



Tartalom:

Nozokomiális hepatitis B járvány molekuláris virológiai vizsgálata

Dencs Ágnes Farkas Ágnes Gyugos Mónika, Kurcz Andrea, Puskás Erzsébet,
Barcsay Erzsébet, Takács Mária

AmpC β -laktamázok sajátosságai, a kimutatás lehetőségei

Enterobacteriaceae család tagjaiban; plazmidon-kódolt változat
magyarországi megjelenése és terjedése *Klebsiella pneumoniae*-ban
Gacs Mária, Tóth Ákos

**New Delhi Metallo β -laktamáz (NDM) - új rezisztencia-mechanizmus
megjelenése és globális elterjedése – irodalmi áttekintés**

Tóth Ákos

Mikrobiológiai közlevél ezen számnak megjelentetését a
ROCHE MAGYARORSZÁG KFT. támogatta



Alapító szerkesztők: Dr. Füzi Miklós (PhD)
Dr. Gacs Mária
Szerkesztő: Dr. Gacs Mária
Felelős szerkesztő: Dr. Visontai Ildikó
Operatív szerkesztő: Tirczka Tamás
Tóth Ákos

**A Mikrobiológiai Körlevelek az OEK honlapján
www.oek.hu elérhetőek.**

Nozokomiális hepatitis B járvány molekuláris virológiai vizsgálata

¹Dencs Ágnes, ¹Farkas Ágnes, ¹Gyugos Mónika, ² Kurcz Andrea, ³Puskás Erzsébet, ¹Barcsay Erzsébet, ¹Takács Mária

Országos Epidemiológiai Központ, ¹Virológiai Főosztály, ²Kórházi járványügyi osztály ³ÁNTSZ Borsod-Abaúj-Zemplén Megyei Intézete, Miskolc

Bevezetés

Egy magyarországi kórház Gyermekhaematológiai és Csontvelőtranszplantációs osztályán 2008 június végétől 2009 novemberéig két hullámban (2008 július-augusztus és 2009 szeptember-november) hét ápolat HBV vírusfertőzése fordult elő. Az egyik gyermek esetében 4 családtag (testvér, apa, anya és nagymama) is megbetegedett 2008 júliusában. A fertőződés gyanúja az emelkedett májfunkciós értékek után elvégzett szerológiai vizsgálatok pozitív eredménye során merült fel a kórházban. A gyermekhaematológiai osztályon kezelt betegeknél ugyanis a hepatitis sárgaság nélkül zajlott, s a megbetegedésre jellemző egyéb tünetek (gyengeség, hányinger stb.) a betegek alapbetegségéből adódóan is jelentkezhetnek. A gyerekek többsége acut lymphoid leukémiában (ALL) szenvedett, egy beteg tumor cerebri alapdiagnózissal került felvételre. A betegek több esetben kaptak vért és vérkészítményeket, kezelésük során invazív beavatkozások sora történt. Az Észak-magyarországi Regionális Tisztifőorvos a folyamatos járványügyi vizsgálat és a különböző szakfőorvosok megkeresése mellett, a hepatitis B vírus fertőzésen átesett hét ápolat esetében, valamint az egyik ápolat testvérénél járványügyi érdekből molekuláris genetikai vizsgálatot kezdeményezett az Országos Epidemiológiai Központ (OEK) Hepatitisz és Molekuláris Virológiai osztályán 2009 novemberében.

A munka célja az volt, hogy megállapítsuk, hogy az osztályon kezelt betegek közös forrásból fertőződtek-e meg vagy sem.

Anyagok és módszerek:

A Hepatitisz vírusok Nemzeti Referencia Laboratóriuma 2009. 11. 10-én négy, 2010. január 28-án további négy beteg vérsavóját kapta meg hepatitis B vírus PCR vizsgálat, ezt követő genotipizálás és filogenetikai vizsgálat céljából. A minták molekuláris vizsgálatra alkalmas állapotban érkeztek.

A betegek vérmintáit feldolgozásig -20°C -on tartottuk. A nukleinsav preparálást, és a vírus genom HBsAg proteint kódoló régiójára specifikus PCR módszert Szomor és mtsai-nak 2007-ben az Arch Virol 152

számában megjelent cikkében leírtak alapján állítottuk be. A mintákból a virális nukleinsavat Qiagen QiaAmp MinElute Virus Spin Kit segítségével vontuk ki. A PCR reakciókat Sigma RedTaq ReadyMix-szel végeztük, a korábban kidolgozott módszer alapján (Szomor K et al, 2007). A nested PCR után a terméket Viogene PCR-M Kit segítségével tisztítottuk, a szekvenálási reakciók az Amersham Biosciences DYEnamic ET Dye Terminator Cycle Sequencing Kitjével történtek. A szekvenálási reakció termékének tisztítása során a gyártó által megadott protokollt követtük. A keletkezett DNS-fragmentumok detektálása MegaBACE 1000 automata szekvenáló készüléken történt. Az eredményeket az interneten hozzáférhető Blast program segítségével hasonlítottuk össze a nemzetközi GenBank adatállományában található vírus-nukleinsav adatbázissal. Szintén az interneten hozzáférhető programok (ClustalW és Multalin) segítségével hasonlítottuk össze a kapott eredményeket egymással, illetve a GenBank adatállományában található hepatitis B vírus variánsokkal. A filogenetikai fát a MEGA szoftver 4.0-s verziója segítségével készítettük, a neighbor-joining módszerrel (Kimura kétparaméteres modell). A kapott fa topológiájának valószínűségét bootstrap analízissel vizsgáltuk (1000 ismétlés).

Eredmények és diszkusszió:

Mind a nyolc beteg HBV-DNS pozitívnak bizonyult PCR módszerrel. A szekvenálás mindegyik minta esetében sikeres volt, a kapott filogenetikai fát az 1. ábra mutatja. Ezen a fán álló normál betűvel jelöltük a nemzetközi és hazai kontrollokat. A nemzetközi kontrollok neve a genotípus ill. szubgenotípus nevére utal, a magyar kontrollok „hun” jelöléssel kezdődnek. A vastagon, döntve szedett minták egy korábbi, másik városban zajló járványból kimutatott vírusokat jelölnék, míg az MB kezdetű minták származnak a jelen járványból. Mind a 8 jelen járványhoz tartozó vizsgált minta a D genotípusba tartozik. A minták közötti genetikai távolságot a vízszintes vonalak hosszúsága jelzi. Külön jelentősége van annak, hogy a mintákat összekötő függőleges vonal közös "gyökérrel" csatlakozik-e a bal-oldali függőleges vonalakhoz, vagy külön "csokrot" képez-e a filogenetikai törzsfán.

Az osztályon kezelt gyermekek mintáiból származó vírusok genetikailag igen közel állnak egymáshoz. Hat vírusnak teljesen azonos a nukleotid sorrendje, és a további két vizsgált mintából származó vírus is igen közel áll ehhez a szekvenciához.

Ezek az eredmények a fertőzés közös forrására utalnak. A vizsgált 600 nukleotidpár hosszúságú szakaszon az eltérés kevesebb, mint 1%: maximum 4 nukleotid eltérés volt a szekvenciák között.

A filogenetikai törzsfá alapján a jelen járványból származó vírusok nagy valószínűséggel közös eredetűek egy 2002-2003-as járványból kimutatott vírusokkal, az utóbbi járvány ugyancsak egy onkohaematológiai ellátást végző kórházban fordult elő. A két kórház osztályai között évek óta folyamatos a szakmai együttműködés, és a transzplantálásra váró betegek egy része mindkét osztályon megfordul. A jelenlegi járványban érintett egyik HBsAg pozitív gyermeket az egyik kórházban transzplantációs célból kezelték a másik intézményben is.

Az ÁNTSZ Észak-magyarországi Regionális Intézetének, az OEK Kórházi Járványügyi osztályának, valamint a vizsgálatba bevont szakfelügyelő főorvosoknak a vizsgálatai és megállapításai sok olyan hiányosságot, időben nem észlelt hibát tártak fel, melyek a járvány kialakulásához vezethettek. Ide sorolhatóak többek között a rendszertelenül végzett és hibásan kiadott illetve hibásan értelmezett HBsAg vizsgálati eredmények, s az, hogy nincs evidencia alapú protokoll a haematológiai - onkológiai betegek HBV elleni védőoltására, a szűrés gyakoriságára vonatkozóan. A járvány kialakulásában az is szerepet játszhatott, hogy a gyerekeknek közös játszóhelyiségük volt, ahol az ilyen betegeknél előforduló aphtás stomatitis révén megfertőzhatték egymást.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönik **Dubszki Zsoltné**, **Kulcsár Katalin** és **Kunosné Végh Mária** precíz munkáját.

Irodalom

BLAST - Basic Local Alignment Search Tool:

<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

Finch TV: <http://www.geospiza.com/finchtv/>

Mega 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis:

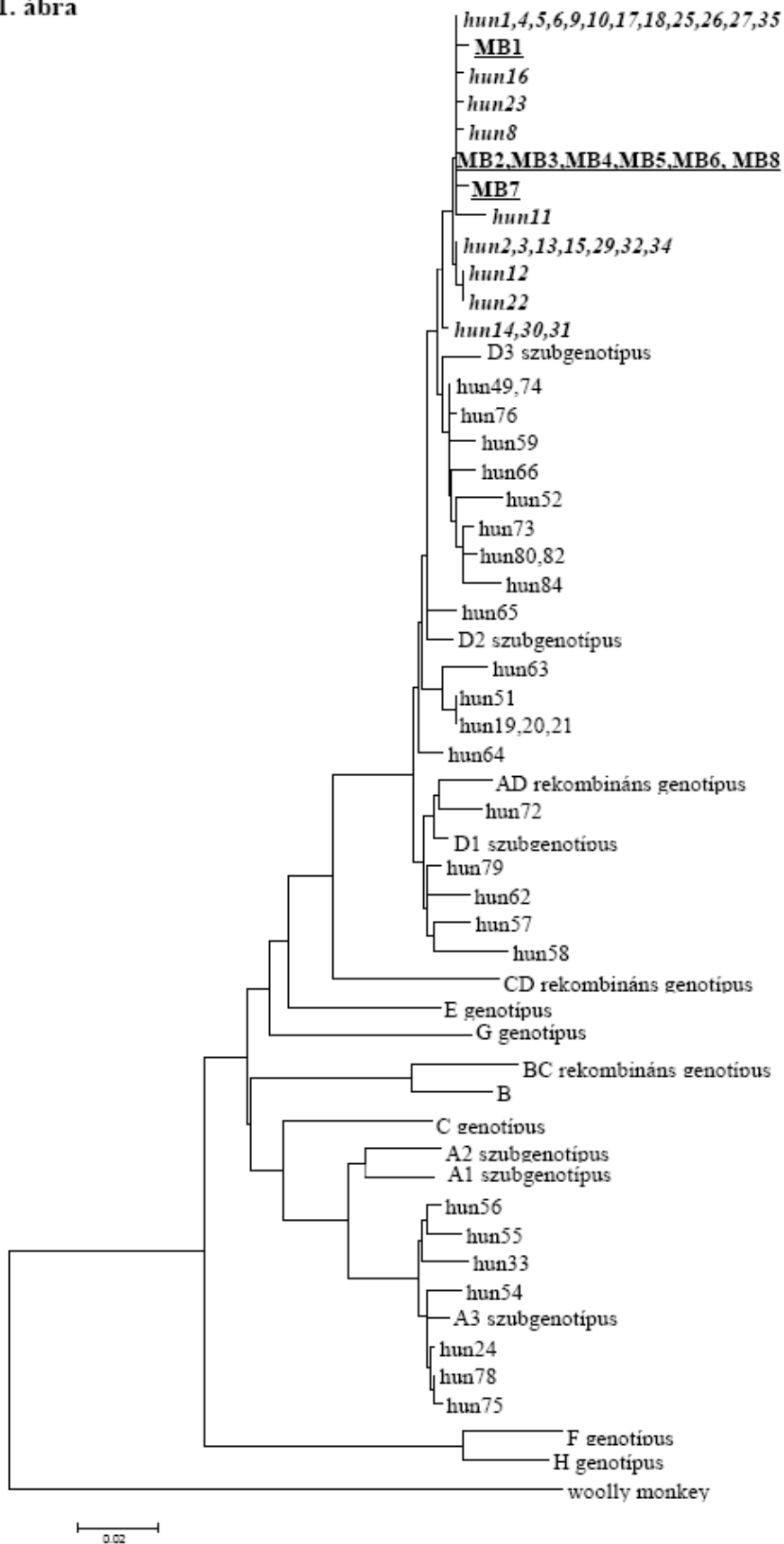
<http://www.megasoftware.net/>

Multalin Multiple sequence alignment by Florence Corpet:

<http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/multalin.html>

Szomor KN, Dencs A, Tóth G, Kovács GM, Saleh AY, Berencsi Gy, Takács M (2007): Variability of the PreS1/PreS2/S regions of hepatitis B virus in Hungary. Arch Virol 152:697-704.

1. ábra



AmpC β -laktamázok sajátosságai, a kimutatás lehetőségei *Enterobacteriaceae* család tagjaiban; plazmidon-kódolt változat magyarországi megjelenése és terjedése *Klebsiella pneumoniae*-ban

Gacs Mária, Tóth Ákos

A β -laktám antibiotikumok elleni védekezés leghatékonyabb formája a β -laktamáz termelés. Mivel a leggyakrabban alkalmazott antibiotikumaink ma is a β -laktámok, az ezeket bontó különböző, egyre változatosabb és szélesebb szubsztrát-spektrumú β -laktamázok kerülnek előtérbe és terjednek folyamatosan világszerte. Az oxyimino-cefalosporinokkal szembeni szerzett rezisztencia terjedéséért az *Enterobacteriaceae* család tagjai körében jelenleg elsősorban az ESBL-termelés felelős. Az irodalomban azonban egyre gyakrabban találkozunk közleményekkel, amelyek cefalosporinokat bontó további enzimekkel kapcsolatos vizsgálatokról számolnak be. Egyik ilyen a karbapenemázok megjelenése és terjedése, amelyről már írtunk a Mikrobiológiai Körlevélben (IX. évf. 1. szám, X. évf. 3. szám). Emellett az utóbbi időben a plazmidon-kódolt AmpC-típusú β -laktamázok jelentősége is növekszik. Hazánkban 2009. év végén küldték be az első olyan 3. gen. cefalosporinokkal szemben rezisztens izolátumokat megerősítésre az Országos Epidemiológiai Központba, melyek plazmidon-kódolt AmpC-termelőknek bizonyultak. 2010-ben pedig már robbanásszerű terjedését tapasztaltuk több intézményben (köztük egy intézményben járványt is okozott).

A hazai eredmények rövid bemutatása előtt szeretnénk áttekintést nyújtani az AmpC-típusú β -laktamázokról rendelkezésünkre álló ismeretekről, különösképp a plazmidon kódolt típusokról.

A β -laktamázok osztályozására többféle rendszert is kidolgoztak. A csoportosítást 1995-ben publikálták Bush és mtsai, melyben az ún. Bush-Jacoby-Medeiros féle funkcionális osztályozást egyesítik az Ambler-féle szerkezeti felépítésen alapuló csoportosítással. A funkcionális és molekuláris tulajdonságokat is magába foglaló rendszer négy csoportba foglalta az akkor ismert β -laktamázokat (1):

- Csoport 1: **Ambler-féle C molekuláris osztályba tartozó cefalosporinázok, melyek általában nem gátolhatók klavulánsavval, és főleg kromoszómálisan kódoltak. Az utóbbi évtizedben azonban plazmidon kódolt változataik egyre inkább terjednek. Összefoglalóan AmpC-típusú β -laktamázoknak hívják a csoport tagjait (1-3).**

- Csoport 2: Ambler-féle A és D molekuláris osztályba tartozó β -laktamázok különböző szubsztrát-specifitással. Általában gátolhatók β -laktamáz inhibitorokkal.
- Csoport 3: Ambler-féle B molekuláris osztályba tartozó metallo- β -laktamázok, melyek hidrolizálják a penicillineket, cefalosporinokat és karbapenemeket is. Az aktív centrumban kétértékű kationt tartalmaznak (pl. Zn^{2+}), és működésüket kelátképző vegyületekkel lehet gátolni (etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA), dipikolinsav) (4, 5)
- Csoport 4: penicillinázok, melyek nem gátolhatók klavulánsavval.

Az Ambler-féle C-osztályba tartozó (ún. AmpC-típusú) kromoszómálisan kódolt β -laktamázokat eddig 23 baktérium genusban írták le. Evolúciós rokonságban állnak az alacsony molekulásúlyú PBP-kkel (penicillin-kötő fehérjék) (D-alanil–D-alanin carboxypeptidáz/transzpeptidázok). Az *Enterobacteriaceae* család tagjainál a legelterjedtebbek a kromoszómálisan kódolt **AmpC-típusú** β -laktamázok (2).

Kromoszómán-kódolt AmpC-típusú β -laktamázok:

Az *E. coli* és a *Shigella* spp. törzsek vad típusai nem-indukálható AmpC-típusú β -laktamázzal rendelkeznek, melyek olyan alacsony szinten termelődnek, hogy ampicillinnel és szűk spektrumú cefalosporinokkal szemben is érzékenyek maradnak. Ritkán kialakulhatnak olyan AmpC-túltermelő mutánsok, melyeknek számos β -laktámmal szemben (kivéve karbapenemek) emelkedett a MIC értéke, azaz rezisztenciát mutatnak. Ez a rezisztencia azonban nem éri el az AmpC-túltermelő enterobacterek rezisztencia szintjét. Az *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp., *Morganella morganii*, *Providencia stuartii* és *P. rettgeri* speciesek szintén kromoszómálisan kódolt AmpC-típusú β -laktamázzal rendelkeznek, azonban expressziójuk indukálható.

Az indukálhatóság szabályozásának háttérében komplex folyamat áll. A β -laktamázt az *ampC* gén kódolja, azonban az indukálható rendszerek esetében több gén befolyásolja ennek kifejeződését. A β -laktám antibiotikumok bakteriális sejtfal szintézist gátló hatásának következményeként a sejtfal alkotóelemei (N-acetilglukozamin-1,6-anhidro-N-acetilmureinsav oligopeptid) felhalmozódnak. Az *Enterobacteriaceae* speciesek esetében ezek az alkotóelemek további átalakulásokon mennek keresztül, és az AmpR fehérjéhez kapcsolódva annak konformációs változását okozzák. Ez a megváltozott AmpR aktiválja az *ampC* transzkripcióját. Egy másik gén az *ampD* terméke korlátozza a β -laktamáz expresszióját, valószínűleg ezzel elkerülve, hogy túltermelje azt. A törzsek AmpC konstitutív túltermelését általában az *ampD* génben történő mutáció okozza. Az AmpR mutációja ritkább, de szintén túltermelést okoz. A

rendszer tagja az AmpG enzim is, mely egy transzmembrán fehérje. Szerepe az indukálásban részt vevő molekulák membrántranszportja, és egyes mutációi alacsony szintű, konstitutív enzimtermelést eredményeznek (2, 6).

A β -laktámok különböző mértékben indukálják az AmpC-típusú enzimek termelését. A benzilpenicillin, ampicillin, amoxicillin, és a szűk-spektrumú cefalosporinok (pl. cefazolin) erősen indukálják az expressziót, és jó szubsztrátjai az AmpC β -laktamázoknak. A karbapenemek szintén erősen indukálják a termelést, de stabilabbak a hidrolízissel szemben. A piperacillin, cefuroxim, oxyimino-cefalosporinok, aztreonam gyengén indukálnak, és nem jó szubsztrátjai az AmpC β -laktamázoknak. Azonban megfelelő mennyiségű enzim – pl. egy AmpC-túltermelő törzs esetében – képes ezeket is hidrolizálni a rezisztencia kialakításához szükséges mértékben. A β -laktamáz inhibitorok, különösen a klavulánsav, szintén jó indukálószerai a termelésnek. Így az enzimtermelés gátlása helyett, fokozza annak expresszióját.

A 4. gen. cefalosporinok (cefepim, cefpirom) szintén gyenge szubsztrátjai ezeknek az enzimeknek, és gyorsabban jutnak át a külső membránon, mint a 3. gen. cefalosporinok. Ezáltal hamarabb fejtik ki hatásukat, mint ahogy az AmpC β -laktamázok inaktiválnák őket. Emiatt a 4. generációs cefalosporinokra az AmpC-termelő/túltermelő izolátumok általában érzékenyek, ez a sajátosság fenotípusos kimutatásuknál is jól használható.

Enterobacter cloacae esetében 3. gen. cefalosporin terápia során könnyen szelektálódhatnak túltermelő mutánsok, melyek konstitutív módon termelik az AmpC-típusú β -laktamázukat, és ekkor már rezisztensek a széles-spektrumú cefalosporinokkal, ureidopenicillinekkal és carboxypenicillinekkal szemben, ami ezek alkalmazhatóságát a vad típusú törzseknél is kérdésessé teszi.

A túltermelő mutánsoknál az AmpC-típusú enzim mennyiségének növekedése mellett a szubsztrát molekulák a periplazmatikus térben lévő mennyisége is befolyásolja a rezisztenciát. A külső membrán permeabilitásának csökkenése (porin mutációk, illetve efflux pumpák működése) csökkenthetik a β -laktám antibiotikumok bejutását. A kétféle rezisztencia kombinálódása pl. különböző szintű karbapenem rezisztenciát alakíthat ki (2).

Plazmidon-kódolt AmpC-típusú β -laktamázok:

Az első plazmidon kódolt AmpC-típusú β -laktamázt 1989-ben közölték. Jelenleg az aminosav szekvenciájuk alapján hét enzimcsaládot különböztetnek meg. Eddig 43 CMY allélt, 7 FOX allélt, 4 ACC, LAT és MIR allélt, 3 ACT és MOX, illetve 2 DHA allélt írtak le. Egyes típusokat kromoszómáisan kódolt génként is azonosítottak, és a plazmidon kódolt változatok ezekből a fajokból származhatnak (pl. CMY-1 *Aeromonas hydrophila*-ból, vagy a MIR-1 *Enterobacter cloacae*-ból). A plazmidon kódolt AmpC enzimek általában konstitutívan termelődnek (ritkán indukálhatóak pl. ACT-1, DHA-1, DHA-2,

ahol a plazmidon megtalálható az AmpR-t kódoló gén is), és általában rezisztenciát biztosítanak penicillinekkal, széles-spektrumú cefalosporinokkal, cefamicinekkel, és változóan aztreonammal szemben, de a törzsek többnyire érzékenyek maradnak cefepimre és karbapenemekre (2).

A plazmidon kódolt AmpC-típusú β -laktamázok gyakran együtt kódolódnak aminoglikozidokkal, chloramphenicollal, kinolonokkal, sulfonamiddal, tetraciklinekkel, és trimethoprimmel szemben rezisztenciát biztosító génekkel, ill. számos más β -laktamázzal (pl. TEM-1, PSE-1, CTX-M-k, SHV-k, és VIM-1).

Világszerte elterjedt enzimek, bár jóval kevésbé gyakoriak, mint az ESBL-k.

A plazmidon-kódolt AmpC-termelő izolátumokkal történő fertőzések rizikófaktoraik hasonlóak az ESBL-termelők esetében leírtakhoz. Érdekesség azonban, hogy a széles-spektrumú cefalosporinok és a β -laktamáz inhibitorok együttes alkalmazása is fontos rizikó faktor.

Hasonlóan a TEM és SHV-enzimekből kialakult ESBL-ekhez, az AmpC-enzimeknél is megjelentek olyan enzimvariánsok, melyeknél szélesedett a szubsztrát spektrum. Ezeknek a mutációknak a hatása általában a ceftazidim és a cefepim, illetve az aztreonam MIC értékét érintik, és magas szintű rezisztencia kialakulásához vezethetnek.

A CMY-2 a legszélesebb földrajzi elterjedtségű plazmidon kódolt AmpC, és a nem-tifoid salmonella törzsekben a β -laktám rezisztencia egyik fontos okozója. Nem-salmonella törzsekben a CMY-típus mellett a DHA és FOX típusokat írták le leggyakrabban. (2, 3). Az utóbbi években plazmidon-kódolt, DHA-1-típusú AmpC-termelő *Klebsiella pneumoniae* izolátumok felbukkanásáról számoltak be több európai országban (Csehország (7, 8), Franciaország (9), Spanyolország (10)). Míg a Csehországban izolált törzsek mindegyike az ST11 szekvencia típusba tartozott (egy-egy izolátumok SHV-5 ESBL-t is termeltek) (7, 8), addig a Spanyolországban izolált 26 *K. pneumoniae* törzs 8 különböző szekvencia típusba volt sorolható (ezek közül 3 törzs CTX-M-15-típusú ESBL-pozitív is volt, szekvencia típusuk ST326) (10). Cuzon és mtsai, valamint Chudácková és mtsai olyan DHA-1-termelő *K. pneumoniae* izolátumokról számoltak be (ezek közül több ESBL-termelő is volt), melyeknél az OmpK36 porin elvesztése karbapenem rezisztenciát is okozott (8, 9).

Antibiotikum terápia:

A jelenlegi CLSI (illetve EUCAST) ajánlások szerint értékelt érzékenységgű, plazmidon-kódolt/ vagy konstitutív AmpC túltermelő izolátumok okozta fertőzések esetében alkalmazott cefalosporin terápia hatékonyságára még nincsenek adatok.

Azonban a korábbi években végzett vizsgálatok esetében ezeknek a törzseknek egy része ugyan *in vitro* érzékenynek volt tartható a 3. gen.

cefalosporinokkal szemben, de a terápia során a cefalosporin alkalmazása nem volt eredményes. A klinikai vizsgálatok, állatkísérletek és *in vitro* vizsgálatok alapján β -laktámok közül a 3. gen. cefalosporinok klinikai hatékonysága nem megfelelő. A cefepim alkalmazhatósága is kérdéses, mivel az inokulum hatás itt is érvényesül, és míg egyes állatkísérletekben a karbapenemekkel azonos hatékonyságúnak, addig másokban azoknál sokkal rosszabbnak találták. A β -laktám/ β -laktamáz gátló kombinációknál a piperacillin/tazobaktám *in vitro* érzékeny lehet, azonban állatkísérletek alapján *in vivo* hatékonysága nem megfelelő.

A karbapenem terápia általában sikeres, azonban fel kell hívnunk a figyelmet arra (ahogy korábban is írtuk), hogy a terápia során kialakulhat különböző szintű karbapenem rezisztencia (porin mutációk, illetve efflux pumpák működése). Így az AmpC-túltermelő/plazmidon-kódolt AmpC-termelő izolátumok esetében a karbapenem-érzékenység folyamatos monitorozása szükséges.

Szűkíti a terápiás lehetőségeket, hogy a plazmidon-kódolt AmpC-termelő izolátumok általában multirezisztensek, és többféle antibiotikum csoporttal szemben is rendelkezhetnek rezisztencia-mechanizmussal, ezért az alternatívaként választható nem- β -laktám antibiotikumok választéka sem túl nagy (lehetséges választandó szerek pl. tigecyclin, enyhébb esetekben fluorokinolonok, amennyiben az izolátum érzékeny ezekre az antibiotikumokra) (2).

AmpC-típusú β -laktamázok kimutatásának lehetőségei

Bár az AmpC-típusú β -laktamázok (akár kromoszómálisan, akár plazmidon kódoltak) igen változatos genetikai háttérrel rendelkeznek, termelésükre következtetni lehet bizonyos β -laktám rezisztencia-mintázat alapján.

Az A molekuláris osztályba tartozó β -laktamázoktól (ide tartoznak a klasszikus ESBL-típusok) eltérően, a C molekuláris osztályba tartozó (AmpC) β -laktamázok jól bontják a cefamicineket (cefoxitin, cefotetan). **Ezért *Enterobacteriaceae* izolátumokban a cefoxitin rezisztencia és a 3. generációs cefalosporinokkal szembeni csökkent érzékenység/ rezisztencia együttes megjelenése AmpC-típusú β -laktamáz termelésre utal.** Bár előfordulnak olyan csökkent porin termeléssel rendelkező ESBL-termelő izolátumok is, melyek cefoxitin rezisztenciával rendelkeznek.

Mint korábban említettük, a 4. generációs cefalosporinok gyenge szubsztrátjai az AmpC β -laktamázoknak, és a túltermelő, illetve plazmidon-kódolt AmpC-termelő izolátumok is általában érzékenyek maradnak ezekre az antibiotikumokra. Ezért ez a fenotípusos kép (***in vitro* 3. gen. cefalosporin rezisztencia/csökkent érzékenység, és 4. gen. cefalosporin érzékenység**) is utalhat AmpC-termelésre. A kép azonban itt sem teljesen egyértelmű, egyrészt az ESBL-termelő izolátumok között is előfordulnak alacsony cefepim MIC

értékkel rendelkező izolátumok, másrészt már kialakultak olyan AmpC-típusok, melyek cefepimmal szemben is rezisztenciát biztosítanak (2, 11).

Utalhat AmpC-típusú β -laktamáz termelésre a β -laktám/ β -laktamáz gátlószerrel szembeni rezisztencia is (széles-spektrumú cefalosporinnal szembeni nem-érzékenységgel párosulva), azonban ezt még inkább kritikusan kell értékelni, mivel számos más mechanizmus is okozhat ilyen fenotípusos képet (pl. IRT (inhibitor rezisztens TEM) termelés, ESBL-enzim túltermelése, OXA-típusú β -laktamázok).

Az AmpC-termelés kimutatására/megerősítésére többféle fenotípusos tesztet is kidolgoztak. A teljesség igénye nélkül felsorolunk néhány gyakran alkalmazott módszert (11):

- **indukálható AmpC-termelés kimutatása** („D-teszt” módszer, aminek keretében imipenem, vagy amoxicillin/klavulánsav tartalmú korong közelébe ceftazidimet helyezünk Mueller-Hinton táptalajon. Indukálható enzimtermelés esetében a ceftazidim körüli gátlási zóna „D” alakúra torzul)
- **háromdimenziós (3D) teszt:** ATCC 25922 *E. coli* kontrolltörzsszel baktériumpázsitot készítünk Mueller-Hinton (MH) agaron. Majd a lemez közepére cefoxitin (30 μ g) korongot helyezünk, és steril pengével sugárirányban vágatokat vágunk a táptalajba. Ebbe helyezzük a vizsgált izolátum élő szuszpenzióját vagy feltárt szuszpenzióját (ami natív β -laktamázokat tartalmaz). Egy-éjszakás, 35°C-on történt inkubálás után értékeljük. Pozitív esetben a vágatok mentén a gátlási zóna torzulása figyelhető meg a cefoxitin korong felé (hasonlóan a módosított Hodge-teszthez). Előnye, hogy nem igényel plusz anyagokat a laboratórium részéről, azonban elég időigényes.
- **AmpC korong teszt:** Szintén 25922 *E. coli* kontrolltörzsszel készítünk baktériumpázsitot MH agaron, majd erre helyezzük a cefoxitin (30 μ g) korongot. Közvetlenül mellé helyezzük az ún. „AmpC” korongot. Az „AmpC” korong Tris-EDTA pufferrel átítatott üres korong (ún. blank), melyre felhelyezés előtt a vizsgált izolátum 1-2 telepét felvisszük. Egy-éjszakás, 35°C-on történt inkubálás után értékeljük. Pozitív esetben a cefoxitin körüli gátlási zóna torzul az „AmpC” korong mellett.) A 3D-tesztnél egyszerűbb, de a kombinált korong teszteknel kicsit bonyolultabb kivitelezni.
- **különböző inhibitorok használata** (házi módszerek, „kombinált korong tesztek”): Az AmpC-termelés vizsgálatára két inhibitor szokat alkalmazni: cloxacillin és bórsavszármazékok (pl. 3-amino-fenil-boronsav (APB)). Többféle összeállításban is leírták a tesztek. A vizsgálatok elve hasonló, mint az ESBL-termelés kimutatására használt kombinált korong teszteké: gátlószermentes cefalosporin (pl. ceftazidim) tartalmú korongok gátlási zónáját hasonlítjuk össze gátlószermentes cefalosporin (pl. ceftazidim) tartalmú korongok gátlási zónájával. **A referencia laboratóriumban végzett fenotípusos vizsgálatoknál 300 μ g APB-t adunk**

gátlószerként a korongokhoz (12). Az APB nemcsak az AmpC β -laktamázokat, hanem a KPC-típusú karbapenemázokat is jól gátolja. **Karbapenem rezisztens/nem-érzékeny izolátumoknál ertapenem és/vagy meropenem korongok használatával az AmpC-termelő törzsek elkülöníthetőek a KPC-termelőktől, mivel előbbi APB-vel és cloxacillinnel, míg utóbbi csak APB-vel gátolható.**

- kereskedelmi forgalomban kapható kombinált korong tesztek (AmpC&ESBL ID set (MAST Diagnostica), Neo-Sensitabs (Rosco Diagnostica): Elvük hasonló a korábban említett kombinált korong tesztekhez.

Néhány fontos megjegyzés a fenotípusos vizsgálati módszerekhez:

- Problémát jelent az AmpC-túltermelés és/vagy plazmidon kódolt AmpC-termelés elkülönítése az ESBL-termeléstől. Erre többféle fenotípusos módszer használható:
 - o A módosított kétkorong szinergizmus teszt (DDST) esetében az amoxicillin/klavulánsav korong köré helyezett korongok között szerepel 4. gen. cefalosporin is. ESBL-termelő izolátum esetében ilyenkor látható a gátlási zóna torzulása, míg AmpC-termelő izolátum esetében nincs torzítás és általában a gátlási zóna az érzékeny tartományban van.
 - o A cloxacillin-t tartalmazó MH táptalajon végzett ESBL-megerősítő vizsgálatoknál az AmpC-termelés nem fogja zavarni a fenotípusos teszteket
 - o A módosított DDST esetében a korongokra gátlószer adása (pl. APB)
 - o AmpC&ESBL ID set alkalmazása
- **karbapenem nem-érzékeny törzsek esetében az AmpC-termelő és karbapenemáz negatív izolátumok esetenként adhatnak módosított Hodge-teszttel pozitív eredményt (13), ezért pozitív eredmény kiadása előtt érdemes más fenotípusos teszte(ke)t is végezni**
- A megerősítésre beküldött izolátumok kísérőlapjai alapján úgy tűnik, hogy az AmpC&ESBL ID set (Mikrobiológiai Körlevél X. évf 1. szám) használata egyre terjed Magyarországon. A módszer kiválóan alkalmas az ESBL-termelő izolátumoknak az AmpC-termelő izolátumoktól való elkülönítésére. Azonban nem alkalmas (ahogy más fenotípusos teszt sem) a kromoszómális AmpC-túltermelő, valamint a plazmidon-kódolt AmpC-termelő izolátumok megkülönböztetésére. A kromoszómálisan AmpC-típusú β -laktamáz termelő specíesek esetében a 3. generációs cefalosporin rezisztenciát elsősorban túltermelés okozza (természetesen nem zárható ki plazmidon kódolt enzim termelése sem).

Bár az antibiotikum terápia szempontjából nem jelent nagy különbséget az AmpC-gének különböző elhelyezkedése (bár a plazmidon-kódoltak esetében

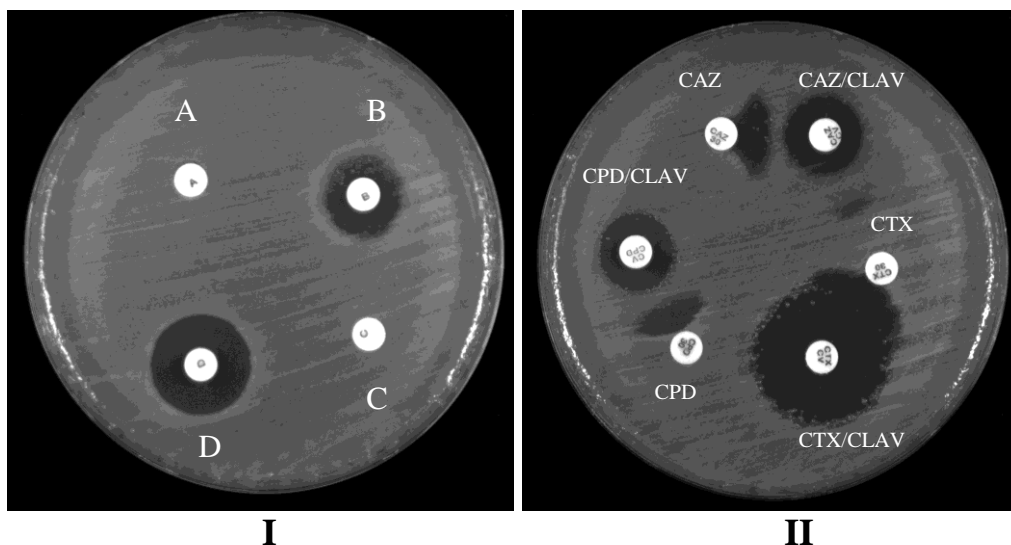
általában multirezisztensek is az izolátumok), azonban infekciókontroll és kórházhigiénés szempontból már jelentős különbség van. Míg a kromoszómális AmpC-túltermelő törzsek általában a terápia során mutációval alakulnak ki, és klonálisan terjedhetnek, addig a plazmidon-kódolt AmpC β -laktamázok horizontálisan is terjedhetnek, akár specíesek között is, és általában multirezisztenciát okozó plazmidokon kódolódnak. Ezért megkülönböztetésük fontos lehet, ám kromoszómán vagy plazmidon kódolt voltukat csak molekuláris módszerekkel lehet igazolni.

Az Országos Epidemiológiai Központban a molekuláris vizsgálatokhoz Pérez-Pérez és mtsa által kifejlesztett multiplex PCR-t alkalmazzuk (14).

Plazmidon-kódolt AmpC-termelő *K. pneumoniae* izolátumok megjelenése Magyarországon

Az ESBL-termelés megerősítésre beküldött *K. pneumoniae* izolátumok között 2009. év végén bukkantak fel az első CTX-M-típusú ESBL és indukálható, plazmidon-kódolt AmpC-termelők. 2010-ben már több intézményből is küldtek ilyen *K. pneumoniae* izolátumokat, melyek a cefalosporinok mellett aminoglikozidokkal, fluorokinolonokkal és sumetrolimmal szemben is rezisztenciát mutattak. Egyes izolátumoknál már megjelent a karbapenem rezisztencia is (volt olyan izolátum, amely >32 mg/L imipenem MIC értékkel rendelkezett). A fenotípusos megerősítő vizsgálatok jellegzetes képet mutattak (1. ábra).

2010. október 1-ig **49** olyan *K. pneumoniae* izolátum (35 betegről) került megerősítésre a referencia laboratóriumban, melyek **plazmidon-kódolt, indukálható DHA-termelők** voltak (ezek közül **46 volt CTX-M-típusú ESBL-termelő is**). Az izolátumok molekuláris-epidemiológiai tipizálását PFGE módszerrel az OEK Fágtypizálási és molekuláris epidemiológiai osztályán végezték el (1. táblázat). Ennek alapján elmondható, hogy az izolátumok jelentős része egy pulzotípushoz tartozott. Úgy tűnik, hogy hasonlóan a 2005-ben tapasztalt CTX-M-15-termelő *K. pneumoniae* klónok megjelenéséhez és robbanásszerű elterjedéséhez, egy újabb multirezisztens klón sikeres terjedését figyelhettük meg Magyarország több egészségügyi intézményében. Az izolátumok részletes vizsgálatának eredményeiről a Mikrobiológiai Körlevél későbbi számában írunk.



1. ábra CTX-M-típusú ESBL-termelő és indukálható, plazmidon kódolt AmpC-típusú β -laktamáz (DHA)-termelő *K. pneumoniae* izolátum kombinált korong tesztjei. I: ESBL&AmpC ID (MAST Diagnostica), II: kombinált korong teszt ESBL-termelés kimutatására (MAST Diagnostica).

A: cefpodoxim, B: cefpodoxim+klavulánsav, C: cefpodoxim+cloxacillin; D: cefpodoxim+klavulánsav+cloxacillin

1. táblázat *Klebsiella pneumoniae* izolátumok plazmidon-kódolt AmpC-típusú β -laktamáz hordozása Magyarországon, 2009.01.01.-2010.10.01.

	Pulzotípusok			
	KP053	KP055	KP070	Z klón
Év				
2009	2 (A)*	-	-	-
2010	42 (A, B, C, D, E, F)	1 (A)	3 (G)	1 (A)
	DHA-típusú plazmidon kódolt AmpC és CTX-M- típusú ESBL-termelő	DHA-típusú plazmidon kódolt AmpC és CTX-M-típusú ESBL-termelő	DHA-típusú plazmidon kódolt AmpC- termelő	DHA-típusú plazmidon kódolt AmpC és CTX-M-típusú ESBL-termelő

* Különböző egészségügyi intézmények, ahonnan az izolátumok származtak

Köszönjük a bakteriológiai diagnosztikai laboratóriumokban dolgozó kollégáknak, hogy az izolátumok beküldésével eddig is segítették munkánkat! Kérjük, hogy az olyan *K. pneumoniae* izolátumokat, melyek 3. generációs cefalosporinokkal szemben rezisztensek/ nem-érzékenyek és cefoxitin rezisztensek, illetve az AmpC&ESBL ID alapján AmpC-termelőnek is bizonyulnak, az OEK Bakteriológiai I. osztályára további vizsgálatra és megerősítésre beküldeni szíveskedjenek!

Irodalomjegyzék

1. *Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA.* (1995) A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*, 39: 1211–1233.
2. *Jacoby GA.* (2009) AmpC β -lactamases. *Clin Microbiol Rev*, 22: 161-182.
3. *Livermore DM.* (1995) β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev*, 8: 557-584.
4. *Shin KS, Son BR, Hong SB, Kim J.*(2008) Dipicolinic acid-based disk methods for detection of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 62:102–105.
5. *Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM, Chong Y.* (2002) Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol*, 40: 3798–3801.
6. *Bennett PM, Chopra I.* (1993) Molecular basis of β -Lactamase induction in bacteria *Antimicrob Agents Chemother*, 37: 153-158.
6. *Empel J, Hrabák J, Kozinska A, Bergerová T, Urbánšková P, Kern-Zdanowicz I, Gniadkowski M.*(2010) DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in a teaching hospital in the Czech Republic. *Microb Drug Resist*, [Epub ahead of print] PubMed PMID: 20624093.
7. *Chudácková E, Bergerová T, Fajfrlík K, Cervená D, Urbásková P, Empel J, Gniadkowski M, Hrabák J.* (2010) Carbapenem-nonsusceptible strains of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 and/or DHA-1 β -lactamases in a Czech hospital. *FEMS Microbiol Lett*, [Epub ahead of print] PubMed PMID: 20528936.
8. *Cuzon G, Naas T, Guibert M, Nordmann P.* (2010) In vivo selection of imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamase CTX-M-15 and plasmid-encoded DHA-1 cephalosporinase. *Int J Antimicrob Agents*, 35: 265-268.
9. *Diestra K, Miró E, Martí C, Navarro D, Cuquet J, Coll P, Navarro F.* (2010) Multiclonal epidemic of *Klebsiella pneumoniae* isolates producing DHA-1 in a Spanish hospital. *Clin Microbiol Infect*, Accepted Article, doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03319.x
10. *Doi Y, Paterson DL.* (2007) Detection of plasmid-mediated class C β -lactamases. *Int J Infect Dis*, 11: 191-197.
11. *Yagi T, Wachino J, Kurokawa H, Suzuki S, Yamane K, Doi Y, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Arakawa Y.* (2005) Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C β -lactamase

- producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. J Clin Microbiol, 43: 2551–2558.
12. Giske CG, Gezelius L, Samuelsen Ø, Warner M, Sundsfjord A, Woodford N. (2010) A sensitive and specific phenotypic assay for detection of metallo- β -lactamases and KPC in *Klebsiella pneumoniae* with the use of meropenem disks supplemented with aminophenylboronic acid, dipicolinic acid and cloxacillin. Clin Microbiol Infect, [Epub ahead of print] PubMed PMID: 20597925.
 13. Pérez és Pérez FJ, Hanson ND. (2002) Detection of plasmid-mediated AmpC β -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. J Clin Microbiol, 40: 2153-2162.

New Delhi Metallo β -laktamáz (NDM) - új rezisztencia-mechanizmus megjelenése és globális elterjedése – irodalmi áttekintés

Összeállította: Tóth Ákos

A klinikai gyakorlatba való bevezetésük óta, a karbapenemek a leghatékonyabb antibiotikumok a Gram-negatív patogének (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* complex) okozta nozokomiális fertőzések terápiájában. A legtöbb β -laktamázzal szemben ellenállóak, és a kiterjedt spektrumú- β -laktamázokat (ESBL) termelő Gram-negatív kórokozók okozta fertőzéseknel a leghatékonyabb terápiás szerek. Rendkívül nagy közegészségügyi problémát jelent, hogy napjainkban egyre nagyobb arányban jelennek meg karbapenemmel szemben rezisztens törzsek (1). Az *Enterobacteriaceae* család tagjainál előforduló karbapenem rezisztencia-mechanizmusokról és azok elterjedtségéről Európában már beszámoltunk a Mikrobiológiai Körlevél IX. évf. 1. számában. Jelen írásunkban egy újfajta karbapenemáz enzim (NDM-1) megjelenéséről és robbanásszerű terjedéséről szeretnénk tájékoztatást adni.

Mint több más β -laktamáznál, így a New Delhi Metallo β -laktamáz (NDM) esetében is elnevezése az első izolálás származási helyére utal. Az első NDM-1 termelő *Klebsiella pneumoniae* izolátumot egy 59 éves, indiai származású férfi beteg vizelet mintájából tenyésztették ki. A beteg svédországi lakos volt, és gyakran utazott Indiába. Anamnézisében 2-es típusú diabetes mellitus és többszörös stroke szerepelt. 2007. novemberében Indiába utazott és december 5-én egy kiterjedt gluteális tályog miatt kórházba került Ludhiana-ban (Punjab). 2007. decemberében Új-Delhi egyik kórházába szállították, ahol megoperálták. Kórházi ápolása során parenterális amoxicillin/klavulánsav, metronidazol, amikacin és gatifloxacin terápiában részesült. 2008. január 8-án Svédországba szállították (2).

A karbapenemáz-termelő *K. pneumoniae* törzset (NDM-1 pozitív) 2008. január 9-én izolálták a beteg vizelet mintájából, azonban csak 10^3 CFU/ml csíraszámban, és húgyúti infekcióra (UTI) utaló egyértelmű tünete sem volt. Később levett mintáiból már nem tenyésztett ki karbapenemáz-termelő *K. pneumoniae* izolátum, azonban három hónappal későbbi székletmintájából NDM-1-termelő *Escherichia coli* törzset tenyésztettek ki (2).

Az NDM-1-termelő, vizeletből származó *K. pneumoniae*, és a székletből izolált *E. coli* minden β -laktám antibiotikum csoporttal szemben, valamint ciprofloxacinnal szemben is rezisztensnek bizonyult, azonban colistinre érzékenyek maradtak (a cikkben más antibiotikum csoportot nem vizsgáltak) (2).

Az új metallo- β -laktamáz enzim (NDM-1) 269 aminosavból áll, 27,5 kDa molekula tömegű fehérje, mely csak 32,4%-os hasonlóságot mutat a hozzá legközelebb álló VIM-1/VIM-2 MBL szekvenciájával. Az enzimaktivitás vizsgálata során kiderült, hogy a β -laktámokkal szembeni hidrolitikus aktivitása hasonló az IMP-1 és VIM-2 enzimekhez. Hasonlóan más MBL-ekhez nem bontják a monobaktámokat. A vizsgált izolátumok azonban rezisztensek voltak aztreonammal szemben is, mivel a törzsek plazmidon-kódolt AmpC-típusú β -laktamázt (*bla*_{CMY-4} gén kódolta) is termeltek (2).

Az NDM-1-termelő *K. pneumoniae* és *E. coli* izolátum is konjugatív plazmidon hordozta a rezisztencia gént, azonban azok eltérő méretűek voltak (előbbinél 180 kb, utóbbinál 140 kb nagyságú). Meglepő volt, hogy ellentétben az eddig leírt MBL génekkel, melyek vagy 1-es osztályú integronon kódoltak, vagy *ISCR1* elemhez kapcsolódnak, a *bla*_{NDM-1} gén genetikai környezetében egyiket sem találták meg.

A *K. pneumoniae* izolátum ST14 szekvencia típusba tartozott. Ehhez a klónhoz tartozó izolátumokból az USA-ban már *bla*_{KPC} gént is ki mutattak (2). Ki kell emelni, hogy a hazánkban elterjedt CTX-M-15-termelő *K. pneumoniae* ST15 epidémiás klón közeli rokonságban áll az ST14 szekvencia típussal (ún. SLV – single locus variant) (3).

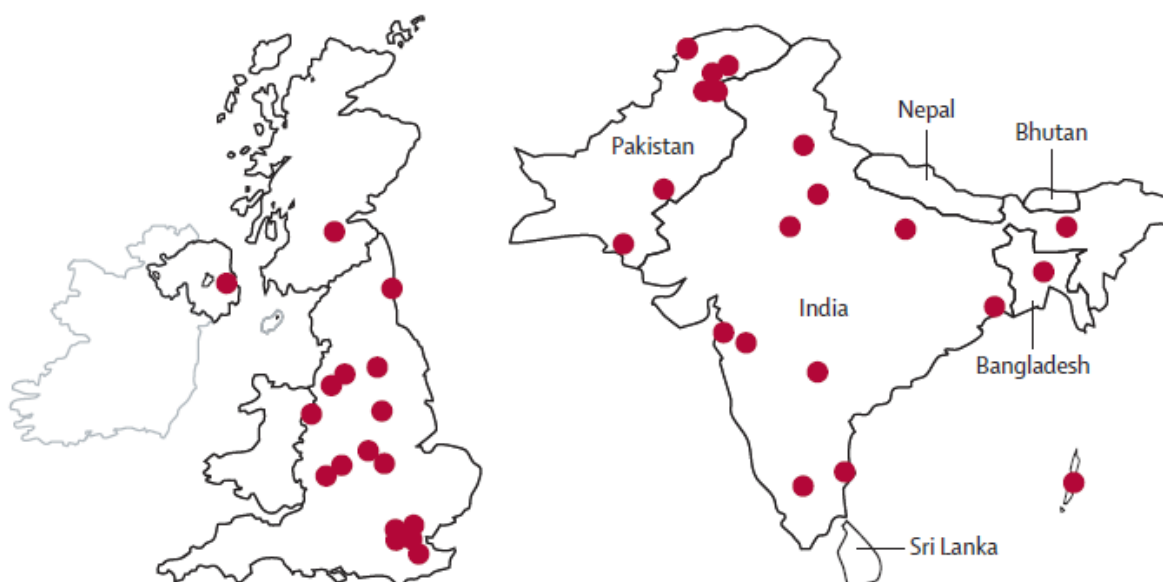
A *bla*_{NDM-1} kimutatása és az eset epidemiológiai vonatkozásai több problémát is felvetettek: mennyire elterjedt ez az új rezisztencia-mechanizmus Indiában, és eljutott-e már más földrészekre is (mint ahogy Európában is megjelent).

Az eset fontosságára már 2009. júniusában felhívta a figyelmet a Health Protection Agency (HPA) Colindale Antibiotikum-rezisztencia monitorozó és Referencia Laboratóriuma, mikor az Egyesült Királyságban „Nemzeti Rezisztencia Riadó”-t rendelt el a karbapenemáz-termelő *Enterobacteriaceae* izolátumok megjelenése és számának növekedése miatt. Míg 2007-ben összesen 8, addig 2008-ban már 21 karbapenemáz-termelő izolátumot igazoltak (ebből 3 volt NDM-1 termelő). 2009. júniusáig pedig a karbapenemázok között az NDM-1 vált a leggyakoribb *Enterobacteriaceae* családba tartozó törzsekben kimutatott karbapenemázzá. Azonnali nemzeti surveillance programot hirdettek az NDM-1 elterjedtségének feltérképezésére, külön figyelmet fordítva az Indiai szubkontinenssel összefüggésbe hozható esetekre. Ezt azért is volt fontos már akkor kiemelni, mivel a 18 betegből 12-t összefüggésbe lehetett hozni az Indiai szubkontinenssel, és nyolcan orvosi ellátásban is részesültek Indiában vagy Pakisztánban (4).

Az európai, indiai és pakisztáni kutatókból álló csoport 2010. augusztus elején publikálta az első olyan felmérést, melyben az NDM-1 elterjedtségéről számoltak be. A vizsgált izolátumok egyrészt India két tartományából (Chennai

és Haryana), a HPA Antibiotikum-rezisztencia monitorozó és Referencia Laboratóriumába 2003-2009 között küldött izolátumok gyűjteményéből, valamint Banglades, India és Pakisztán más területeiről származtak (1. ábra) (5):

- Chennai tartományból származó, 2009-ben izolált 3521 *Enterobacteriaceae* törzsből 44 (19. *E. coli*, 14. *K. pneumoniae*, 7 *Enterobacter cloacae*, 2 *Proteus* spp. és 1-1 *Citrobacter freundii* és *K. oxytoca*) volt NDM-1 pozitív.
- Ugyanebben az időszakban Haryana-ból származó 198 izolátum közül 47 volt karbapenem rezisztens, amelyből 26 volt NDM-1 pozitív, és mind *K. pneumoniae*. Az izolátumok elsősorban területen szerzett UTI-ból, valamint pneumóniából és véráramfertőzésből származtak.
- Az Egyesült Királyságban a 2009-ben vizsgált karbapenemáz-termelő *Enterobacteriaceae* izolátumok között a *bla*_{NDM-1} vált a leggyakoribb karbapenemáz génné (32/73) a következő megoszlásban: 21 *K. pneumoniae*, 7 *E. coli*, 5 *Enterobacter* spp., 2 *C. freundii*, 1 *Morganella morganii* és 1 *Providencia* spp.. Az izolátumok többsége (n=15) vizelet mintából származott. Legalább 17 beteg volt egy éven belül Indiában vagy Pakisztánban, és 14 beteg részesült ott egészségügyi ellátásban.
- További 83 NDM-1-pozitív izolátumot mutattak ki Indiában 3 és Pakisztánban 8 további városból. Ezen kívül Bangladesből származó izolátumnál is kimutattak *bla*_{NDM-1} hordozást.



1. ábra NDM-1-termelő *Enterobacteriaceae* törzsek előfordulása Bangladesben, Indiában, Pakisztánban és az Egyesült Királyságban (A térkép forrása: Kumarasamy és mtsai, Lancet, 2010, DOI:10.1016/S1473-3099(10)70143-2)

Az izolátumok rezisztensek voltak β -laktámokkal, ciprofloxacinnal, aminoglikozidokkal szemben. Csak néhány izolátum volt azteronamra érzékeny, mivel a legtöbb törzs további β -laktamáz géneket is hordozott (*bla*_{CMY-4}, *bla*_{CTX-M-15}).

Az izolátumok többsége azonban érzékeny volt tigecyclinre és colistinre. A problémát leginkább a természetes rezisztenciával rendelkező speciestek megjelenése okozza (pl. *Proteus* spp. *M. morganii*, *Providencia* spp.).

Az angol és a Chennai tartományból származó *K. pneumoniae* és *E. coli* izolátumok között nem volt domináns PFGE típus, sőt nem volt olyan pulzotípus sem ahová kettőnél több izolátum tartozott. Az angol és az indiai izolátumok is különböztek egymástól. Ezzel szemben a Haryana tartományból származó 26 *K. pneumoniae* izolátum egy PFGE-típusba tartozott, ami klonális terjedésre utalt.

A *bla*_{NDM-1} gének különböző nagyméretű konjugatív plazmidon helyezkedtek el elsősorban, bár három angol izolátumnál a gén kromoszómán lokalizálódott.

Az eredmények alapján a szerzők az alábbi következtetéseket vonták le a vizsgált NDM-1-termelő izolátumokkal kapcsolatban:

- az izolátumok szinte mindegyike rezisztens volt a Gram-negatív kórokozók okozta infekciónál általánosan használt antibiotikum csoportokkal szemben (minden β -laktám, aminoglikozidok, fluorokinolonok)
- a legtöbb izolátum érzékeny maradt tigecyclinre és colistinre
- sem az Indiai szubkontinensről, sem az Egyesült Királyságból származó *K. pneumoniae* és *E. coli* izolátumoknál nem volt egy domináns törzs. Mindazonáltal a Haryana-ból származó *K. pneumoniae* izolátumok klonalitása azt mutatja, hogy egyes törzsek képesek lehetnek járványokat okozni
- a *bla*_{NDM-1} gén általában különböző méretű, konjugatív plazmidokon helyezkedett el, ami a bakteriális populációban való gyors terjedés lehetőségét mutatta
- az NDM-1-termelő izolátumok megjelenése és számának emelkedése az Egyesült Királyságban jelentős problémára hívja fel a figyelmet. A gén szigetországi megjelenése nem véletlen, hiszen történelmi kapcsolata van Indiával. A lakosság egy része Indiából származik, és ezért oda gyakran utazik. Emellett azonban meg kell említeni, hogy India olcsóbb kozmetikai műtétek lehetőségét nyújtja a fejlett országok polgárai számára. Ez elősegítheti az új rezisztencia gén világszintű elterjedését (5).

Egy másik publikációban Rolain és mtsai összefoglalták az NDM-1 előfordulásáról rendelkezésre álló adatokat (6). Irodalmi áttekintésben korábban leírt eredményeken túl ismertették, mely további országokban jelentek meg sporadikusan NDM-1-termelő *Enterobacteriaceae* izolátumok:

- USA (1 *E. coli*, 1 *K. pneumoniae* és 1 *E. cloacae* izolátum, mindegyik olyan betegből származott, akik Indiában részesültek orvosi ellátásban)
- Kanada
- Európa (Svédország, Ausztria, Belgium, Franciaország, Egyesült Királyság, Hollandia, Németország)
- Japán
- Afrika
- Omán
- Ausztrália (egy NDM-1-termelő *E. coli* izolátum, mely CTX-M-15-t, valamint ArmA és RmtB 16S RNS metilázokat is termelt. Utóbbiak a riboszóma metilálásával biztosítanak magas szintű rezisztenciát minden aminoglikoziddal szemben (7)).

Emellett Új-Delhiben leírtak három *Acinetobacter baumannii* izolátumot, melyek *bla*_{OXA-23} karbapenemáz gén mellett *bla*_{NDM-1} MBL gént is hordoztak.

A gén konjugatív plazmidon való elhelyezkedése, és így a könnyű és gyors terjedés lehetősége, valamint a globalizáció és a modern utazási szokások miatt az NDM-1-termelő törzsek robbanásszerű és globális elterjedéssel fenyegetnek (6).

A szerzők összefoglalásukban továbbá kiemelik, hogy legalább olyan 4 fő probléma van, melyek mindegyike akadályozza az MBL-termelő kórokozók terjedésének megfékezésére tett erőfeszítéseket:

1. hiányzik egy standardizált, rutinszerűen alkalmazható fenotípusos teszt az MBL-termelés detektálására
2. a fel-nem-ismert tünetmentes hordozók valószínűleg magas hordozási aránya, mely lehetővé teszi az ilyen baktériumok elterjedését
3. még jó ideig nem állnak rendelkezésünkre ilyen multirezisztens Gram-negatív kórokozókkal szemben is hatékony antibiotikumok
4. az MBL-gének azon képessége, hogy számos Gram-negatív baktériumba átkerülhetnek és így elterjedhetnek

Az országos Epidemiológiai Központ Bakteriológiai I. osztályán már lehetőség van a *bla*_{NDM-1} gén PCR módszerrel történő kimutatására. Eddig nem érkezett



olyan izolátum megerősítésre, mely ezt a gént hordozta, azonban egyre emelkedő számban kerülnek beküldésre és megerősítésre egyéb karbapenemázokat termelő *Enterobacteriaceae* törzsek. A Mikrobiológiai Körlevél következő számában a hazai karbapenemáz-termelő *Enterobacteriaceae* izolátumokról olvashatnak.

Felhasznált irodalom:

1. Cornaglia G, Rossolini GM. (2010) The emerging threat of acquired carbapenemases in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect*, 16: 99-101.
2. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, Walsh TR. (2009) Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, *bla*_{NDM-1}, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother*. 53: 5046-5054.
3. Damjanova I, Tóth A, Pászti J, Hajbel-Vékony G, Jakab M, Berta J, Milch H, Füzi M. (2008) Expansion and countrywide dissemination of ST11, ST15 and ST147 ciprofloxacin-resistant CTX-M-15-type β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* epidemic clones in Hungary in 2005-the new 'MRSA's'? *J Antimicrob Chemother*. 62: 978-985.
4. Antibiotic Resistance Monitoring and Reference Laboratory, Centre for Infections, HPA Colindale. (2009) Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in the UK: NDM (New Delhi Metallo-) β -lactamase: repeated importation from Indian subcontinent. http://www.hpa.org.uk/web/HPAwebFile/HPAweb_C/1248854045473
5. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R, Chaudhary U, Doumith M, Giske CG, Irfan S, Krishnan P, Kumar AV, Maharjan S, Mushtaq S, Noorie T, Paterson DL, Pearson A, Perry C, Pike R, Rao B, Ray U, Sarma JB, Sharma M, Sheridan E, Thirunarayan MA, Turton J, Upadhyay S, Warner M, Welfare W, Livermore DM, Woodford N. (2010) Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis*. 10: 597-602.
6. Rolain JM, Parola P, Cornaglia G. (2010) New Delhi metallo- β -lactamase (NDM-1): towards a new pandemic? *Clin Microbiol Infect*. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03385.x. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 20874758.
7. Poirel L, Lagrutta E, Taylor P, Pham J, Nordmann P (2010). Emergence of metallo- β -lactamase NDM-1-producing multidrug resistant *Escherichia coli* in Australia. *Antimicrob Agents Chemother*. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 20823289.