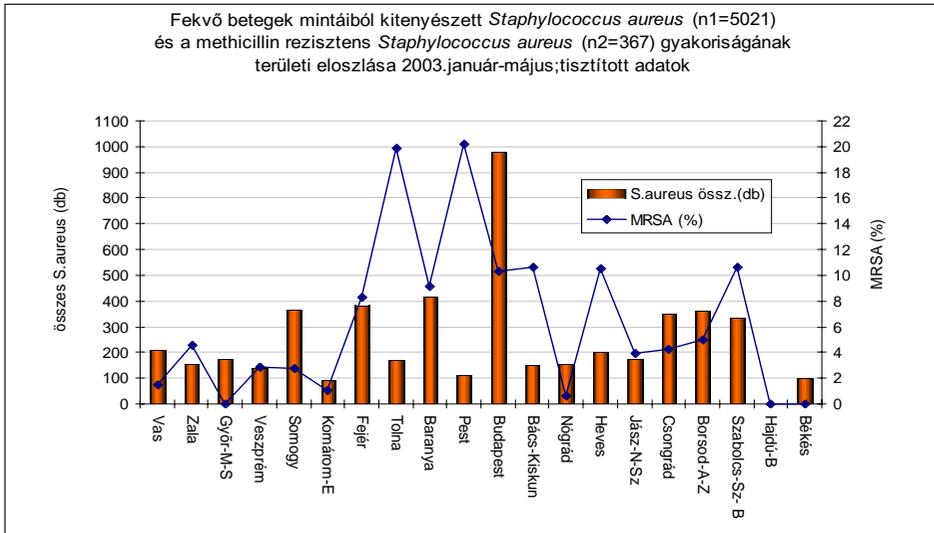


1. ábra

Grafikonon ábrázolva is (1. ábra) jól látható az a jelentős növekedés, amely 2002. első, és második fél évéhez viszonyítva 2003 első 5 hónapjában jelentkezett. A kétféle görbe lefutása közötti különbség, az új adatszolgáltatók belépésével bekövetkező változás következménye. A 2. ábra a 2003. január-május közötti időszakban izolált MRSA százalékos területi eloszlását szemlélteti grafikusán, összehasonlítva a *Staphylococcus aureus* megjelenési előfordulását mutató oszlop diagramokkal.



2. ábra



3. ábra

Miután köztudottan az MRSA törzsek legnagyobb része nosocomiális eredetű, érdemes vizsgálni a kórházi fekvő betegektől származó izolátumok előfordulásának gyakoriságát. A **3. ábrán** az előző ábrához hasonlóan, de csak a **fekvő beteg ellátásból** származó adatokat mutatjuk be.

Jól látható a 3. ábra adataiból, hogy milyen jelentős különbség van a %-os pozitívításban, ha az egészből kiemeljük, és külön vizsgáljuk a fekvő beteg adatokat.

Mindkét ábra adataira vonatkozóan meglepő az egyes területek közti óriási különbség. Ez a különbség nemcsak az MRSA előfordulás tekintetében jelentős, de az izolált *Staphylococcus aureus*-ok számában is. Ez utóbbi részben magyarázható az eltérő anyagszámmal és annak összetételével. Hajdú-Bihar megye adatait feltehetőleg javítani fogja a surveillance-hoz közelmúltban csatlakozott Debreceni Egyetem adatszolgáltatása, de Békés megyéből is indokolt lenne egy-két fekvőbeteg intézmény adatainak feldolgozása. Néhány megyében a fekvőbetegek körében is nagyon alacsony az MRSA előfordulása. Célszerű ezeket külön elemezni. Vas,- Komárom-Esztergom,- Nógrád megyékben a fekvő betegektől származó *S. aureus*-ok száma sem jelentős, és az MRSA előfordulás gyakorisága is alacsony. Győr-Sopron-Moson,- Hajdú,- és Békés megyék adataiban nagyon kevés vagy nincs fekvő betegből származó, így ezekben a megyékben nem lehet az előfordulás gyakoriságát megítélni.



Riasztó, hogy a methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* előfordulása haemokultúrákban még jelentősebben növekedett. Ha megvizsgáljuk 2002. és 2003. adatait (**2. táblázat**), azt láthatjuk, hogy a 2002 második félévében bekövetkezett csekély mértékű emelkedést 2003-ban ugrásszerű növekedés követte.

Haemokultúrából kitenyészett methicillin rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i> Százalékos gyakorisága 2002.01-2003.05.közötti időszakban								
	2002. január-május*		2002. június-december*		2003. január-május*		2003. január-május	
	db	%	db	%	db	%	db	%
MRSA	10	7,76	28	8,14	21	14,58	36	14,69

(\*-gal jelölt érték : 2002. januári beküldőkkel)

2. táblázat

A beküldött adatokat tekintve liquorból 2 beteg mintájából tenyésztett ki MRSA. Ez az összes liquorból kitenyészett *Staphylococcus aureus* törzsek (12 minta) 16,7%-a. A kis számok esetében a százalékos értékek mindig torzítanak, mégis figyelemreméltó, hogy a kevés *Staphylococcus aureus* pozitív liquor közt is van methicillin rezisztens.

A methicillin rezisztens *Staphylococcus aureus* törzsek között 2-2 vancomycin illetve teicoplanin rezisztens eredményt találtunk. A vancomycin rezisztens esetekben teicoplanin rezisztenciát nem vizsgáltak, míg a teicoplanin rezisztens törzsek esetében a vancomycin-t érzékenynek minősítették. A *Staphylococcus aureus* esetében a glikopeptid rezisztencia jelenleg még M.o.-on nagyon ritka, egy-egy esetben különösen vancomycin kezelést követően előfordulhat heterorezisztencia, de ezeket az eredményeket csak referens laboratóriumban történő megerősítés után lehet valósnak tekinteni. Az MRSA rifampicin és clindamycin rezisztenciája a következőképpen alakult (**3.táblázat**):

Összes MRSA: n = 467	nem vizsgált		érzékeny		mérs.érzékeny		rezisztens	
	db	%	db	%	db	%	db	%
Clindamycin	17	3,64	74	15,85	3	0,64	373	79,87
Rifampicin	305	65,31	152	32,55	0	0	10	2,14

3.táblázat



Nem meglepő, hogy a clindamycin rezisztens törzsek száma magas, ez az antibiotikum nem is igazán alternatíva az MRSA terápiájában. A rifampicin érzékenységet az izolátumok kb. 40%-ban vizsgálták, s a vizsgált törzsek jelentős száma érzékeny, azonban tudjuk, ennek az antibiotikumnak a használata csak kombinációban ajánlott, elsősorban a vancomycinre nem jól reagáló esetekben, ahol egy kialakuló glikopeptid hetero-szisztencia feltételezhető.

Tirczka Tamás  
Dr. Végh Zsolt  
Dr. Gacs Mária

#### **A yersinia fertőzések immunszerológiai diagnosztikájának fejlesztése**

A *Yersinia* okozta fertőzések esetében immunszerológiai vizsgálatot elsősorban reaktív arthritis vagy egyéb szövődmények kialakulásánál alkalmazzák. A fertőzést követően megjelenő ellenanyagok csúcspontjukat 2-3. héten (IgA, IgM), illetve 5. héten (IgG) érik el. Az IgA, IgM ellenanyagok 3-6 hónapon túl már rendszerint nem mutathatók ki, míg az IgG ellenanyagok évekig perzisztálhatnak.

Reumatoid kórképek esetében a jellemző szerológiai kép: magas IgA és IgG titer, alacsony, vagy hiányzó IgM titer mellett. Ilyen esetekben indokolt olyan teszt alkalmazása a diagnosztikus vizsgálat során, amely a perzisztáló IgA kimutatására is alkalmas.

A hazai bakteriológiai laboratóriumok jelenleg a yersiniózis immunszerológiai vizsgálatát Widál-típusú reakcióval végzik. Ugyanakkor már rendelkezésre állnak ELISA tesztek, melyek egyaránt alkalmasak az IgA, IgM, és az IgG ellenanyagok kimutatására. Az ELISA tesztek esetében kisebb a keresztreakciók valószínűsége (pl. rekombináns antigéneket használó teszt). Az ELISA teszt szero-epidemiológiai vizsgálatra is alkalmas: detektálja a perzisztáló IgG ellenanyagokat. Ennek azért van különös jelentősége, mert egyes földrajzi régiókban az egészséges populációban viszonylag magas titerek mutathatók ki (pl. 30-40% IgG pozitivitás a német lakosság körében).



Az OEK II. Bakteriológiai osztály Enterális Laboratóriumában megtörtént a Mikrogen *RecomWell* *Yersinia* ELISA tesztjének kipróbálása: gyűjtött beteg vérsavókból (44) és un. referencia savókból (4) *Yersinia* ellenanyag kimutatása, az eredmények verifikálása Western blot módszerrel, és az eredmények összehasonlítása a hagyományos Widál-típusú reakció eredményével, valamint a klinikai képpel.

1. Táblázat Az összehasonlító vizsgálat eredménye

Minta száma	Widal-típusú reakció	ELISA		
		IgA	IgM	IgG
6	-	+	+	+
8	-	+	-	+
11	-	-	-	+
6	-	-	-	-
2	kétes	+	-	+
1	kétes	-	-	+
10	+	+	+	+
4	+	-	-	+

A savóminták (48) közül 16 esetében a két módszerrel kapott eredmények teljes megegyezést mutattak. A Western blot vizsgálattal (8) a Widál-típusú reakcióval negatív és ELISA-val pozitív ill. kétes savóminták esetében az ELISA eredményét sikerült megerősíteni.

Az ELISA teszt szenzitivitásából, és specifitásából adódóan biztosabban jelezte az ellenanyagok jelenlétét, azok titerváltozásait, így megfelelően érzékeny és biztonságos eszköznek bizonyult a *Yersinia* ellenanyagok kimutatására. A teszt további vizsgálata folyamatban van.

*Irodalom:*

- 1./ Chatzipanagiotou, S és mtsai.: *Clin.Microbiol.Infect.*1999, 5, 67-72.
- 2./ Robins-Browe, NM és mtsai.: *FEMS Microbiol. Lett.* 1998, 162, 207-213.

Dr Herpay Mária  
Mag Tünde



### **Borsav tartalmú transport rendszerek vizelet minták szállítására és tárolására.**

Bár a vizelet minták feldolgozására és értékelésére rendelkezünk megfelelő protokollokkal, a minták feldolgozás előtti tárolásának, ill. transportjának kérdése továbbra sincs megnyugtatóan megoldva. Mivel számos baktérium jól szaporodik a vizeletben az európai standard a vizelet minták 24 órás 4 C°-on történő tárolását írja elő /1/, ami a hazai ajánlásnak is megfelelő /2/. Jól ismert ugyanakkor, hogy sok esetben még kórházi körülmények között sem sikerül megoldani a vizelet minták hűtött tárolását, ill. szállítását, ezért a vizelet minták tárolását nyugaton egyre inkább tartósítószer – borsavat – tartalmazó tartály használatával oldják meg, amelynek alkalmazását az európai standard is elfogadja /1/. Tartósítószer tartalmazó vizelet tartályt már Magyarországon is több laboratórium alkalmaz és valószínű, hogy hazánkban is egyre inkább el fog terjedni használata, ezért igen fontos tisztában lennünk a borsav tartalmú transport rendszerek előnyeivel és hátrányaival. A borsav, ill. a borsav tartalmú tartályok mikrobákra gyakorolt hatását az évek folyamán már több laboratórium megvizsgálta /3-9/. A publikációk közül a legrészletesebb és metodikailag is kiemelkedik egy svéd munkacsoport 2002-ben megjelent közleménye /9/.

A svéd munkacsoport számos mikroba növekedését megvizsgálta vizelet mintákban hűtve, ill. szoba- hőmérsékleten mind hagyományos mind borsavat tartalmazó tartályban /Hemogard Vacutainer, Becton Dickinson/, valamint tanulmányozta, hogy megváltoztatják-e az egyes antibiotikumok a vizeletben az E. coli csiraszámát különböző tárolási körülmények között. Legfontosabb eredményeik a következőkben foglalhatók össze:

- 1./ Hagományos tartályban 24 órás, szoba hőmérsékleten történt tárolást követően a legtöbb vizsgált mikroba csiraszáma jelentősen növekedett; kivételt képeztek a B csoportú streptococcusok, az Acinetobacter calcoaceticus és a lactobacillusok, amelyek mennyisége szignifikánsan csökkent.
- 2./ Hagományos 24 órás hűtött tárolás után a legtöbb kórokozó csiraszáma gyakorlatilag változatlan maradt; a Staphylococcus saprophyticus és a lactobacillusok mennyisége viszont kis mértékben csökkent.
- 3./ Borsavas 24 órás, szoba hőmérsékleten történt tárolást követően a legtöbb kórokozó mennyisége nem változott szignifikáns mértékben, ugyanakkor jelentősen csökkent az alcaligenes és a lactobacillusok száma, majdnem tizedére csökkent a Staphylococcus aureusok mennyisége és



kis mértékben csökkent a Pseudomonas aeruginosa, valamint az Acinetobacter calcoaceticus csiraszáma. Ugyanakkor az Enterococcus faecalis csiraszám kis mértékben emelkedett.

4./ 24 órás hűtött borsavas tárolás után szignifikáns mértékben csökkent a Staphylococcus saprophyticus, a lactobacillusok és a Candida albicans csiraszáma.

Meg kell jegyezni, hogy a vizsgálat minden esetben log fázisban levő kórokozókkal történt, mert szerzők feltételezték, hogy a gyorsan szaporodó baktériumok vizsgálata felel meg leginkább egy acut gyulladási folyamatot modelljének.

5./ A különböző tárolási módszerek hatását hosszabb időn át is tanulmányozták. A hagyományos hűtési tárolással szemben, amely mintegy 72 órán át elfogadható szinten tartotta a különböző mikrobák csiraszámát, a borsavas container 24 órán túl már szobahőmérsékleten is szignifikánsan csökkentette számos baktérium faj mennyiségét.

6./ Szobahőmérsékleten hagyományos tárolás mellett a Magyarországon is használt antibiotikumok közül csak a ciprofloxacín és a fosfomicin csökkentette jelentősen az E. coli csiraszámát, a trimetoprim pedig kisebb fokú csiraszám csökkenést okozott. Hagományos hűtött és borsavas, szobahőmérsékleten végzett tároláskor csak a ciprofloxacín esetében figyeltek meg jelentősebb E. coli csiraszám csökkenést.

Összefoglalva elmondhatjuk, hogy a borsavas container-ben történő vizelet minta tárolás szobahőmérsékleten 24 órán át jól használható. Figyelemmel kell ugyanakkor lennünk mindezelőtt a Staphylococcus aureus várható csiraszám csökkenésére, valamint a Pseudomonas aeruginosa és az Enterococcus faecalis esetleges kisebb mértékű csiraszám változására.

Ne felejtjük el azonban, hogy az idézett közlemény /9/ egyetlen cég /Becton-Dickinson Rt./ termékével foglalkozik; amennyiben másik cég hasonló termékét használjuk, kisebb eltérésekre számítani lehet.

Végül meg szeretnénk említeni, hogy szerzők a különböző tárolási módszereket a gyakorlatban is megpróbálták összehasonlítani, azonban metodikai nehézségek merültek fel - többek között nem sikerült a szakrendelőben megfelelően biztosítani a minták hűtve tárolását - ezért klinikai vizsgálati eredményeiket nem tartják megbízhatónak. Ez utóbbi tapasztalat is alátámasztja, hogy bár a borsavas vizelet minta tárolásnak vannak hátrányai, bevezetése indokolt minden olyan laboratóriumban, ahol nem oldható meg biztonságosan a vizelet minták hűtött tárolása, ill. szállítása.



Irodalom:

- 1./ *European urinalysis group: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2000, 60 Suppl., 231*
- 2./ *Klinikai és Járványügyi Bakteriológia. /főszerk.: Czirók Éva/Melania Kft. Budapest 1999.*
- 3./ *Lauer, B. A. és mtsai.: J. Clin. Microbiol. 1979, 10, 42-45*
- 4./ *Guenther, K. L. és Washington, J. A.: J. Clin. Microbiol. 1981, 14, 628-30*
5. *Nickander, K. K. és mtsai.: J. Clin. Microbiol. 1982, 15, 593-95*
- 6./ *Matthews, S. C. W.: Med. Lab. Sci. 1987, 44, 341-44*
- 7./ *Meers, P. D. és Chow, C. K.: J. Clin. Pathol. 1990, 43, 484-87*
- 8./ *Dorn, G. L.: J. Clin. Microbiol. 1991, 29, 2169-74*
- 9./ *Eriksson, I. és mtsai.: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2002, 62, 325-36.*

Dr. Füzi Miklós

**Helyesbítés:** előző számunkban az „Enterobacterek és Klebsiellák természetes beta-laktám rezisztenciája” c. írásban az enterobacterek AmpC típusú enzim termelését konstitutívnak neveztük. Az AmpC enzim termelése az enterobacter törzseknel valóban konstitutív formában történik /1/, azonban beta-laktám antibiotikumok hatására az enzim expressziója minden esetben felerősödik és döntő részben ez az indukált enzim termelés felelős annak a jellegzetes beta-laktám rezisztenciának a kialakulásáért, amit az írásban ismertettünk /2/.

- 1./ *Lindberg, F. és Norman, S.: Rev. Infect. Dis. 1986, 8 Suppl. 3, S292-304 és az idézett irodalom.*
- 2./ *Korfmann, G. és mtsai.: Antimicrob. Agents Chemother. 1991, 35, 358-64.*

### **Helicobacter pylori infekciók immunszerológiai vizsgálata**

Tájékoztatjuk Beküldőinket, hogy az OEK II. Bakteriológiai Osztály Szerológiai laboratóriuma 2003. szeptemberétől *Helicobacter pylori* antitest-kimutató vizsgálatokat nem végez. Irodalmi adatok és tapasztalataink is alátámasztják, hogy az IgA/IgG kimutatását célzó szerológiai vizsgálatok megbízhatóságát számos tényező (előzetes NSAID terápia, fekélyből eredő gastrointestinális vérzés, atrophias gastritis stb.) befolyásolhat-



ja; ill. korcsoportonként változó specificitást mutathat. Ezeknek a vizsgálatoknak csak korlátozott klinikai értéke van, mert az antitestszintek változása nem megfelelően tükrözi az egyéb tesztekkel, pl. 13C urea-légzési próbával igazolható aktuális fertőzöttséget. Az önmagában kevésbé megbízható antitest-kimutató vizsgálatok helyett a közeljövőben direkt kimutató módszerek bevezetését tervezzük.

Irodalom:

- 1./ *Hoek és mtsai.: J Clin Microbiol 30, 1525 (1992).*
- 2./ *Bode és mtsai.: Scand J Clin Lab Invest. 61, 603 (2001).*
- 3./ *Lahner és mtsai.: Aliment Pharmacol Ther. 16, 507 (2002).*
- 4./ *Garcia és mtsai.: Rev Esp Enferm Dig. 94, 725 (2002).*

Dr Herpay Mária

Dr Balla Eszter

### **Prof. Kassai Tibor: Helminológia**

Dr. Szénási Zsuzsanna, PhD

Kassai Tibor könyvének alcíme („Az állatok és az ember féregélnökök okozta bántalmak”) igen velősen foglalja össze, mit is tartalmaz ez a könyv. Egy tudományos könyv értékét aligha fejezhetjük ki annak oldal-számával. Sokkal, de sokkal fontosabb a közölni kívánt információk tömörsége, világossága, rendszerezettsége, logikája, a szöveg és az ábranyag egymást kiegészítő karaktere, sőt, az érték-kritériumok közé azt is besorolnám, képes-e a könyv esztétikai élményt nyújtani. A jó könyvvel szemben támasztott nagyszámú igénynek elismerésre méltó biztonsággal tesz eleget Kassai professzor könyve. Mindössze 369 oldalon, 6 részre tagolva (1. Bevezetés; 2. Féreg okozta bántalmak-Helminthosizisok; 3. A féregfertőzések gyógyítása és megelőzése; 4. Féregfertőzések kórhatározása; 5. Összefoglaló táblák; 6. Függelék) fejt ki a korszerű állati és emberi helminth-orsvoslás elvi és gyakorlati kérdéseit. Nem kevés-e ez? Ha az e tudományágban felhalmozott ismeretek *összességét* tekintjük, akkor talán igen. Ha az egyes helminthológiai ismeret-részek *fontosságát* és állatorvosi-orvosi alkalmazhatóságát tekintjük, akkor viszont távolról sem kevés, sőt,



azt kell mondanunk, biztos fölényel állította össze a szerző az anyagát: minden lényeges kérdést magába foglal e könyv. Mi a titka ennek a tökéletes szelekciónak? Azt gondolom, elsősorban az, hogy a szerző a helmintológia tudományág egészét teljes mélységben és szélességben ismeri és uralja. Biztonsággal választja el a fontos, a nélkülözhetetlen részeket azoktól, amelyek ugyan érdekesek és hasznosak lehetnek a teljességre igényt tartók számára, de nem nélkülözhetetlenek. Nem nélkülözhetetlenek azok számára, akiknek ez a könyv készült. Kik ezek? Elsősorban talán az egyetemi hallgatók, orvos- és állatorvostan hallgatók. Nyugodt szívvel rábízhadják magukat Kassai professzor könyvére: mindent megtalálnak benne, ami számukra szükséges lehet és ez több, mint ami „elegendő”. Ugyanakkor megnyugtató lehet számukra, hogy azt mondhatják: „ami 'a Kassaiban' nincs benne, azt nem is érdemes tudni”. Gyakorló parazitológus szakember könyvespolcán (vagy inkább azt mondhatnám: munkasztalán) elengedhetetlenül ott kell lennie ennek a könyvnek, akár laboratóriumi diagnosztikai tevékenységet folytat, akár a klinikumban tevékenykedik. Bizonyos vagyok benne, hogy ő naponta többször fel fogja ütni „a Kassait” és felmerülő problémáira legnagyobb részt azonnali választ kap. Ha esetleg valamely kisebb részletkérdést teljes mélységben szeretne áttekinteni, akkor a remek irodalomjegyzék útbaigazítja őt a további információk forrásáról. „*Qui scit, ubi scientia, scienti proximus.*” Nélkülözhetetlen a könyv parazitológiai asszisztensek számára is. Elméleti ismereteiket nagyszerűen bővíthetik belőle, gyakorlati munkájukhoz pontos „recepteket” találnak benne. Engedtessek meg nekem némi szubjektivitás: Kassai professzor könyvéhez hozzájutván, kiraktam azt a legforgalmasabb laboratóriumunk asztalára. Diplomás munkatársaim szinte azonnal „lecsaptak rá”, és egy-két napon belül lelkesülten jöttek hozzám azzal, hogy milyen kincset, milyen pompás forrást találtak, és elmondták benyomásaikat a „Helmintológia”-ról. Néhány nap alatt asszisztensnőim is felfedezték a könyvet és egymás figyelmét felhívták rá: „ezt eddig nem is tudtuk”, továbbá: „nézd csak, milyen érdekeset találtam”, „milyen kár, hogy ez a könyv még nem volt meg, amikor a szakasszisztens vizsgánkra készültünk” és hasonló megjegyzések hangzottak el. Diplomás munkatársaim és asszisztensnőim spontán módon elhangzott „bírálatát” fel is használtam recenzióm elkészítésekor és értékes véleményükért itt is köszönetemet nyilvánítom.

A könyv értékét azonban nem csupán tartalma szabja meg. Bizonyára Kassai Tibor professzor több évtizedes egyetemi oktatói tevékenységével magyarázható, hogy mon-



danivalóját tiszta logikával, következetesen, közérthetően, de mégis teljes tudományos pontossággal fogalmazza meg és remek pedagógiával vezeti végig. A könyv nyelvezte tudományosan pontos és világos, szabatos és plasztikus; uralja a magyar nyelvet, nyelvi tisztasága és szépsége élvezetes, magával ragadó. (Mily üdítő pl. a magyar nyelvű szakirodalomban újabban elburjánzott anglicizmusok *hiányát* észlelni Kassai professzor könyvében!) De vajon mindennek a megvalósításához elegendő volt-e az oktatásban való jártasság? Nem bizonyos. „*Poeta non fit, sed nascitur.*”

Az információk árját nagyban fokozza a jól megválasztott képanyag és a táblázatok. Igen jól és gondosan összeválogatva 65 ábra tartalmazza azokat az ismereteket, amelyeket szöveg formájában aligha lehetne közölni. Nagyobb részük színes fotográfia, igen-igen jó kivitelben. Remek a 35 db életciklus-diagram. Szerkesztési formájuk egységes, a közlendők logikus formában, kellő szűkszavúsággal, lényegre törően jelennek meg. Ez igen megkönnyíti az olvasó tájékozódását. Tartalmaz a könyv 31 táblázatot, majd külön, az V. rész 7 db összefoglaló táblából áll. Mindjárt az 1. táblázatot telitalálatnak érzem: az elősködő férgek rendszertani kapcsolatát tartalmazza ez, világosan, jól áttekinthető. Minden parazitológus tudja, hogy a törzsek, osztályok, családok rendszerében nem könnyű eligazodni. Ez a táblázat nagyon nagy segítséget nyújt a tájékozódáshoz. Igen hasznos a 2. táblázat is, amely a betegségnevek képzését foglalja magában a genus szinten. A szerző következetesen ragaszkodik a betegségnevek képzésében az -osis végződés alkalmazásához. Csak helyeselni lehet ezt az elvet, amely rendet teremt a különböző fajta végzések (-asis, -iasis, stb.) használata miatt keletkezett dzsungelben. Mégis, az -osis végződéstől eltérő egyéb végzések használata igen elterjedt még a mai szakirodalomban. Talán nem lett volna felesleges ezeket az eltérő formájú betegségneveket is megadni (mint ahogy meg is teszi ezt a szerző egyes fontosabb, vagy elterjedtebb betegségnevek esetén). A többi táblázatról is elmondhatjuk, hogy igen informatívak, egyetlen sincs köztük olyan, amelyeknek az elhagyása indokolt lett volna. Az V. részben megjelenő összefoglaló táblák a hozzájuk tartozó ábrákkal a gyakorló parazitológus számára igazi kincset jelentenek. Vélő, illusztratív tartalmuk révén a gyakorlati (elsősorban laboratóriumi diagnosztikai) munkában remekül használhatók. Címükben az összefoglaló táblák bélsárvizsgálati módszerként jelennek meg, de ennél többet tartalmaznak, hiszen pl. vizelet- vagy köpet-vizsgálati módszereket is magukban foglalnak. Elbűvölő a „Féregtaxonok hétnyelvű szótára”.



Mi mást is mondhatnánk róla, mint hogy ez bizony hét nyelven beszél! Mintegy 600 irodalmi hivatkozást tartalmaz az irodalomjegyzék. Önmagában is imponáló szám, lényegében a helmintológia valamennyi részletéhez forrásokat ad meg. Az újabb szakirodalom jelentős mértékben van képviselve, az újabb, sőt a legújabb (2002-es!) irodalmi adatokat is említi a szerző. A könyvet 18 oldalas, részletes, több, mint 1000 tárgyszót tartalmazó tárgymutató zárja. Igen fontos és értékes része ez a könyvnek. Kár, hogy néhány esetben a tárgyszó nem található meg a hivatkozott oldalon, illetve fordítva.

Mint humán parazitológust, engem különösen izgatott az emberi helminthosisok bemutatása. Könnyű dolog volt a humán vonatkozásokat gyorsan megtalálni, mert ezek a szövegben halvány zöld alapon jelennek meg. Figyelmesség ez az olvasóval szemben, köszönet érte a szerzőnek (és a kiadónak!). Nem szerencsés azonban, hogy egyes fejezet címek, táblázat címek, stb. ugyancsak zöld alapon jelennek meg (még akkor sem, ha ez a fajta zöld enyhén más tónusú). Örömmel láttam, milyen jól kerekedett ki a humán helminthosisok ismertetése. Igen hasznosnak vélem a III. részben a 29. táblázatot, amely összefoglalja az állatgyógyászatban használt anthelmintikus gyógyszerkészítményeket. Kerestem az emberi gyógyászatban használtakat is, de ezeknek a listáját nem találtam meg. Szívesen olvastam volna a IV. részben (Féregfertőzések kórhatározása) kissé nagyobb terjedelemben a modernbb diagnosztikai eljárásokról (szerológiai, biokémiai, molekuláris biológiai módszerek). Az állatorvosi helmintológiai diagnosztikában ma még talán kevésbé elterjedtek ezek a módszerek, a humán diagnosztikában viszont már a mérsékelt felszerelt laboratóriumok is rendszeresen használják őket a napi munkában, és jelentőségük szinte napról-napra növekszik. Ha a humán helmintológiai diagnosztikában ez már a „ma” állapota, az állatorvosi gyakorlatban „holnap” bizonyosan el fognak terjedni az ilyenfajta módszerek.

Minden dicséretet megérdemel a könyv külső megjelenése. Szép, komoly és mérték-tartó a címlapjától kezdve az utolsó oldalig. A magyar parazitológia nemzetközi szinten is az egyik legsikeresebb, legelismertebb tudományágunk. Hírnevének létrejöttében olyan tudós-óriások munkássága volt meghatározó, mint Kotlán Sándor professzor és Lőrincz Ferenc professzor. A második tudós-generáció olyan kiválóságokkal dicsekedhet, mint Kassai Tibor professzor. A harmadik tudós-generációnak ugyancsak nehéz dolga lesz, ha a nagy elődök munkásságának rendkívüli színvonalát megtartani és továbbvinni törekszik.