

## 1. Bakteriológiai laboratóriumi kórjelzés különböző fertőzőes kórképek esetén

### 1.1. Felső légúti fertőzések

A felső légutakban gazdag baktériumflóra található. Ezért a felső légutakból származó vizsgálati minták laboratóriumi feldolgozásánál számos baktérium közül kell kiválasztani a valódi patogéneket. A felső légúti fertőzések több formában jelentkezhettek: pharyngitis (angina), naso-pharyngitis, rhinitis, sinusitis, otitis media, laryngitis, epiglottitis. A felső légutak különböző régiói között nincsenek jól körülhatárolt barrierék, emiatt a fertőzés per continuitatem terjedése következtében a fenti kórképek egymással vagy alsó légúti fertőzéssel társulhatnak. A baktériumok szóródása következtében invazív kórképek is kialakulhatnak.

A felső légutakból származó vizsgálati minták lehetnek: garatváladék, orr- és nasopharyngealis váladék, sinusokból vagy középfülből származó genny.

A pharyngitisek etiológiája változatos: kiváltásukban gyakran szerepelnek vírusok, baktériumok, ritkábban sarjadzó gombák.

Garatváladék bakteriológiai laboratóriumi vizsgálatának javallatai: streptococcusok vagy más baktériumok okozta angina illetve pharyngitis kórjelzése, diftéria klinikai diagnózisának megerősítése/cáfolása, hordozói állapot szűrése (*Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium diphtheriae*).

A garatváladék feldolgozására leggyakrabban a *Streptococcus pyogenes* kimutatása céljából kerül sor, azonban más baktériumok vagy sarjadzó gombák tenyésztése és azonosítása is lehetséges, ha a beteg klinikai állapota ezt megköveteli.

A mintavétel általában reggel történik, fogmosás és étkezés előtt, vagy utána 3-4 órával. A steril vattatamponnal elsősorban a gyulladt, fekélyes, gennyes területekről, álhártya jelenléte esetén a széli részek megemelésé után az álhártya alól vesszük a mintát. Vigyázni kell arra, hogy a tampont a nyelvhez, szájpadhoz ne érintsük hozzá, hogy elkerüljük a kontaminációt a szájlórával. Ha a levett mintát három órán belül nem oltják le, szükség van transzport illetve dúsító táptalaj használatára (Na-azid és kristály-ibolya tartalmú). A tenyésztés birkavért tartalmazó véres agaron valósítható meg. A leoltáskor egy szektorban, a tampont forgatva minden felületét hozzáérintjük a táptalajhoz, ezt követi a szélesztés kaccsal. Szélesztéskor a szektorok szélén célszerű kissé megszúrni vagy metszeni a táptalajt, mert ezzel mikroaerofil

körülményeket teremtünk, ami megelőzi a sztreptolizin-O oxidálódását és ezáltal a sztreptolizin-S-t nem termelő törzsek azonosítását is lehetővé teszi. Aerobiózisban a sztreptolizin-O  $\alpha$ -hemolízist hoz létre, így teleptulajdonságok alapján nem lehet elkülöníteni a zöldítő streptococcusoktól. A véres agarhoz szelektivitást biztosító anyagokat is adhatunk (kristály-ibolya, 3,5% NaCl, trimethoprim-sulfamethoxazol). Az inkubálás 37°C-n aerob körülmények között történik, 18-24 órán át, de ha ennyi idő alatt nem alakultak ki a jellegzetes  $\beta$ -hemolizáló telepek, akkor a tenyésztési idő megnyújtható 48 óráig. Anaerob inkubálás növeli a *Streptococcus pyogenes* kimutatásának esélyeit, a legtöbb laboratóriumban azonban erre a rutin diagnosztikában nem kerül sor (anaerobiózisban a sztreptolizin-S-t nem termelő törzsek telepei is  $\beta$ -hemolízist hoznak létre).

A tenyészet leolvasásakor a 0,5-1 mm átmérőjű, széles,  $\beta$ -hemolitikus udvarral rendelkező telepeket keressük, amelyeket nagyítóval is vizsgálhatunk. A szerocsoport azonosítása a bacitracinnal szembeni érzékenység meghatározásával történik. Az A csoporthoz tartozó *Streptococcus pyogenes* bacitracinnal szemben érzékeny. A csoport meghatározása latex-agglutináción alapuló reakcióval is végezhető.

A *Streptococcus pyogenes* megőrizte penicillin érzékenységét, változó arányban előfordul rezisztencia más antibiotikumokkal szemben. A rezisztencia vizsgálatára antibiogram végezhető a klinikus kérésére, abban az esetben, ha a beteg allergiás a penicillinre.

### **Bakteriális pharyngitis okozói**

- *Streptococcus pyogenes* (A csoport)
- GNAS (Group non-A streptococcus) – C, G
- *Chlamydomphila pneumoniae*
- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Haemophilus influenzae*
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Corynebacterium diphtheriae*
- *Arcanobacterium haemolyticum*
- *Treponema vincentii*, *Fusobacterium* spp.

Az orrváladék bakteriológiai feldolgozása a hordozói állapot tisztázása céljából történik. Az orrváladékból tenyészthető patogén fajok a *Staphylococcus aureus* és *Streptococcus pyogenes*.

Légúti fertőzést okozó egyes patogén baktériumok (*Bordetella pertussis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*) kimutathatók a betegek nasopharyngealis váladékából. Az orr-garat nyálkahártyát kolonizálhatják patogén baktériumok, anélkül, hogy tüneteket hoznának létre. Az egészséges hordozók szűrése megvalósítható az orr-garadváladék bakteriológiai vizsgálatával. A következő baktériumok kitenyésztése lehetséges: *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Bordetella pertussis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Haemophilus influenzae* (b).

### **A sinusitis kiváltásában szereplő baktériumok**

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Haemophilus influenzae* (főként nem b szero-csoport)
- *Streptococcus pyogenes*
- *Staphylococcus aureus*
- *Moraxella catarrhalis*

Az idült melléküreg-gyulladásokban az aerob baktériumok mellett nem spórás anaerobok is előfordulnak.

## **1.2. Alsó légúti fertőzések**

Az alsó légúti fertőzések változatos kórképek formájában jelentkezhetnek: tracheo-bronchitis, bronchiolitis, pneumonia (közösségi, nosocomialis, aspirációs, immunhiányos egyének fertőzései). A kórokozók előfordulási gyakorisága az egyes fertőzésekben eltérő.

A bakteriális eredetű alsó légúti fertőzések laboratóriumi kórjelzésében felhasznált anyagok: a köpet, endotrachealis aspirátumok, bronchoscopos minták. A

pneumoniák laboratóriumi kórjelzése során bizonyos esetekben hemokultúra is végzendő.

## **Köpet**

A köpetet lehetőleg reggel, fogmosás és csapvízzel való szájbörlítés után, mélyről felköhögve, steril, széles szájú, jól záródó edénybe kell üríteni és a legrövidebb időn belül a laboratóriumba juttatni. A minta szobahőmérsékleten legfeljebb 2 órán, 4°C-on is csak néhány órán át tartható. A hűtőszekrényben való tárolás a kontaminánsok elszaporodását gátolja, lehetővé teszi egyes patogének túlélését viszont mások (pl. *Haemophilus influenzae*) elpusztulnak. Transzport táptalajt általában nem használnak, mert a mikroszkópos értékelésnél fontos az egyes sejtes elemek száma és egymáshoz viszonyított aránya. Akut fertőzés esetén a nyák és genny tartalmú köpetből 1-2 ml-re van szükség a laboratóriumi feldolgozáshoz. Általában elegendő 48 órán belül 1-2 jó minőségű mintát beküldeni. A köpet laboratóriumba érkezése után mikroszkópos minőségellenőrzésre van szükség, annak eldöntésére, hogy milyen mennyiségben vannak jelen kontamináló baktériumok, illetve, hogy tényleg az alsó légutakból származik-e a vizsgálati anyag. Többféle kiértékelési módszer létezik, általánosan elfogadott, hogy a Gram szerint festett kenetet kis nagyítással vizsgálva (100x), az epitheliális sejtek száma látóterenként 25 alatt kell legyen. Egyes protokollok szerint a fehérvérsejtek száma is döntő (10 illetve 25 felett látóterenként). Abban az esetben, ha a minta a fent említett követelményeknek nem tesz eleget, akkor nem kerül feldolgozásra. Ha a mikroszkópos vizsgálat során főként sarjadzó gombák láthatók, baktériumok pedig kisebb számban vannak jelen, az eredmény jelentendő a klinikusnak, tenyésztés általában kérésre történik. Vegyes baktériumflórához társuló néhány gombasejt jelenlétét nem kell külön közölni, ilyenkor a felső légutak normál flóráját képviselő mikroorganizmusok kerültek a mintába. A köpetben levő baktériumok tenyésztéshez használt táptalajok: véres agar, csokoládé-agar (*Haemophilus influenzae* számára), MacConkey agar (enterobaktériumok számára), inkubálás CO<sub>2</sub> atmoszfában, 35°C-n, 24-48 óráig. Különleges esetekben, speciális igényel rendelkező mikroorganizmusok tenyésztésére (*Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa* cysticus fibrosisban szenvedő betegeknél, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Nocardia asteroides*, gombák) más táptalajokra is történhet leoltás. A tenyészetek leolvasását, kiértékelését 24 illetve 48 óra után végzik. Azonosítani kell a nagy mennyiségben

növekvő baktériumokat (vagy gombákat), amelyek valószínűleg a légúti fertőzéses kórkép kiváltásában szerepet játszanak – *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, Enterobacteriaceae (Gram-negatív bacillusok), C és G csoportú Streptococcusok, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Nocardia asteroides*. Olyan baktériumok azonosításakor, amelyeknél az antibiotikum érzékenység előre nem megjósolható, kötelező az antibiogram elvégzése.

Ha a köpet feldolgozása során nem jutunk bakteriológiai diagnózishoz, vagy a beteg képtelen köpetet üríteni, sor kerülhet más légúti minták vételére is.

### **Endotrachealis aspirátumok**

A mintavétel történhet szívókatéterrel orron, szájon, vagy a tracheostomiás nyíláson keresztül. A fecskendővel aspirálható váladékot steril tartályban kell beküldeni. A minta néhány óráig 4- 8°C-on tárolható.

### **Bronchoscopos minták**

Szegmentális bronchusokból származó mosófolyadék, védett bronchoalveolaris lavage, védett kefe eljárás során nyerhető minták vétele szakember feladata. A vizsgálati anyagot nem szabad tárolni, hűtés nélkül azonnal a laboratóriumba kell küldeni!

### **Pneumonia kiváltásában szereplő baktériumok.**

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Staphylococcus aureus*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Enterobacteriaceae*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Chlamydophila pneumoniae*
- *Chlamydia psittaci*
- *Legionella pneumophila*

### 1.3. A széklet bakteriológiai vizsgálata tápcsatornai fertőzések esetén

Enterális fertőzések kialakulhatnak baktériumok, vírusok és protozoonok hatására. A széklet rutin feldolgozása során a betegségeket gyakrabban kiváltó baktériumok tenyésztésére és azonosítására kerül sor. Különleges esetekben, jól felszerelt laboratóriumokban a hasmenést okozó vírusok és protozoonok kimutatása is elvégezhető.

Egyes enterális patogén baktériumok a fejlett országokban is gyakran okoznak fertőzéseket, a fejlődő országokban pedig nemcsak a morbiditás, hanem a mortalitás szempontjából is jelentős kórokozók. Az enteritis legjellemzőbb tünete a hasmenés, így a vizsgálati anyag a széklet. Az enterális patogének izolálása és azonosítása nem minden esetben könnyű feladat. A patogén baktériumok mellett a székletben jóval nagyobb számban vannak jelen a normál flóra képviselői (pl. az aerob, fakultatív anaerobok közül az *Escherichia coli*). Az enterális patogének hasonló tulajdonságokkal rendelkeznek, egymástól való elkülönítésük esetenként még a biokémiai tulajdonságok és az antigén szerkezet alapján is nehézségekbe ütközik (enteroinvazív *E. coli* és *Shigella* spp.).

Az enterális kórképek gyakran járványos formában, halmozottan fordulnak elő. Ilyen esetekben a laboratóriumi kórjelzés nemcsak a klinikai diagnózist erősíti meg, hanem járványtani szempontból is fontos.

A spontán ürített székletből 2-3 g mennyiséget küldünk a laboratóriumba, speciális steril széklettartályokban. A székletből a patológiás elváltozásokat mutató részeket (vér, genny, nyák) kell kiválasztani. Speciális körülmények között a rectumból tamponnal történik a mintavétel (*Neisseria gonorrhoeae* vagy *Chlamydia trachomatis*) kimutatása céljából. Ha a mintavétel és a leoltás között 2 óránál hosszabb idő telik el, akkor célszerű transzport tápközeg használata. Folyékony tápközégek: glicerin-EDTA (enterobaktériumok), alkalikus peptonvíz (*Vibrio* spp.), Na-tioglikolátos húsleves (*Vibrio* spp., *Campylobacter* spp.). Félfolyékony tápközégek: Cary-Blair (enterobaktériumok, *Vibrio* spp.), Stuart (enterobaktériumok, *Vibrio* spp., *Campylobacter* spp.), Amies (enterobaktériumok, gonococcus). Leggyakrabban a Cary-Blair tápközéget használják. A mintát a transzport-táptalajban 24 órán át lehet hűtőszekrényben tárolni.

Általában nem végeznek direkt mikroszkópos vizsgálatot, mert a normál flóra alkotásában résztvevő enterobaktériumok alakilag és festődési sajátosságait

tekintve nem különböznek az enterális patogénektől. Egyes esetekben natív készítmény mikroszkópos vizsgálatára kerül sor, amelyben vörösvértestek, fehérvérsejtek vagy jellegzetes alakú és mozgású spirális formák (*Campylobacter* spp.) figyelhetők meg.

A tenyésztéshez a feltételezett kórokozó szerint különböző táptalajok használhatók. Patogén baktériumok tenyésztését megkönnyíti a dúsító táptalajokra való leoltás (pl. *Salmonella* spp. számára: szelenit tartalmú húsleves, Müller-Kauffmann vagy brillantzöld táptalaj)

Az enterális patogén baktériumok tenyésztésére alkalmas többféle szelektív valamint szelektív és differenciáló táptalaj:

- MacConkey agar – epesókat, laktózt tartalmaz
- Levine (EMB) – összetételében eozin és metilénkék szerepel, anionos detergens tartalma miatt a Gram-pozitív baktériumok növekedését gátolja, a laktózbontó baktériumok által képzett telepek különböző árnyalatú lila színűek lesznek, a laktóz-negatívak telepei színtelenek.
- Leifson (ADCL) – dezoxikolát és citrát, mint szelektáló tényező, laktóz, neutrálvörös indikátor
- MacConkey sorbitol agar – *E. coli* O157H7 tenyésztésére (sorbitol negatív)
- Campy agar – szelektáló tényezőként antibiotikumokat tartalmaz (vancomycin, rifampicin, cefalotin, trimethoprim, colistin)
- Skirrow táptalaj – antibakteriális szereket tartalmaz (vancomycin, trimethoprim, polimixin)
- CIN agar (Cefsulodin, Irgasan, Novobiocin) *Yersinia enterocolitica* szelektív tenyésztésére
- TCBS – *Vibrio* spp.

A leoltott táptalajok inkubálása általában 35-37°C-n történik, 18-24 órán át aerob körülmények között. Esetenként rövidebb vagy hosszabb ideig is tarthat a tenyésztés. A *Vibrio* alkalikus peptonvízben való tenyésztésekor a felszíni lepedék már 6 óra alatt kialakul. A *Campylobacter* tenyésztése legalább 48 órát vesz igénybe és speciális körülmények között valósítható meg: 42°C-n, mikroaerofil környezetben. Az anaerobok tenyésztése is néhány napig tart.

A tenyésztést követi a biokémiai tulajdonságok és antigénszerkezet alapján történő azonosítás.

## Laktóz-pozitív és negatív telepek, vegyes tenyészetben

- a laktóz-negatívakból ureáz teszt
- ureáz-pozitív – *Proteus* spp.
- ureáz-negatív – további biokémiai azonosítás végzendő (*Salmonella*, *Shigella* fajok elkülönítése)

## Laktóz-pozitív telepek színtenyészetben

- azonosítás (biokémia, antigén szerkezet)

Mint bármely fertőzés kimenetelében, az enterális kórképeknél is fontos szerepet játszanak a gazdaszervezeti tényezők. Hajlamosító tényezők megléte esetén, immunitás csökkenésekor az opportunistá patogének is súlyos betegséget okozhatnak. Ezért laboratóriumi kórjelzés során a tenyésztési eredmények értékelése a klinikai státustól függően történik.

A szokványos széklettenyésztés alkalmával a legtöbb laboratóriumban *Salmonella* spp., *Shigella* spp., és enteropatogén *Escherichia coli* törzseket azonosítanak. Az említett kórokozók mellett azonban fontos lenne a *Campylobacter* és *Yersinia* fajok izolálása is, valamint a *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens* és az általuk termelt toxinok kimutatása. A referencia laboratóriumok feladatkörébe tartozik a *Vibrio* fajok azonosítása.

### 1-1. táblázat: Bakteriális hasmenések etiológiai tényezői

Aerob, fakultatív anaerob	Patogén enterobaktériumok	<i>E. coli</i>  EPEC EIEC ETEC EHEC EAEC  <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Yersinia enterocolitica</i>
	Opportunistá patogén	<i>Klebsiella</i> spp. <i>Proteus</i> spp. <i>Providencia</i> spp. <i>Citrobacter</i> spp.

Aerob	Vibrio genus	<i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i>
	Más, Gram-negatív bacillusok	Aeromonas spp. Alcaligenes spp. Plesiomonas spp. Pseudomonas spp.
Mikroaerofil	Campylobacter genus	<i>Campylobacter jejuni</i> <i>Campylobacter coli</i>
Anaerob	Clostridium genus	<i>Clostridium difficile</i> <i>Clostridium perfringens</i>

### Ételmérgezők kórokozói

- Salmonella spp.
- *Staphylococcus aureus*
- *Clostridium botulinum*
- Campylobacter spp.
- *E. coli* (toxintermelő)
- *Yersinia enterocolitica*
- *Bacillus cereus*
- *Clostridium perfringens*
- *Vibrio parahaemolyticus*

### 1.4. Húgyúti fertőzések

A vizelet fiziológiás körülmények között steril. A húgyúti fertőzés során a vizeletben kórokozók jelennek meg. A baktériumok tenyésztése, azonosítása, a csíraszám meghatározása a következő kórképek esetén szükséges: cystitis, pyelonephritis, tünetmentes bacteriuria, urosepsis, prostatitis. A húgyúti fertőzések gyakorisága életkortól, nemtől és hajlamosító tényezőktől függően változó.

A fertőzés túlnyomórészt ascendáló jellegű, az urethrán keresztül bejutó baktériumok okozzák, ritkábban hematogén szóródás eredménye. A fertőzés kialakulhat hólyagkatéterezés következtében is (iatrogén fertőzés), ugyanis a húgycső elülső szakaszában található baktériumflóra, amelynek összetétele a gáttájék normál flórájára emlékeztet.

A fertőzés kialakulása és kimenetele gazdaszervezeti tényezőktől és a kórokozó virulenciájától függ.

Gazdaszervezeti hajlamosító tényezők: anatómiai okok (veleszületett vagy szerzett rendellenességek, amelyek vizelet pangáshoz vezetnek, az urethra rövidege miatt nőknél gyakrabban alakulnak ki húgyúti fertőzések), immunológiai tényezők, orvosi beavatkozás (hólyagkatéterezés).

Ahhoz, hogy a klinikailag releváns kórokozó kerüljön kimutatásra és helyes diagnózist állíthassunk fel, elengedhetetlen a mintavétel szabályainak szigorú betartása. A vizsgálatok elvégzéséhez 5-10 ml vizeletre van szükség. Kontamináció gyanúja vagy tünetmentes bakteriuria esetén célszerű a minta vételét több alkalommal megismételni.

A feldolgozandó minta általában spontán ürített közepsugár vizelet, amelyet reggel, megfelelő mosakodást követően kell begyűjteni steril edénybe.

A kontamináció elkerülése érdekében a nőknél szükséges a szeméremtájék gondos, ismételt lemosása a húgycsőnyílás környékétől a hüvelybemenet felé, szappannal és vízzel, majd felforralt és lehűtött vízzel való öblítés. Nem ajánlott antiszeptikumok alkalmazása, mivel az antibakteriális hatású anyag a vizeletbe juthat, s gátolhatja a mikrobák növekedését. A nagy- és kisajkakat szét kell tární, enyhén a symphysis felé húzni, és a vizelet ürülése alatt így tartani. A férfiaknál szintén szükség van a megfelelő, alapos tisztálkodásra, a fitymát hátrahúzva a húgycsőnyílást, és környékét le kell mosni, és a fitymát a vizelet ürítése alatt hátrahúzva kell tartani. A közepsugár vizelet vételekor a kezdetben ürülő vizeletet nem gyűjtjük be, a közepsugárból 5-10 ml-t kell a steril edénybe felfogni, vigyázva arra, hogy az edény szájadéka és a dugója ne kontaminálódjon, ne érjen semmihez hozzá.

A mintavétel kateterizált betegeknél a hólyagkatéteren keresztül is (nem a gyűjtő zsákból) történhet.

Hólyagkatéterezés előtt a húgycsőnyílást, s környékét alaposan le kell mosni, s a katétert az aszepszis szabályainak betartásával kell bevezetni. Ügyelni kell arra, hogy a hólyagban elegendő vizelet legyen. A katéteren át ürülő vizelet első részét ki kell önteni, a középső vagy később ürülő vizeletet kell felfogni a mintavételre szolgáló steril edénybe.

Uréter katéterezés előtt a hólyagot át kell mosni, nehogy a katéterrel kórokozókat juttassunk a vesemedencébe. Minden esetben pontosan jelezni kell, hogy melyik oldali vesemedencéből származik a vizelet.

Állandó katéterrel rendelkező beteg esetében a mintavétel soha ne történjen a gyűjtőzsákból. A katéter falát a levezetőcsővel való csatlakozása felett, fertőtlenítés után steril fecskendőre erősített tűvel átszűrve nyerünk vizeletet, amelyet a laboratóriumba küldésre szolgáló steril edénybe ürítünk. Foley-katéter vég nem alkalmas bakteriológiai vizsgálatra.

Indokolt esetben a húgyúti fertőzés diagnosztizálása céljából suprapubicus hólyagpunctio során is nyerhető vizelet. A módszert elsősorban kisgyermekeknél alkalmazzák. A punkció helyén a bőrfelszínt gondosan dezinficiálni kell. A punkcióval nyert vizeletet steril edénybe ürítve tároljuk és szállítjuk. Az így nyert vizelet alkalmas lehet anaerob feldolgozásra is.

Ha vese tuberculosisra gyanakszunk három egymás utáni napon, a teljes reggeli vizeletmennyiség kerül vizsgálatra. Hasonlóképpen történik a minta gyűjtése az atípusos mycobacteriumok kimutatása céljából is.

A *Chlamydia trachomatis* vizeletből történő kimutatása az első vizeletsugárból lehetséges ELISA módszerrel vagy nukleinsav amplifikáción alapuló molekuláris biológiai módszerekkel.

Urogenitális mycoplasmák kimutatása céljából szintén az első vizeletsugárból kíséreljük meg a kórokozó kimutatását.

A vizeletminta laboratóriumba szállítása és feldolgozása egy órán belül kell megtörténjen. Ellenkező esetben a vizelet 4°C-n tárolható (maximum 24 óráig), vagy megfelelő transzport tápközeg alkalmazására van szükség. Ez biztosítja, hogy a kórokozók ne szaporodjanak el a tárolás során, és lehetséges az eredeti csíraszám meghatározása. Ismételt vizeletvétel indokolt, ha a mintát egy óránál több ideig hűtés nélkül tárolták. 24 órán túl tárolt minta tenyésztésre nem alkalmas még megfelelő hűtés esetén sem.

A vizsgálati anyaghoz mellékelt kísérőlap gondos kitöltésére van szükség az eredmények helyes értékelése céljából. A beteg adatain kívül fel kell tüntetni a következőket: klinikai diagnózis, a mintavétel módja (középsugár, punkció útján, katéteren keresztül vett vizelet), a mintavétel időpontja, antibiotikumok illetve diuretikumok alkalmazása, különleges kórokozók feltételezett jelenléte, amikor nem a rutin tenyésztési eljárásokat használják (*Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Leptospira interrogans*, *Salmonella typhi*).

A minta centrifugálása során nyert üledékből készített kenet direkt mikroszkópos vizsgálata hasznos információkat szolgáltat. Megfigyelhető a mikroorganizmusok (baktériumok vagy sarjadzó gombák), fehérvérsejtek, vörösvértestek, epitheliális sejtek, cilinderek, bizonyos kristályok jelenléte illetve hiánya.

A csíraszám meghatározására többféle módszer alkalmazható. Megfelelő hígítás után ismert térfogatú vizelet kerül leoltásra. A telepképző egyégek száma (CFU – Colony Forming Units) a következő képlet alapján számítható ki:  $X = N \times D \times 1/v$ , ahol X a telepképző egységeket, N a telepek számát, D hígítást, v a leoltott vizelet térfogatát jelenti. A leoltást kalibrált kaccsal (10 vagy 100 $\mu$ l) is lehet végezni. A CFU meghatározásánál a telepek számát a használt kacs méretétől függően 100-al vagy 10-el szorozzuk be.

Az eredmények értékelésekor 10<sup>5</sup> UFC/ml csíraszám szignifikáns bakteriuriát illetve húgyúti fertőzést jelent. Kisebb csíraszám esetén (10<sup>5</sup>-10<sup>3</sup>) figyelembe kell venni bizonyos tényezőket (antibiotikum kezelés, diuretikumok adagolása, terhes nők, immunhiányos állapot, mintavétel módja) és ezek függvényében felállítani a laboratóriumi diagnózist. A vizsgálatot indokolt esetben meg kell ismételni. Ha két vagy több különböző teleptípus alkotja a tenyészetet, valószínűleg kontaminációról van szó.

A húgyúti fertőzések szokványos kórokozóinak izolálásakor a leoltásokat véres agarra valamint enyhe szelektivitású, Gram-negatív baktériumok tenyésztésére szolgáló táptalajra (MacConkey, Leifson) végezzük. Chromogén táptalajok használata megkönnyíti a kiértékelést.

Az inkubálás 37°C-n, 18-24 órán át történik, aerob körülmények között.

Az azonosítás a tenyésztési, alaktani, festődési valamint biokémiai tulajdonságok alapján valószínűsíthető meg. Az antibiogram elvégzése kötelező.

Ha speciális kórokozók jelenléte gyanítható, akkor ezek tenyésztési igényeinek figyelembevételével a megfelelő táptalajokra történik a leoltás.

### **Húgyúti fertőzések kórokozói**

- *Escherichia coli*
- *Klebsiella* spp.
- *Proteus* spp.
- Más enterobaktériumok
- *Staphylococcus aureus*

- *Staphylococcus saprophyticus*
- Streptococcusok
- Enterococcus spp.
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Chlamydia trachomatis*
- Mycoplasma spp.
- *Ureaplasma urealyticum*

Ezen baktériumok előfordulási gyakorisága különböző a szövődménymentes, területen szerzett alsó és felső húgyúti fertőzések, valamint a szövődményekkel társuló, kórházban szerzett fertőzések és hajlamosító tényezők jelenléte esetén.

A vizelet tenyésztési eredményeit több tényező befolyásolja.

Ha a minta feldolgozása késik, illetve a tárolás nem megfelelő körülmények között történik, akkor a vizeletben kis számban jelenlevő kontamináló baktériumok elszaporodhatnak és ez téves bakteriológiai diagnózishoz vezethet. A helytelen mintavétel során a vizeletbe nagy számban baktériumok kerülhetnek, ennek következtében a tenyésztéskor több fajhoz tartozó, vegyes baktériumflóra izolálható. A húgyúti fertőzések többségénél egyetlen baktériumfaj szerepel etiológiai tényezőként. Két típusú kórokozó egyidejű izolálásakor általában meg kell ismételni a vizsgálatot. Három vagy több baktériumfaj jelenléte kontaminációra utal.

A mintavétel általában az antibiotikumok adagolása előtt vagy terápiás kudarc esetén történik. Az antibiotikumok jelenléte a vizeletben gátolhatja a kórokozók növekedését, ezért a kísérőlapon kötelező módon fel kell tüntetni, ha a beteg antibiotikum kezelésben részesül.

Diuretikumok adagolása után a felhígult vizeletben a kórokozók kisebb számban vannak jelen, az eredmények értékelése ennek ismeretében történik.

## **1.5. Genitális fertőzések**

A genitális fertőzések esetén a helyes laboratóriumi diagnózis felállításához fontos a mintavételi szabályok betartása valamint a vizsgálati anyag szállítása, a keresett kórokozótól, a klinikai minta típusától és az alkalmazandó módszertől (Gram, illetve Giemsa módszerrel festett kenetek mikroszkópos vizsgálata, tenyésztés, antigén illetve nukleinsav szekvenciák kimutatása) függően.

A női genitális traktus fertőzéseinek kórjelzésekor a laboratóriumba küldendő anyagok különbözőek.

Colpitis esetén a mintát a hátsó hüvelyboltozatból kell venni és transzport táptalajba helyezni. A kóros anyag direkt mikroszkópos vizsgálata céljából 2 kenetre is szükség van. Ezeket fixálatlanul, száradás után papírba csomagolva kell a laboratóriumba küldeni.

Cervicitis laboratóriumi kórjelzésekor a cervicalis nyák eltávolítását követően a nyakcsatornában megforgatott mintavevővel vett anyag kerül feldolgozásra (tenyésztés, kenetek). A cervicalis mintavétel során fontos a hüvelyi flórával történő kontamináció elkerülése.

Gyermeknőgyógyászati kórképek esetén a vulváról steril tamponnal letörölt váladék, vagy műanyag katéter segítségével steril fiziológiás sóoldattal történő öblítéssel vett mosofolyadék kerül feldolgozásra (kenetek és tenyésztés).

Endometritis kórjelzésére az aspirátumot fecskendőben vagy anaerob transzport közegben kell a laboratóriumba továbbítani, hogy anaerob tenyésztésre is lehetőség nyíljon. A tamponra vett minta csak aerob feldolgozásra alkalmas. Kismencedei gyulladáshoz kórképek esetén a műtéti minták illetve a Douglas- és adnexumpunktátumok dolgozhatók fel. Intrauterin fogamzásgátló eszközhöz (IUD) társuló *Actinomyces* vagy vegyes anaerob flórával való fertőzés gyanúja esetén az endometrialis vagy egyéb aspirátumot anaerob tenyésztésre alkalmas módon, ezen kívül pedig az eltávolított IUD-t anaerob transzport közegbe helyezve kell a laboratóriumba küldeni.

A klinikus kérésére speciális vizsgálatok is elvégezhetők. Így lehetséges például a *Listeria monocytogenes* kimutatása, az erre a célra levett mintákat azonban hűtőszekrényben lehet tárolni.

Abban az esetben ha a mintavétel terhességi szűrővizsgálat során történik, ezt a mellékelt küldőlapon jelezni kell, mert a szokványos, genitális fertőzést létrehozó kórokozókön kívül fontos a magzatra potenciálisan veszélyes, kolonizáló baktériumok (*Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* K1, *Listeria monocytogenes*) kimutatása is.

A férfi genitális traktus fertőzéseinek laboratóriumi kórjelzésekor szintén a fertőzés lokalizációjától függően történik a mintavétel.

Urethritis esetén tenyésztés céljára speciális, steril tamponnal vesszük a mintát és transzport közegbe helyezzük, emellett a vizsgálati anyagból két kenetet is készítünk. Prostatitis laboratóriumi kórjelzése során a prostata masszázsa után az urethrából vett váladékot vagy steril mintavevő edénybe gyűjtött ejakulátumot dolgozzák fel. Orchitis,

epididimitis esetén a feldolgozandó anyagok lehetnek punktátumok vagy műtéti minták, fecskendőben vagy transzport közegben.

A gonococcus tenyésztésére szánt mintákat rögtön a mintavétel után tanácsos előmelegített speciális táptalajra oltani és CO<sub>2</sub> atmoszférában 35-37°C-on inkubálni. Pufferolt, nem specifikus transzport táptalaj használata esetén (Stuart, Amies) 6-12 órán túl nagymértékben csökken a tenyésztés eredményessége.

*Mycobacterium tuberculosis* és atípusos mycobacteriumok által okozott fertőzések laboratóriumi kórjelzése céljából menstruációs vért, intermenstrumban 24 órára felhelyezett méhszáj kupakban felfogott nyálkát, vagy méhkaparékot vizsgálunk. A mintavétel többször történik, néhány napos időközönként.

Az urogenitális mycoplasmák normális körülmények között is előfordulnak az genitális traktus nyálkahártyáján, kórokozó szerepük csak bizonyos csíraszám fölött egyértelmű, ezért a mintavétel után a vizsgálati anyagot 3-4 órán belül fel kell dolgozni. Megfelelő minőségű transzport táptalajban a minták 2-8°C-on 48 óráig alkalmasak feldolgozásra. Fontos, hogy a vizsgálati anyag sok hámsejtet tartalmazzon, mert ezekhez tapadnak a baktériumok.

*Chlamydia trachomatis* kimutatására a mintát leggyakrabban cervixből, vagy urethrából kell venni, az alkalmazandó módszertől függően speciális eszközzel. A beteg a mintavétel előtt legalább 1-2 óráig ne ürítsen vizeletet. Az exocervixből vagy az urethrából ürülő nyákot el kell távolítani, majd a forgalmazott speciális mintavevő eszközt vezessük be az endocervicalis csatornába 1-2 cm vagy az urethrába 2-4 cm mélyen, forgassuk 5-10 másodpercig (hogy elegendő hámsejtet sodorjunk le), majd óvatosan a környéki területek érintése nélkül húzzuk ki a mintavevőt és helyezzük a választott módszernek megfelelő transzport csőbe. Kerülendő a nagyon véres, gennyes vizsgálati anyagok vétele és feldolgozása. A mintákat mindig az adott módszerhez mellékelt előírásnak megfelelően tároljuk és szállítjuk.

A bakteriális vaginózis laboratóriumi kórjelzése gyakran csak a kenet vizsgálatán alapul. Jellemzőek a Gram-negatív cocco-bacillusokkal fedett hámsejtek, ami a *Gardnerella vaginalis* jelenlétére utal. Célszerű a kenet vizsgálatát tenyésztéssel is kiegészíteni.

A *Treponema pallidum* kimutatása az elsődleges fekélyből vett váladékból lehetséges, a natív készítmény direkt mikroszkópos vizsgálata során. Megfigyelhető a kórokozó jellegzetes alakja és mozgása.

## Szexuális kontaktussal terjedő baktériumok

- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Chlamydia trachomatis*
- *Mycoplasma* spp.
- *Ureaplasma urealyticum*
- *Gardnerella vaginalis*
- *Treponema pallidum*
- *Haemophilus ducreyi*

### 1.6. A genny bakteriológiai vizsgálata

A bakteriológia vizsgálatok közül a genny vizsgálata egyike a legbonyolultabb és legmunkaigényesebb eljárásoknak.

Genny kialakulásához számos kórokozó jelenléte vezethet. Ezek rendszertanilag eltérő fajok képviselői, változatos festődési, alaktani, tenyésztési tulajdonságokkal rendelkeznek. A tenyésztéshez többféle táptalajra van szükség, a tápanyag- és növekedési faktor igényeknek megfelelően. Az inkubálási körülmények is különbözőek az aerob, mikroaerofil és anaerob baktériumok számára. A bakteriológiai diagnózist nehezíti az a tény, hogy a genny kontaminált lehet a normál flóra képviselőivel. Más esetekben a gennyedés eredete polimikrobiális.

A mintavétel történhet steril tamponnal vagy fecskendővel. Ha anaerob baktériumok jelentése valószínű, akkor célszerű a vizsgálati anyagot a laboratóriumba küldeni, úgy, hogy a tű eltávolítása után a fecskendő kónuszát felolvasztott steril paraffinal zárjuk.

A direkt vizsgálat során megfigyeljük a genny állagát, színét. Egyes esetekben a genny jellegzetes küllemű: *Pseudomonas* jelenlétére utal a zöldes szín és édes, hársfavirág illat, *actinomyces*ra gondolunk, ha a gennyben szabad szemmel sárgás szemcsék láthatók.

A gennyből minden esetben kötelező kenetet készíteni és Gram szerint festeni. Ha tuberculosis gyanúja merül fel, akkor egy kenetet Ziehl-Neelsen szerint is kell festeni. A kenet gondos mikroszkópos vizsgálata fontos információkat szolgáltat a kórokozót illetően: egy vagy többféle baktériumot tartalmaz, Gram-pozitív vagy negatív, coccus vagy bacillus. Egy baktérium jelenléte a keneten  $10^5$  CFU/g-nak felel meg. A

tenyésztéshez szükséges táptalajokat, inkubálási körülményeket a kenet mikroszkópos vizsgálatának eredményei alapján választhatjuk meg.

### Tenyésztéshez leoltandó táptalajok

- Véres agar és enterobaktériumok számára használt táptalaj (Leifson, MacConkey agar) – staphylococcusok, streptococcusok, enterococcusok, enterobaktériumok növekednek
- Csokoládé-agar – gonococcusok az ízületi folyadékból
- Schaedler (folyékony és szilárd) – anaerobok számára

Speciális esetekben más táptalajokra is elvégezhető a leoltás.

### 1-2. táblázat: Gennyből izolálható baktériumok

Genny eredete	Izolálható baktériumok
A bőr és lágyrészek fertőzései	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> Enterobaktériumok Anaerobok Mycobacteriumok Actinomyces spp. <i>Corynebacterium diphtheriae</i>
Égési sérülések felülfertőződése	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> Gram – negatív bacillusok
Ízületek fertőzései	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>

Genny eredete	Izolálható baktériumok
	<i>Streptococcus agalactiae</i>
	<i>Neisseria meningitidis</i>
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
	<i>Haemophilus influenzae</i>
	Gram – negatív bacillusok
Csontvelőgyulladás	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Streptococcus pyogenes</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
	<i>Streptococcus agalactiae</i>
	Gram – negatív bacillusok
	Gram – negatív anaerobok
	Salmonella spp.

## 1.7. A liquor bakteriológiai vizsgálata

A meningitis kiváltásában számos kórokozó szerepel: baktériumok, vírusok, gombák és protozoonok.

A bakteriális meningitis laboratóriumi diagnózisa a liquor feldolgozása során állítható fel. A mintát gerinccsapolással nyerik, az aszepszis szabályainak a legszigorúbb betartása mellett. Ezzel lehet kizárni egyrészt a minta felülfertőzését, másrészt a páciens nosocomiális fertőzését. Normális körülmények között is előfordul, hogy a szúr csapolás során a liquor vérrel vegyül, de ilyenkor az alakos elemek meghatározott arányban vannak jelen (Fishman képlet).

A bakteriológiai vizsgálatokhoz szükséges minta mennyisége 4-5 ml. Kiegészítésképpen meghatározzák a jelenlevő fehérvérsejtek számát és típusát, valamint biokémiai jellemzőket (glukóz-, fehérje mennyiség).

A mintát azonnal a laboratóriumba kell küldeni (lehetőleg 37°C-n szállítva) és a legrövidebb időn belül fel kell dolgozni. Tilos a hűtőszekrényben való tárolás. A tenyésztés eredményessége növelhető, ha a mintavételkor egy kis mennyiségű liquort közvetlenül a 37°C-ra előmelegített táptalajra csepegtetnek.

A direkt mikroszkópos vizsgálathoz centrifugálás után nyert üledékből készíthetők a kenetek, amelyek különböző eljárásokkal festhetők (Gram, Ziehl-Neelsen, metilénkék). A látottak alapján (fehérvérsejtek jelenléte/hiánya, Gram-pozitív vagy Gram-negatív kórokozók jelenléte/hiánya) elkezdhető az empirikus kezelés. Ha a kenetben nagyszámú baktérium látható, indokolt a direkt rezisztencia-vizsgálat elvégzése, korongdiffúziós módszerrel. Így az antibiogram eredménye egy nappal hamarabb kiadható.

A gyors diagnózis céljából latex-agglutináción alapuló teszteket fejlesztettek ki, amelyek segítségével közvetlenül az agy-gerincvelői folyadékból kimutathatók bizonyos bakteriális antigének, abban az esetben is, ha az esetleg elkezdett antibiotikum kezelés miatt a tenyésztési eredmények negatívak. A kit a meningitisek kiváltásában gyakrabban szereplő baktériumok (*Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae* b), elleni ellenanyagokkal bevont latex-szuszpenziókat tartalmaz. Az agglutináció a liquorban jelenlevő bakteriális antigének típusa szerint a megfelelő ellenanyaggal bevont latex-szemcséket tartalmazó szuszpenzióban fog bekövetkezni. A reakció leolvasását megkönnyíti az, hogy a latex szemcsék különböző színűek.

A leoltást több táptalajra végezzük, a mikroszkópos vizsgálat eredményének figyelembe vételével. A baktériumok tenyésztésére használt táptalajok: véres agar, csokoládé-agar (aerob és CO<sub>2</sub> atmoszférában), Levin-táptalaj vagy MacConkey-agar, tioglikolátot és vért tartalmazó húsleves (dúsításra). Trauma vagy agytályog esetén indokolt az anaerob körülmények közötti inkubálás is. Az aerob illetve a CO<sub>2</sub> atmoszférában inkubált táptalajokat 24 óra múlva kell leolvasni, ha nem alakult ki tenyészet, további 24 órán át kell a termosztátban hagyni a leoltott táptalajokat. Az anaerob baktériumok tenyésztési ideje ennél is hosszabb.

Az izolálást a kitenyésztett kórokozó megfelelő módszerekkel történő azonosítása követi. Az azonosítás része a baktérium antibiotikumokkal szembeni érzékenységének és rezisztenciájának a vizsgálata is, esetenként nemcsak korongdiffúziós módszerrel, hanem a minimális gátló koncentráció meghatározásával, az érvényes előírásoknak megfelelően (CLSI).

Fontos a klinikus és a laboratórium személyzete közötti kapcsolattartás. Súlyos kórképről lévén szó, a laboratóriumi vizsgálat egyes szakaszaiban indokolt a részeredmények közlése a klinikussal: kenet vizsgálata során levonható

következtetések, gyorsdiagnosztikai tesztek, tenyésztés, azonosítás, direkt rezisztencia vizsgálat valamint a tenyészetből készített antibiogram eredményei.

### 1-3. táblázat: Bakteriális meningitis kóroki tényezői

Életkor /kockázati tényező	Baktérium
0-4 hetes kor	<i>S. agalactiae</i> <i>E. coli K1</i> <i>S. aureus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>L. monocytogenes</i>
4-12 hetes kor	<i>S. agalactiae</i> <i>E. coli</i> <i>H. influenzae b</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>N. meningitidis</i>
3 hónap - 18 év	<i>N. meningitidis</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>H. influenzae</i>
18-50 év	<i>S. pneumoniae</i> <i>N. meningitidis</i> <i>H. influenzae</i>
50 év felett	<i>S. pneumoniae</i> <i>N. meningitidis</i> <i>L. monocytogenes</i> Gram-negatív aerob bacillusok
Immundeficiencia	<i>S. pneumoniae</i> <i>N. meningitidis</i> <i>L. monocytogenes</i> Gram-negatív aerob bacillusok
Intracranialis beavatkozások	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>KNS</i>

Életkor /kockázati tényező	Baktérium
	Gram-negatív aerob bacillusok, köztük <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Koponyaalapi törés	<i>S. pneumoniae</i> <i>H. influenzae</i> A csoportú streptococcusok
Liquor-shunt	<i>KNS</i> <i>S. aureus</i> Gram-negatív aerob bacillusok <i>Propionibacterium acnes</i>

### Asepticus meningitis (negatív tenyésztési eredmények) okai

- részlegesen kezelt bakteriális meningitis
- *L. monocytogenes*
- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Treponema pallidum*
- *B. burgdorferi*
- *Leptospira spp.*
- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Brucella spp.*
- *Rickettsia rickettsii*
- *Ehrlichia spp.*
- *Nocardia spp.*

### Krónikus meningitis kóroki tényezői

- *M. tuberculosis*
- *B. burgdorferi*
- *T. pallidum*
- *Brucella spp*

- *Francisella tularensis*
- *Nocardia* spp.
- *Actinomyces* spp.

## **1.8. A vér bakteriológiai vizsgálata – hemokultúra**

A vér bakteriológiai vizsgálatának célja a vérben jelenlevő kórokozók kimutatása.

#### 1-4. táblázat: Hemokultúra során vérből izolálható kórokozók

<b>Aerob / aerob, fakultatív anaerob baktériumok</b>	
<b>Gram-pozitív coccusok</b>	<b>Gram-negatív bacillusok, cocco-bacillusok</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Streptococcus ( $\alpha$ - és $\beta$ -hemolizáló)	Klebsiella spp.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Enterobacter spp.
Enterococcus spp.	Serratia spp.
Koaguláz-negatív staphylococcusok	Proteus spp.
	Salmonella spp.
<b>Gram-negatív coccusok</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
<b>Gram-pozitív bacillusok</b>	Brucella spp.
<i>Listeria monocytogenes</i>	<b>Gram szerint nem festődő</b>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	<i>Leptospira interrogans</i>
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	
Lactobacillus spp.	

  

<b>Anaerob baktériumok</b>	
<b>Gram-pozitív coccusok</b>	<b>Gram-negatív coccusok</b>
<i>Peptococcus niger</i>	Veillonella spp.
Peptostreptococcus spp.	<b>Gram-negatív bacillusok</b>
<b>Gram-pozitív bacillusok</b>	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Fusobacterium spp.
Propionobacterium spp.	

Felnőtteknél a bacteriaemia illetve septicaemia során a vérben általában kis számban találhatóak a kórokozók (1-30 CFU/ml), újszülötteknél, csecsemőknél, kisgyermeknél a baktériumok száma nagyobb (gyakran > 100 CFU/ml).

## **Hemokultúra indokolt:**

### **Láz esetén:**

- Bacteriaemia vagy sepsis tüneteikor
- Ismert vagy feltételezett góccal kapcsolatban (sebfertőzés, gyermekágyi láz, pneumonia, meningitis, osteomyelitis, endocarditis, intravaszkuláris eszközökkel és implantátumokkal kapcsolatos fertőzések)
- Ismeretlen eredetű láz (typhus, brucellosis, tularaemia, egyéb zoonosisok)

### **Láz hiányában:**

- Ha a gyermek fejlődése megáll
- Időseknél az általános állapot hirtelen romlásakor
- Veseelégtelenség ismeretlen eredetű leukocytosissal és/vagy magatartásváltozással
- Immunkárosodott betegek rossz általános állapota, a máj, a tüdő vagy a vese működési zavarai.

Lehetőleg a betegség észlelésének első napján, 1-2 órán belül legalább 2, de inkább 3 vérminta legalább 20-30 perces időközökben levéve.

Antibiotikum kezelés alatt álló betegeknél, ha az állapota megengedi 1-2 nap szünetet tartva, vagy ha ez nem lehetséges, az utolsó adag beadását követő lehető legtávolabbi időpontban kell vért venni. 2-3 vérminta vétele célszerű lehetőleg hidegrázáskor, vagy a lázas periódus kezdetén.

Infektív endocarditis esetén láztól függetlenül, lehetőleg 5-6 minta szükséges különféle időközökben.

A levett vér mennyisége vizsgálatonként optimálisan 20-30 ml felnőttek, 1-2 ml újszülöttek, 2-3 ml kisgyermekes esetében.

Lehetőleg ép perifériás vénákról és különféle helyekről.

Egy lázas periódus alatt lehetőleg 2-3 alkalommal különböző vénákból (3) vegyünk vért.

Katéter sepsis esetén lehetőleg cseréljük ki a katétert és azt is küldjük a laboratóriumba tenyésztésre. A fertőzésre gyanús katéteren keresztül ne vegyünk le

vért, vagy a katéteren át vett vérrel egyidőben vegyünk le vért valamelyik másik perifériás vénából is.

A mintavételi helyet engedélyezett bőrfertőtlenítő szerrel fertőtlenítjük, a szer tájékoztatójában, vagy útmutatójában leírt módon. Vegyük figyelembe az adott bőrfertőtlenítő szer behatási idejét, a minta ne kerüljön kontaktusba a helyileg alkalmazott antibakteriális szerrel. A bőrfertőtlenítés után ne érintsük többé kézzel a fertőtlenített bőrfelületet.

Steril, egyszerhasználatos fecskendőket és tűt vagy vacutainert alkalmazunk.

A hemokultúra (HK) palackok gumidugóját fertőtlenítjük.

Bacteraemia esetén a véreket elsősorban aerob HK palackokba kell venni. Anaerob HK palackot elsősorban anaerob infekció gyanúja esetén kell alkalmazni. Gyermekeknél gyermekpalack, gomba sepsis, illetve Mycobacterium fertőzés gyanúja esetén speciális palack használata célszerű. A palackokat felhasználásukig a gyártó utasításától függően kell tárolni. A hűtve tárolt palackok hőmérsékletének szobahőre, vagy még inkább 37 C-ra történő felmelegítéséről beoltás előtt gondoskodni kell. A HK palackokat helyezzük termosztátba, a hőmérséklet a szállítás során ne csökkenjen.

A lízis-centrifugálás az intracelluláris baktériumok vérből való kitenyésztésének eredményességét fokozza. A minta centrifugálása után 1,6 ml-nyi üledéket 0,2 ml-ként mérünk szét táptalajokra.

Szerológiai vizsgálatra a vért alvadésgátlót nem tartalmazó csövekbe kell levenni. A mintát 24 órán át tartjuk szobahőn, a továbbiakban 4-6°C-on tároljuk.

Szerológiai vizsgálatra célszerű savó beküldése, ami fagyasztva is tárolható.

## **1.9. Egyéb steril testfolyadékok**

A pleuralis, pericardialis, peritoneális és synovialis üregekből.

A megfelelően fertőtlenített bőrön keresztül aseptikusan végzet tűaspirációval veszünk mintát

Ha a mintát nem kell tárolni, szállíthatjuk a légbuboréktól mentesített mintavételi fecskendőben, amelyet kupakkal ellátott steril tűvel zárunk. Ha a minta nem kerül 15 percen belül a laboratóriumba, fecskendezzük anaerob transzport közegbe a gyártó előírása szerint és tároljuk szobahőmérsékleten. A folyadékokat 5-10 ml-enként

aerob és anaerob hemokultúra palackokba juttatjuk, szoba-hőmérsékleten vagy termosztátban tartjuk.

## **2. Antibiotikumok**

A modern kemoterápia alapjait *Paul Ehrlich* fektette le, aki tudatosan keresett trypanosomiasis- és szifiliszellenes szereket. Megfogalmazta a szelektív toxicitás elvét, miszerint léteznek olyan kémiai anyagok, amelyek szelektíven károsítják a mikroorganizmusokat viszont nem toxikusak az emberi szervezetre nézve. A penicillin 1929-ben történő felfedezését (*Fleming*) a szulfonamidok, streptomycin, tetraciklin, kloramfenikol felfedezése követte, majd az 1960-as évek után a fermentációs technikák és az orvosi kémia gyors fejlődésének köszönhetően egyre több antibakteriális szer szintézise vált lehetővé.

A különböző mikroorganizmusok termékeiből nyert antibakteriális hatással rendelkező anyagokat antibiotikumoknak nevezzük. Az antibiotikumokat termelő mikroorganizmusok a környezetben elterjedtek, fontos szerepet játszanak a talaj, a víz, a szennyvíz, a komposzt baktérium populációjának szabályozásában. A gyógyászatban leggyakrabban alkalmazott antibiotikumok a *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Streptomyces*, *Bacillus* nemzetségekbe sorolható mikroorganizmusok termékei.

A szintetikus ill. félszintetikus úton előállított antibakteriális anyagokat kemoterápiás szereknek nevezzük, bár az orvosi szóhasználatban az antibiotikum fogalma gyakran erre a csoportra is kiterjed.

### **2.1. Antimikrobiális szerek osztályozása**

#### **2.1.1. Hatás szerint**

- baktericid hatású antibiotikumok: elpusztítják a baktériumokat (pl. penicillinek, aminoglikozidok, stb.)
- bakteriosztatikus hatású antibiotikumok: meggátolják a baktériumok növekedését; kevésbé hatásosak mint a baktericid szerek, viszont megadják a szervezet számára az esélyt, hogy a saját védekezési mechanizmusai révén győzze le a kórokozókat (pl. chloramphenicol, tetraciklin, erythromycin, clindamycin)

#### **2.1.2. Hatásmechanizmus függvényében**

A fertőzés során a baktériumok sorozatos osztódáson, növekedésen mennek keresztül. Ezalatt fontos szintetizáló folyamatok mennek végbe a baktériumsejtekben

vagy a környezetből vesznek fel hasznos molekulákat. Az antimikrobiális anyagok különböző pontokban gátolhatják ezeket a folyamatokat. Jó antibiotikumoknak tekinthetők azok, amelyek a prokarióta sejt speciális szerkezeti elemeit vagy funkcióit képesek károsítani anélkül, hogy az eukarióta sejtekben kárt okoznának.

### **Sejtfal szintézisét gátló antibiotikumok ( $\beta$ -laktám antibiotikumok, glikopeptidek, bacitracin);**

A baktérium sejtfal jellegzetes szerkezeti elem, ami csak prokariótáknál van jelen, ezért kitűnő célpont az antibiotikumok számára.

A sejtfal peptidoglikán rétege a sejtfal rigiditását biztosítja és nélkülözhetetlen a hipotóniás közegben való túléléshez. Amennyiben károsul, a baktérium elpusztul.

A sejtfal képződését gátló antibiotikumok a peptidoglikán szintézisének különböző szakaszaiban fejtik ki hatásukat. Első lépésben peptidoglikán prekursorok (alegységek) termelődnek a citoplazmában. A második lépésben egy lipid hordozómolekula segítségével a prekursorok átjutnak a citoplazmamembránon. A bacitracin a hordozómolekula gátlásával fejt ki antibakteriális hatását. A harmadik lépésben a peptidoglikán alegységek polimerizálódnak és az újonnan kialakuló peptidoglikán a sejtfalhoz rögzül. A polimerizációban szerepet játszó enzimek transzpeptidázok, az úgynevezett penicillin-kötő fehérjék (PBP – penicillin binding protein). A  $\beta$ -laktám antibiotikumok ezekhez kötődve gátolják a peptidoglikán kialakulását. Mivel a baktériumok PBP-i változó szerkezetűek a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumoknál, a  $\beta$ -laktám antibiotikumok hatása nem egyforma a különböző baktériumok esetében (pl. az aztreonam csak Gram-negatív baktérium PBP-hez képes kötődni, Gram-pozitív baktériumokra hatástalan).

A vancomycin a peptidoglikán prekursorokkal komplexumot képez, ezáltal akadályozza meg a sejtfalszintézist. Nagy molekulájú antibiotikum lévén a vancomycin nem képes áthatolni a Gram-negatív baktériumok külső membránján, ezért ezekre hatástalan.

### **Proteinek szintézisét gátló antibiotikumok:**

A bakteriális riboszóma szerkezete eltér az eukarióta sejt riboszómájának szerkezetétől. A fehérjeszintézist gátló antibiotikumok, amelyek a bakteriális riboszómákhoz kötődnek, szelektíven károsítják a baktériumokat. Annak

függvényében, hogy melyik alegységre fejtik ki transzlációt gátló hatásukat, a következőképpen csoportosíthatók az antibiotikumok:

- a riboszóma 50S alegysége szintjén ható antibiotikumok (erythromycin, clindamycin, streptograminok, chloramphenicol),
- 30S alegység szintjén ható szerek (tetraciklin, aminoglikozidok).

A baktériumok 50S alegysége egy 23S, egy 5S és egy L (large) betűvel jelölt fehérjéből épül fel.

A makrolidok (erythromycin), lincosamidok (lincomycin, clindamycin), streptograminok (pristinamycin) az MLS antibiotikumcsoport. Ezek kémiaiilag különböző szerkezetűek, de azonos mechanizmussal fejtik ki hatásukat. A 23S alegységhez kötődnek és gátolják a transzlációt azáltal, hogy megakadályozzák a peptidlánc növekedését és a peptidil-tRNS disszociációját okozzák.

A chloramphenicol az 50S alegység szintjén a peptidyltransferase enzim gátlásával megakadályozza a peptidkötés kialakulását.

A tetraciklin reverzibilisen kötődik a 30S alegységhez, hatása ezért csak bakteriosztatikus.

Az aminoglikozidok szintén a 30S alegység szintjén kötődnek, igen hatásosak a Gram-negatív baktériumokkal és a Gram-pozitív coccusokkal szemben, streptococcusok és enterococcusok kivételével.

### **A nukleinsav szintézisét gátló antibiotikumok (quinolonok, rifampin):**

Az antibiotikumok különböző szinteken befolyásolhatják a nukleinsav szintézist. Gátolhatják a nukleotidok szintézisét vagy konverzióját, megakadályozhatják a DNS normális templátként való működését, gátolhatják a transzkripcióban, replikációban szerepet játszó polimerázok aktivitását. A fluoroquinolonok gyrase-gátló szerek, megakadályozzák a DNS normális replikációját. A rifampin a DNS-függő RNS polimerázhoz szorosan kötődve gátolja a DNS transzkripció iniciációját.

### **A sejtmembrán funkcióját gátló szerek (polimyxinek)**

A polimyxinek felbontják a sejtmembrán szerkezetét, megnövelve a permeabilitását, aminek következtében a baktériumsejt kationokat és nukleinsavat veszít és a baktérium elpusztul. Igen toxikus antibiotikumok, szisztémásan nem alkalmazhatóak, különböző szöveti elemekhez kötődhetnek.

### **Folát metabolizmust gátló anyagok (szulfonamidok, trimethoprim)**

A szulfonamidok és trimethoprim kompetitíve gátolják a tetrahidrofolát szintézisét. A tetrahidrofolát az egy szénatomos részecskék szállítójaként működik és a sejtfal fehérjék, a DNS és RNS szintéziséhez szükséges. Mivel a baktériumok nem rendelkeznek megfelelő transzport rendszerrel a folsav környezetből való felvételére, saját maguk kell a folátokat előállítsák.

## **2.2. A baktériumok antibiotikum rezisztenciája**

Az antibiotikumokkal szembeni rezisztencia különböző mechanizmusok révén alakul ki, amelyeket egyrészt a baktérium tulajdonságai, másrészt a környezet sajátosságai befolyásolnak.

A környezeti tényezők közül fontos szerepet játszik a pH, az anaerobiózis, a  $\text{Ca}^{2+}$  és  $\text{Mg}^{2+}$  ionok koncentrációja, a timin jelenléte. Ezek ismerete fontos az antibiotikum rezisztencia *in vitro* tesztelése során, hiszen ezek a tényezők módosíthatják az eredményeket (pl. nem megfelelő  $\text{Ca}^{2+}$  és  $\text{Mg}^{2+}$  ionkoncentráció mellett a aminoglikozidok módosult aktivitást mutatnak *Pseudomonas* ellen; a táptalajban jelenlévő timin, timidin versenghet a sulfonamidok szubsztrátumáért; alacsony pH esetében csökken az erythromycin és aminoglikozidok antibakteriális hatása).

### **2.2.1. Természetes (intrinsic) rezisztencia**

A mikroorganizmus genetikai, szerkezeti vagy fiziológias tulajdonságai határozzák meg az intrinsic rezisztenciát. Ez a típusú rezisztencia öröklődő, jellemezhet egy nagyobb baktérium csoportot, speciest vagy genust. Megjósolható rezisztencia, rendszerint a baktérium azonosítása elegendő a megállapításához (pl. a Gram-negatív baktériumok vancomycinre rezisztensek). Bizonyos esetekben a rezisztencia megállapítása diagnosztikus értékű lehet (pl. novobiocinra rezisztens *Staphylococcus* speciesek saprophyticus csoportba való sorolása).

A természetes rezisztencia az antibiotikum célpontjának hiányával, a permeabilitás hiányával vagy az antibiotikumokat lebontó enzimek termelésével magyarázható.

### **2.2.2. Szerzett (extrinsic) rezisztencia**

A baktérium genomjában létrejövő változások miatt kialakuló szerkezeti, funkcionális változások okozzák az extrinsic rezisztenciát. Ez a típusú rezisztencia nem megjósolható, jelenlétét tesztelni kell. Rendszerint csak bizonyos törzseket jellemez egy speciesen belül. Mutációk vagy géntranszfer révén alakul ki.

### **2.2.2.1. A rezisztencia függőleges terjedése**

Bakteriális kromozómában bekövetkező spontán mutációt követően egy baktériumpopuláció valamely tagjánál rezisztencia alakul ki. Szelekciós tényezők hatására az érzékeny baktériumok (vad típus) elpusztulnak, a rezisztens mutáns növekedik és szaporodik, az utódsejtek öröklik a rezisztenciát.

### **2.2.2.2. A rezisztencia vízszintes terjedése**

Vízszintes terjedés esetében más baktériumtól származó rezisztenciagének megszerzése történik. Például, ha egy baktérium mutáció révén rezisztenssé válik egy antibiotikummal szemben, a mutáns géneket egy másik baktériumnak adhatja át, konjugáció, transzformáció vagy transzdukció révén.

### **2.2.3. Rezisztenciamechanizmusok**

A baktériumok a következő mechanizmusok révén válhatnak rezisztenssé az antibiotikumokkal szemben:

- Megváltozott támadási hely
- Megváltozott drogfelvétel
  - Permeabilitás változása
  - Efflux-mechanizmus
- Enzimatikus inaktiválás

## **1. $\beta$ -laktámokkal szemben kialakuló rezisztencia**

A penicillin-kötő fehérjék (PBP) és a  $\beta$ -laktamázok hasonló szerkezetű peptidázok, amelyek egyaránt képesek  $\beta$ -laktám antibiotikumokkal kötődni és egy acylenzim derivátumot alakítanak ki. Ebben a komplexumban az antibiotikum  $\beta$ -laktám gyűrűje felbomlik. Ezt követően a PBP és  $\beta$ -laktamáz szekvenciális acyláció-deacylációs folyamatokban vesznek részt. A tulajdonképpeni különbséget a PBP és  $\beta$ -laktamáz között az adja, hogy a deacylációs folyamatok különbözőképpen zajlanak a kettőnél. A  $\beta$ -laktamáz esetében a  $\beta$ -laktám- $\beta$ -laktamáz komplexum labilis, az enzim újraalakul, viszont a  $\beta$ -laktám antibiotikum elbomlik. A PBP- $\beta$ -laktám komplexum ellenben stabil marad, ennek következtében a PBP funkciójában gátolt marad. Tehát a  $\beta$ -laktám- $\beta$ -laktamáz kölcsönhatás rezisztenciát, a PBP- $\beta$ -laktám kölcsönhatás érzékenységet eredményez a  $\beta$ -laktám antibiotikummal szemben.

## $\beta$ -laktamáz mediálta rezisztencia

A  $\beta$ -laktamázok rendkívül heterogén csoportot alkotnak, a baktériumoknál ezek egyedüli feladata a  $\beta$ -laktám antibiotikumok hatástalanítása.

A  $\beta$ -laktamázokat az aminosavszekvencia meghatározása révén 4 nagy osztályba (A, B, C és D) és ezeken belül csoportokba sorolhatjuk.

Az A osztályban találhatóak penicillinre aktív penicillinázok, cephalosporinokat semlegesítő cephalosporinázok, illetve széles spektrumú  $\beta$ -laktamázok. Ez utóbbiakra jellemző, hogy  $\beta$ -laktamázgátlókkal semlegesíthetők (klavulánsav, sulbactam, tazobactam). Ebbe a csoportba sorolható a *Staphylococcus aureus* által termelt  $\beta$ -laktamáz, valamint számos Gram-negatív baktérium plazmid által kódolt  $\beta$ -laktamáza (TEM, SHV típusú enzimek).

A B osztályba az ún. metallo- $\beta$ -laktamázok tartoznak, amelyek aktivitásukhoz kofaktorként  $Zn^{2+}$  jelenlétét igénylik. Hatásosan gátolják valamennyi  $\beta$ -laktám antibiotikumot (carbapenemeket is) és nem semlegesíthetők  $\beta$ -laktamázgátlókkal. *B. fragilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Legionella* spp.-nél fordulnak elő.

A C osztályba a Gram-negatív baktériumok kromoszómán kódolt cephalosporinázai (AmpC enzimek), a D osztályba pedig oxacillin-bontó enzimek tartoznak.

A Gram-pozitív baktériumok a termelt  $\beta$ -laktamázt a környezetükbe juttatják, míg a Gram-negatív baktériumok a periplazmatikus részben halmozzák fel.

A staphylococcusok 90%-a termel  $\beta$ -laktamázt, ezek szerkezete nem változott az idők folyamán. Szemben a Gram-negatívak  $\beta$ -laktamázaival jellemző rájuk, hogy termelődésük antibiotikummal indukálható, és az ún. *bla* gének szabályozása alatt állnak.

Az enterobaktériumok (elsősorban *E. coli*, *Klebsiella* spp.) által termelt TEM, SHV típusú  $\beta$ -laktamázok hatástalanítják a penicillineket és a szűk spektrumú cephalosporinokat, viszont nem képesek hidrolizálni a széles spektrumú cephalosporinokat (pl. cefotaxim, ceftazidim), monobactamokat, cephamicineket és carbapenemeket. Nagy mennyiségben termelődve képesek gátolni a  $\beta$ -laktám- $\beta$ -laktamázgátló kombinációt tartalmazó antibiotikumokat is. A TEM, SHV  $\beta$ -laktamázok szerkezete nem stabil. A mutánsok közül egyesek a széles spektrumú cephalosporinokat is képesek hidrolizálni, ezeket ESBL-ként (extended-spectrum  $\beta$ -lactamases) emlegetik a szakirodalomban.

## Módosult PBP mediálta rezisztencia

A módosult PBP mediálta rezisztencia jóval gyakoribb Gram-pozitív mint Gram-negatív baktériumoknál. Valamennyi baktérium több PBP-vel rendelkezik, ezeket molekulásúlyuk alapján különböztetik meg. Amennyiben valamelyik módosulást szenved, csökken az affinitása  $\beta$ -laktám antibiotikumok iránt és ezek jelenlétében is képes a peptidoglikán szintézisére.

### *Staphylococcus genus*

A staphylococcusok többsége  $\beta$ -laktamáz termelés miatt penicillinre és aminopenicillinekre rezisztens. Az általuk okozott fertőzések kezelésére 1965-től a penicillináz-stabil penicillineket (methicillin, oxacillin) használják, amelyeket a staphylococcus termel  $\beta$ -laktamáz nem tud hatástalanítani. Ezeknek az antibiotikumoknak a bevezetését gyorsan követte a rezisztens törzsek megjelenése, amelyeket methicillin-rezisztens *S. aureus* (MRSA) törzseknek nevezünk még ma is, annak ellenére hogy a methicillint a terápiában már nem alkalmazzák és azonosítása cefoxitinnel történik. Az MRSA-ra jellemző, hogy ***in vivo* valamennyi  $\beta$ -laktám antibiotikummal szemben rezisztens**, annak ellenére, hogy egyes cephalosporinokkal vagy carbapenemekkel szemben *in vitro* érzékenységet mutathat.

A methicillin-rezisztencia hátterében egy módosult PBP áll, a *mecA* gén által kódolt PBP2a, ami csökkent affinitást mutat  $\beta$ -laktám antibiotikummal szemben.

Az MRSA jelentőségét fokozza az a tény, hogy kórházi környezetben járványt hozhat létre. Mivel minden  $\beta$ -laktám antibiotikumra rezisztens és sokszor más antibiotikumcsoportokkal szemben is ellenálló, kevés választható szer áll rendelkezésre. MRSA fertőzés kezelésére nem használhatók penicillinek, cephalosporinok, carbapenemek és ezek  $\beta$ -laktamázt tartalmazó kombinációi sem. Súlyos fertőzés esetében az antibiogram eredményének megszerzéséig a glikopeptidok a választandó szerek, ezekkel szemben térségünkben a staphylococcusok még megőrizték érzékenységüket.

### *Streptococcus pneumoniae*

A  $\beta$ -laktám antibiotikumokkal szemben kialakuló rezisztencia *S. pneumoniae* esetében csak PBP mediált, ez a kórokozó ui. nem termel  $\beta$ -laktamázt. A *S.*

*pneumoniae* 6 típusú PBP-vel rendelkezik (1a, 1b, 2a, 2x, 2b és 3), ezek közül a leggyakrabban a 2-es PBP-k szenvedhetnek mutációt. A módosulások fokozatosan alakulnak ki, a transzpeptidázt kódoló *pbp* génekbe való új szekvenciák beépülése révén, ami ún. mozaik *pbp* gének kialakulásához vezet. A  $\beta$ -laktámokkal szemben kialakuló rezisztencia lépcsőzetesen alakul ki és nem azonos mértékű valamennyi  $\beta$ -laktám antibiotikummal szemben. Ennek a ténynek diagnosztikai jelentősége van. A rutin bakteriológiai kórismézés során a  $\beta$ -laktám-rezisztencia szűrése oxacillin koronggal történik. Érzékenység esetében bármely  $\beta$ -laktámmal szemben kijelenthető az érzékenység, rezisztencia esetében mennyiségi meghatározást kell végezni (minimális gátló koncentráció meghatározás) a terápiában alkalmazott fontosabb  $\beta$ -laktám antibiotikumok esetében, hiszen a rezisztencia mértéke nem azonos mértékű ezekkel szemben.

#### *Enterococcus faecalis, E. faecium*

Ezek a kórokozók PBP5-el rendelkeznek, ami csökkent affinitású penicillinnel szemben ezért intrinsic módon rezisztens kis dózisú penicillinnel szemben. A PBP5-ben bekövetkező módosulások vagy ennek túltermelése magas szintű rezisztenciához vezet.

#### *Gram-negatív kórokozók*

Egyes Gram-negatív baktériumoknál előfordul a módosult PBP mediálta  $\beta$ -laktám antibiotikum rezisztencia: *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*.

## **2. Makrolid, lincosamid, streptogramin B (MLS) rezisztencia**

Különböző mechanizmusok útján szerzett rezisztencia alakulhat ki Gram-pozitív baktériumoknál.

#### MLS célpont módosulás

Az *erm* (A, B, C) gének terméke egy metiláz, amely az MLS antibiotikumok kötődési helyét metilezi. Az elváltozás miatt ezek az antibiotikumok nem kötődhetnek,

rezisztencia alakul ki mindhárom antibiotikummal szemben. Jellemző ez a rezisztenciamechanizmus a *S. pneumoniae*, viridans csoportba tartozó streptococcus és staphylococcus törzsekre.

Az MLS típusú rezisztencia egyes törzseknél indukálható formában (iMLS) nyilvánul meg, tehát csak indukáló szer jelenlétében fejeződik ki. Ez annak tulajdonítható, hogy ezeknél a törzseknél az *erm* génekről inaktív mRNS íródik át, így a metiláz transzlációja nem megy végbe. Indukáló szer jelenlétében az mRNS szintjén végbemenő átrendeződés következtében lehetségessé válik a metiláz transzlációja.

Streptococcus törzseknél valamennyi MLS antibiotikum indukálhatja a rezisztenciát, ezért egyik sem alkalmazható iMLS fenotípusú Streptococcus fertőzés kezelésére.

Az iMLS fenotípusú Staphylococcusok esetében csak a makrolidok indukálnak rezisztenciát, ezért csak makrolidokkal szemben nyilvánul meg rezisztencia, de a lincosamidok (clindamycin, lincomycin) terápiás alkalmazása is kerülendő, ugyanis *in vitro* nagy valószínűséggel képződnek olyan mutánsok, amelyek aktív mRNS-t termelnek.

#### Efflux pumpa jelenléte

Bizonyos efflux pumpák jelenléte megakadályozza az említett antibiotikumok hatásos koncentrációban való felszaporodását a baktériumsejtben. *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes* törzseknél *mef*, staphylococcusoknál *msr* gének által kódolt efflux pumpákat írtak le. Ezek rendszerint a makrolidokat ill. streptograminokat távolítják el a sejtől, a lincosamidokat ez a rezisztenciamechanizmus nem érinti.

#### Antibiotikumot hatástalanító enzim termelése

Az antibiotikumokat hatástalanító enzimek rendszerint azonos szerkezetű antibiotikumokra fejtik ki hatásukat. Magas szintű rezisztenciával rendelkező enterobaktériumoknál írtak le erythromycint bontó enzimeket, amelyek a 14 szénatomos laktongyűrűt bontják.

### **3. Aminoglikozidokkal szembeni rezisztencia**

Az aminoglikozidok aerob Gram-negatív baktériumokra, Gram-pozitív coccusokra fejtik ki hatásukat. A streptococcusokra és bizonyos mértékben enterococcusokra nézve hatástalanok. A természetes rezisztencia a gátolt felvételnek köszönhető.

A szerzett rezisztencia különbözőképpen alakulhat ki: csökkent drogfelvétel, hatástalanító enzimek vagy megváltozott célpont révén.

Az aminoglikozidokkal szembeni rezisztenciát leggyakrabban a módosító enzimek váltják ki, amelyeket plazmidon lévő gének kódolnak. Az enzimeket 3 csoportra oszthatjuk: acyltransferase (AAC), adenytransferase (ANT) és phosphotransferase (APH) enzimek. Az enzimeket kódoló gének mobilis genetikai elemeken találhatóak, plazmidokon, transzpozonokon, ami lehetővé teszi a rezisztencia horizontális (különböző baktériumtörzsek közötti) terjedését. A rezisztenciagének egy másik terjedési módja integronokhoz kötött. Ebben az esetben a gének kazettákban helyezkednek el, amelyek integronba iktathatók illetve kivághatók. A mobilis integron egy integrase-t kódoló gént tartalmaz, amely lehetővé teszi a rezisztenciagén integrációját egy specifikus kötődési helyre.

#### **4. Tetraciklinekkel szembeni rezisztencia**

A tetraciklinekkel szembeni rezisztencia háttérében leggyakrabban efflux pumpa illetve a kötődési hely elfedése, ritkábban a külső membrán permeabilitásának megváltozása áll. A permeabilitás csökkenése kromoszomiális mutációnak köszönhető.

A tetraciklineket a baktériumsejtből aktívan kihajtó fehérjéket Tet membránfehérjéknek nevezik. Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumoknál egyaránt előfordulnak.

A riboszóma szintjén lévő kötődési helyet egy fehérje eltakarhatja, emiatt a fehérjetranszláció zavartalanul végbemehet az antibiotikum jelenlétében is. A Tet(M), Tet(O) fehérjéket mobilis genetikai elemeken található gének kódolják. Expressziójukat tetraciklin jelenléte elősegíti.

A tetraciklinekkel szembeni rezisztencia a legelterjedtebb rezisztenciatípus a természetben.

#### **5. Fluoroquinolonokkal szembeni rezisztencia**

A II típusú topoizomeráz, az ún. DNS gyrase megakadályozza a parenterális DNS túlcsovarodását a replikáció idején. Az enzim egy tetramer, két alegységből épül fel (A és B, a tetramer szerkezete  $A_2B_2$ ), amelyeket a *gyrA* és *gyrB* gének kódolják. A quinolonok az A alegységhez kötődve gátolják a DNS gyrase-t. A

quinolonok egy másik célpontja a topoizomeráz IV, ami a DNS gyrase-hoz hasonlóan tetramer szerkezetű, szerepe az összeakadó leány DNS molekulák szétválasztása. A topoizomeráz IV alegységeit a *parC*, *parE* (*S. aureus*-nál *grlA*, *grlB*) gének kódolják.

Rezisztencia alakulhat ki a *gyr* és/vagy *par* génekben bekövetkező mutáció miatt.

A Gram-negatív baktériumoknál a külső membrán átteresztőképességének csökkenése miatt fluoroquinolon rezisztencia alakulhat ki, ezt rendszerint más antibiotikumokkal szembeni rezisztencia is kíséri (pl.  $\beta$ -laktámokkal szemben).

Egyes baktériumoknál efflux pumpa jelenlétét is leírták (pl. *S. pneumoniae* törzseknél), ami kihajtja a fluorokinolonokat a baktériumsejtből.

## **6. Trimethoprim/sulfamethoxazollal szembeni rezisztencia**

Számos baktérium rendelkezik természetes rezisztenciával trimethoprim/sulfamethoxazollal szemben. A *Pseudomonas aeruginosa* külső membránja átjárhatatlan az antibiotikummal szemben. A baktériumsejt DHFR (dihidrofolát reductase) enzimje csökkent affinitást mutat trimethoprimmel szemben a *Neisseria*, *Clostridium*, *Moraxella*, *Nocardia* fajok esetében. Az enterococcusok és lactobacillusok exogén folátokat képesek hasznosítani.

A szerzett rezisztencia kromozomiális mutációk révén alakulhat ki vagy plazmid mediálhatja.

## **7. Chloramphenicolal szembeni rezisztencia**

A chloramphenicolal szembeni rezisztencia kialakulásáért leggyakrabban egy inaktiváló enzim játszik szerepet, a CAT- chloramphenicol acetyltransferase. Gram-negatív baktériumok esetében a külső membrán permeabilitásának csökkenése vezethet chloramphenicol rezisztenciához.

## **8. Glycopeptidekkel szembeni rezisztencia**

A Gram-negatív baktériumok intrinsic rezisztenciával rendelkeznek glikopeptidekkel szemben, külső membránjuk átjárhatatlan ezen antibiotikumok számára. Gram-pozitív baktériumok közül a *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp., *Lactobacillus* spp. *Erysipelotrix rhusiopathiae* szintén rezisztensek glikopeptidekkel szemben.

Glikopeptidekkel szembeni szerzett rezisztencia elsősorban az *Enterococcus* spp.-nél fordul. A *vanA* és *vanB* rezisztenciagének jelenlétével függ össze. A plazmidon

kódolt *van* gének terméke egy ligase, ami a kromoszomális ligase-tól eltérően egy módosult szerkezetű peptidoglikánprekurzort szintetizál (d-alanin-d-alanin helyett d-alanin-d-laktát képződik), aminek csökkent az affinitása vancomycinnel szemben. A *van* gének jelenléte alapján a VanA ill. a VanB fenotípus határozható meg. A VanA fenotípus elsősorban *E. faecalis* és *E. faecium* törzsekre jellemző, egyidejű magas szintű vancomycin és teicoplanin rezisztenciával. A rezisztencia konjugációval átadható érzékeny enterococcusoknak. A VanB fenotípus szintén *E. faecalis* és *E. faecium* törzsekre jellemző, ez esetben vancomycin rezisztencia és teicoplanin érzékenység észlelhető.

Jóllehet ezidáig a staphylococcusok megőrizték érzékenységüket glikopeptidekkel szemben, leírtak már intermedier érzékeny *S. aureus* (GISA – glycopeptide intermedier *S. aureus*) és rezisztens (VRSA – vancomycin resistant *S. aureus*) törzseket. Staphylococcusoknál még nem teljesen ismert a rezisztenciamechanizmus. Kísérleti körülmények között vizsgálják a *van* gének staphylococcusba való átjutásának lehetőségét. VRSA törzseknél megfigyelték, hogy vastagabb sejtfallal rendelkeznek mint az érzékeny törzsek.

### **Az antibiotikumkezelés elvei**

Az antibiotikumterápia szerepe:

- A baktériumok kiirtása a fertőzés helyszínéről, ami egyrészt a beteg gyógyulását eredményezi, másrészt csökken annak a kockázata, hogy rezisztens mutánsok alakuljanak ki.
- Megszüntetni a rezisztens baktérium hordozását, megakadályozni a rezisztens törzsek terjedését.

Az antibiotikum kiválasztása a következő kritériumok figyelembevételével kell történjen:

- hatásosság
  - ismerni kell az antibiotikum hatásspektrumát;
  - *in vitro* körülmények között vizsgálni kell a szer antibakteriális hatását, az antibiogram eredményének ismeretében célzott terápiát kell alkalmazni;
  - figyelembe kell venni a szer farmakokinetikáját (pl. felszívódik-e a tápcsatornából, megfelelő koncentrációt ér el a fertőzés helyszínén, felezési idő, stb.)
- biztonságosság: figyelembe kell venni a szer toxicitását;

- szájon keresztül adagolható antibiotikum - amennyiben van ilyen készítmény az illető antibiotikumból;
- ár;

Az antibiotikum terápia bevezetése előtt mindig meg kell fontolni annak valódi szükségességét, hogy bevezetése nem jár-e több kárral mint haszonnal.