

# **Klinikailag releváns *Pseudomonas aeruginosa* törzsek jellemzése**

Rátkai Csilla

Ph.D értekezés tézisei

Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ  
Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet

Szeged

2011

## 1. BEVEZETÉS

A *P. aeruginosa* egy nem fermentáló, oxidáz pozitív, aerob, Gram-negatív mozgó pálca. Előnyben részesíti a nedves környezetet, ritkán az emberi nyálkahártyákat is kolonizálhatja, ez leggyakrabban hospitalizációt, széles spektrumú antibiotikum-terápiát követően figyelhető meg. A *P. aeruginosa* egyike a legfontosabb nozokómiális patogéneknek. Az általa okozott infekciók leggyakrabban nozokómiális légzőszervi megbetegedések, bacteraemia, csont-és ízületi infekciók, égési sebek fertőződései. Közösségben szerzett infekciók lehetnek otitis externa, uszodahasználattal összefüggő folliculitis, kontaktlencse használathoz köthető keratitis. A *P. aeruginosa* mukoid fenotípusa nagyon gyakran okoz légzőszervi kolonizációt/infekciót cisztás fibrózisos betegek körében.

A cisztás fibrózis egy recesszív, autoszómális betegség, amelynek előfordulási aránya a kaukázusi gyermekek körében 1:2000, a magyar gyermekek körében 1:4000. A betegségért a CFTR (cisztás fibrózis transzmembrán regulátor) gén meghibásodása a felelős. A gén egy klorid ion csatornát kódol, mely a légutak, vesék, hasnyálmirigy, epevezeték, belek és szaporítószervek epitél sejtjeiben expresszálódik. A mutáció a gén eltérő pontjain is bekövetkezhet, ettől függően a betegség tünetei is különbözőek lehetnek elsősorban légúti, illetve gastrointestinális elváltozásokat okozva. A tüdőben a CFTR protein hiányának köszönhetően sűrű, viszkózus váladék alakul ki, mely ideális környezetet biztosít a baktériumok (elsősorban *H. influenzae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cepacia*) megtelepedéséhez, elszaporodásához. Ezen baktériumok okozta krónikus infekció a gazda szervezet heves immunreakciójával karöltve okoz visszafordíthatatlan elváltozásokat a tüdőben, amely a leggyakoribb halálok a cisztás fibrózisos betegek körében.

Azon felül, hogy a *P. aeruginosa* veleszületetten rezisztens számos antibiotikum-csoporttal szemben, igen jelentős a szerzett rezisztencia kialakulása is gyakorlatilag minden anti-pseudomonas antibiotikummal szemben. Ez különböző rezisztencia mechanizmusoknak köszönhető, mint például az efflux-pumpák túltermelésének, porin csatornák vesztésének, enzimatis rezisztenciának, valamint mutációk révén. A fent említett rezisztencia mechanizmusok következtében mára igen kevés olyan antibiotikum maradt, amivel eredményesen kezelhető egy súlyos, antibiotikum-rezisztens *P. aeruginosa* infekció. Éppen ezért a rutin mikrobiológusok számára nélkülözhetetlenek a különböző rezisztencia mechanizmusok gyors és megbízható detektálására alkalmas módszerek. A legfontosabb pseudomonas-ellenes antibiotikumok a következők: cefoperazon, ceftazidim, cefepim, aztreonam, carbapenemek, aminoglikozidok közül a gentamicin, tobramicin, amikacin,

netilmicin, valamint a fluorokinolonok közül a cipro-, levo-, és moxifloxacin. A polimixinek szintén eredményesek egy *P. aeruginosa* által okozott infekció kezelésében, viszont magas toxicitásuk miatt csak a legvégső esetben használatosak.

A *P. aeruginosa* nemcsak egyike a legrezisztensebb kórokozóknak, hanem igen nagy a jelentősége nozokómiális járványok, esethalmozódások esetén is. Annak érdekében, hogy egy ilyen járvány eredményesen megfékezhető legyen, elengedhetetlen az adott törzssel kolonizált betegek megkülönböztetése, illetve a járványt okozó törzs forrásának felderítése. Ehhez szükségünk van gyors, megbízható bakteriális tipizáló módszerekre. Számos módszer használatos napjainkban erre a célra, mint az ún. gold-standard módszer a PFGE (pulzáltatott mezejű gél-elektroforézis), MLST (multi-lókusz szekvencia analízis), vagy a rep-PCR (repetitív szekvencián alapuló PCR) módszerek.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

Jelen tanulmány célkitűzései között szerepelt, hogy:

- megvizsgáljuk a különböző, klinikailag releváns *P. aeruginosa* izolátumok antibiotikum-rezisztencia mechanizmusait, különös tekintettel a carbapenem-rezisztenciára
- különböző molekuláris tipizáló módszerek összehasonlítása nozokómiális járványból, illetve cisztás fibrózisoso betegekből izolált *P. aeruginosa* tipizálására
- cisztás fibrózisoso betegekből izolált *P. aeruginosa* izolátumok vizsgálata.

### **3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK**

#### **3.1. Baktérium törzsek**

2004 januártól 2008 novemberéig összesen 4761 *P. aeruginosa* izolátumot tenyésztettünk ki a szegedi Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézetben nem cisztás fibrózisos, hospitalizált betegből. 1502 (32 %) izolátum volt imipenem és/vagy meropenem rezisztens, 364 (7 %) volt multirezisztens, melyből 51 izolátumot választottunk ki további vizsgálatokhoz az alábbi kritériumok alapján: egy betegről csak egy izolátumot vizsgáltunk; minden izolátum multirezisztens volt (legalább három anti-pseudomonas antibiotikum-csoporttal szemben rezisztens, beleértve a carbapenemeket), valamint egy kivétellel minden törzs rezisztens volt ceftazidimre is. A 2003-tól 2007-ig terjedő időszakban 149 *P. aeruginosa* törzset izoláltunk 16 különböző, cisztás fibrózisos szenvedő betegből, 78 törzs (52 %) volt mukoid fenotípusú. Mind a 149 izolátumot tovább vizsgáltuk.

A törzsek identifikálása VITEK 2 automatával történt, az antibiotikum-rezisztenciát korongdiffúziós módszerrel, illetve E-tesztel határoztuk meg. A törzseket -70 °C-on Cryobank mediumban tároltuk.

#### **3.2. Antibiotikum-rezisztencia mechanizmusok meghatározása**

##### **3.2.1. ESBL termelés**

A széles spektrumú  $\beta$ -laktamáz termelésének vizsgálatára a következő fenotípusos módszereket alkalmaztuk mind a cisztás fibrózisos, mind a nem cisztás fibrózisos betegekből izolált törzsek esetében: DDST (double disk szinergizmus vizsgálat), PCR reakció a leggyakrabban előforduló ESBL gének (PER-1, PER-2, TEM, SHV, GES, VEB-1, OXA csoport) detektálására, plazmid tisztítás, transzformációs vizsgálat, transzpozon-specifikus (Tn1213) IS elemek amplifikációja.

##### **3.2.2. MBL termelés**

A serin  $\beta$ -laktamázokkal ellentétben a metallo-  $\beta$ -laktamázok működése kelátképzőkkel, mint az EDTA vagy a merkapto-propionsav gátolható. Számos, a MBL termelés detektálására irányuló rutin módszer alapszik ezen a jelenségen, mint például az MBL E-teszt, vagy az MBL kombinált korong teszt. Az MBL E-teszt pozitívnak tekinthető, ha a MIC értéke EDTA jelenlétében legalább 3 hígítási lépcsővel csökken, a kombinált

korong-módszer esetében pedig a gátlási zóna EDTA jelenlétében legalább 7 mm-rel nagyobb, mint EDTA nélkül. A fent említett fenotípusos módszerek mellett a metallo- $\beta$ -laktamázok jelenétét PCR reakcióval is vizsgáltuk a következő, leggyakrabban előforduló MBL géneket: *bla*<sub>SPM-1</sub>, *bla*<sub>GIM-1</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>IMP</sub>, valamint a class I integron 5' és 3' végein található konszenzus szekvenciákat megcélózva.

### 3.2.3. Efflux pumpa, porin csatorna vizsgálatok

Real time reverz transzkripció PCR vizsgálattal határoztuk meg a következő, antibiotikum efflux pumpa illetve porin csatorna gének expressziós szintjét: *oprD*, *mexB*, *mexX*, *mexC*. Az mRNA tisztítása után a vizsgált gének expresszióját egy olyan, ún. housekeeping gén (*rpsL*) expressziós szintjéhez normalizáltuk, mely konstans minden *P. aeruginosa* izolátumban. Ezt a normalizált génexpressziós szintet viszonyítottuk a PAO1 kontrol *P. aeruginosa* törzs génexpressziójához. A következő relatív génexpressziós értékeket tekintettük pozitívnak: *mexB* esetében a  $\geq 3$ -szoros; *mexX* esetében a  $\geq 10$ -szeres; *mexC* esetében a  $\geq 2$ -szeres; valamint az *oprD* esetében a  $\leq 0,7$ -szeres változásokat.

### 3.3. Molekuláris tipizálás

Mind az 51 multirezisztens, nem cisztás fibrózisos betegből izolált *P. aeruginosa*-t, valamint 44, különböző antibiotikum rezisztencia profillal rendelkező, cisztás fibrózisos betegből izolált *P. aeruginosa*-t vizsgáltuk PFGE módszerrel, valamint a repetitív szekvencia-analízisen alapuló DiversiLab automatával. Amennyiben a fent említett módszerekkel ellentmondásos eredményeket kaptunk, a törzseket a szintén repetitív szekvencia-analízisen alapuló ERIC PCR módszerrel tovább vizsgáltuk. Összesen 8 *P. aeruginosa* izolátumot vizsgáltunk multi-lókuszos szekvencia analízissel (MLST), mely vizsgálatok eredményei az MLST adatbázisban ([www.pubmlst.org/paeruginosa](http://www.pubmlst.org/paeruginosa)) tárolhatóak. A filogenetikai analízishez az eBURST algoritmust alkalmaztuk.

## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1. Antibiotikum rezisztencia vizsgálatok

#### 4.1.1. Nem cisztás fibrózisos betegből izolált, multirezisztens *P. aeruginosa* törzsek

A 2004-től 2008-ig terjedő időszakban 51 multirezisztens *P. aeruginosa*-t választottunk további vizsgálatokhoz, mint antibiotikum-rezisztencia mechanizmusok meghatározása, valamint bakteriális tipizálás. A 51 izolátum esetében a vizsgált pseudomonas-ellenes antibiotikumokkal szembeni érzékenység a következő volt: piperacillin/tazobactam: 25 %, cefoperazon: 0 %, ceftazidim: 8,3 %, cefepim: 0 %, imipenem: 0 %, meropenem: 0%, gentamycin: 16 %, tobramycin: 25 %, amikacin: 41,6 %, netilmicin: 41,6 %, ciprofloxacin: 50 %, levofloxacin: 50 %, moxifloxacin: 33,3 %, polymyxin B: 100 %. Három izolátum volt pan-rezisztens, csak polymyxin B-re érzékeny. Molekuláris tipizáló módszerekkel az 51 izolátum 12 különböző törzsnek bizonyult, minden genotípusból egy reprezentatív izolátumot tovább vizsgáltunk.

Az ESBL termelés detektálására alkalmas fenotípusos módszerek a vizsgált 12 törzsből egy esetben adtak pozitív eredményt, melyet PCR reakciókkal is alátámasztottunk. Ezen panrezisztens törzset egy fiatal, politraumatizált román beteg tracheavádékából, hemokultúrájából, vizeletéből, sebváladékából tenyésztettük ki, akit a temesvári kórházból szállítottak a szegedi Belgyógyászati Klinika Intenzív osztályára. A törzs további vizsgálatokkal PER-1, OXA 74 és OXA-2 ESBL enzim-termelő törzsnek bizonyult.

Mind a 12 törzset vizsgáltuk az MBL detektálására alkalmas E-teszttel, valamint az MBL korong módszerekkel, mely két törzs kivételével pozitív eredményt adott. A MBL enzim jelenlétét genotípusos módszerekkel kívántuk alátámasztani, a PCR reakciók azonban mind a 12 törzs esetében negatív eredményt hoztak csakúgy, mint a spektrofotometriás carbapenem hidrolízis vizsgálatok.

A 12 törzsből PCR reakcióval összesen öt törzs esetében négy, különböző hosszúságú class 1 integront detektáltunk, mely integronokat megszekvenáltunk, és négy különböző, aminoglikozid-rezisztenciát kódoló gént kaptunk.

A MexAB-OprM, MexXY-OprM, és a MexCD-OprJ antibiotikum efflux pumpák túltermelésére, valamint az OprD porin csatornák alultermelésére irányuló vizsgálatok a következő eredménnyel zárultak: a MexAB-OprM túltermelését csak a fent említett panrezisztens törzs esetében figyelhettük meg; MexXY-OprM túltermelését négy törzs

esetében figyeltünk meg, az előbb említett panrezisztens törzsnél különösen magas, 128-szoros emelkedést; MexCD-OprJ túltermelést pedig két törzs esetében. Két törzs kivételével minden esetben az OprD porin csatorna alultermelését detektáltuk.

#### **4.1.2. Cisztás fibrózisos betegből izolált *P. aeruginosa* törzsek**

A 2003-tól 2007-ig terjedő időszakban összesen 149 *P. aeruginosa*-t izoláltunk cisztás fibrózisos betegből, mely izolátumoknál az antibiotikum érzékenység a következőképpen alakult: piperacillin/tazobactam: 100 %, cefoperazon: 87,5 %, ceftazidim: 93,75 %, cefepim: 68,8 %, imipenem: 81,3 %, meropenem: 87,5 %, gentamycin: 37,5 %, tobramycin: 68,8 %, amikacin: 38,8 %, netilmicin: 62,5 %, ciprofloxacín: 93,75 %, levofloxacín: 68,8 %, moxifloxacín: 43,8 %, polymixin B: 100%.

A 149 izolátumból 26 volt carbapenem-rezisztens, mely törzseket MBL termelés detektálására alkalmas módszerekkel tovább vizsgáltunk, a vizsgálatok negatív eredménnyel zárultak.

Class 1 integront egyetlen törzs esetében detektáltunk, az integron egy aminoglikozid-acetiltranszferáz enzim génjét kódolta.

A ceftazidimre és/vagy cefepimre rezisztens öt izolátumban ESBL-t kódoló gént kerestünk PCR reakcióval, a vizsgálat egy törzs esetében zárult pozitív eredménnyel, a törzs OXA-10 enzim-termelőnek bizonyult.

Hét izolátumot választottunk ki efflux pumpa analízisre a törzsek különböző antibiotikum-rezisztencia profilja alapján. A vizsgálatok a következő eredménnyel zárultak: MexAB-OprM túltermelését csak egy törzs esetében figyelhetünk meg igen magas, 148-szoros emelkedést detektálva; MexXY-OprM túltermelését három törzs esetében figyeltünk meg; MexCD-OprJ túltermelést pedig egyetlen törzs esetében sem. Egy törzs kivételével minden esetben az OprD porin csatorna alultermelését detektáltuk.

## **4.2. Molekuláris tipizálás**

### **4.2.1. Nem cisztás fibrózisos betegből izolált, multirezisztens *P. aeruginosa* törzsek**

A 2004-től 2008-ig terjedő időszakban három esethalmozódást/járványt figyelhetünk meg a szegedi klinika különböző osztályain, melyből egy járvány esetében 29 különböző beteg volt érintett 2007 júniusától 2008 novemberéig négy különböző intenzív osztályon. A 29 betegből 20-nál alakult ki infekció, kilencnél kolonizáció. Az ezen betegekből izolált

törzsek mindegyike rezisztens volt minden vizsgált antibiotikumra, kivéve a polymyxin B-t, az amikacint, és egy törzs kivételével a netilmicint. A hasonló antibiotikum-rezisztencia mellett a törzsek hasonló telepmorfológiával is rendelkeztek. Mind a 29 törzset tipizáltuk repetitív szekvencia-analízis elvén működő DiversiLab automatával, az ezzel a módszerrel kapott eredményeket a gold standard PFGE módszerrel ellenőriztük. Mindkét módszerrel a 29 izolátumból 28 egy genotípusba sorolható, a netilmicinre rezisztens törzs egy másik genotípust képviselt. A járványt okozó törzs forrását környezet-szűréssel derítettük fel a Belgyógyászati Intenzív Osztályon. A betegek közvetlen környezetéből összesen öt *P. aeruginosa*-t izoláltunk, mely izolátumokat a fent említett tipizáló módszerekkel vizsgálva a járványt okozó törzset az osztályon található jobb oldali csaptelepről izoláltuk. A járványért felelős törzset MLST módszerrel tovább vizsgálva a törzs ST618-nak bizonyult, mely egy még nem jellemzett klonális komplex tagja (<http://pubmlst.org/paeruginosa>).

A fent jellemzett 29 törzs mellett a többi 22 multirezisztens törzset is tipizáltuk. PFGE módszerrel a 22 törzs 11 genotípusba volt sorolható, még a DiversiLab automatával 14 genotípust kaptunk. Azon törzseket, melyeknél a két módszer ellentmondásos eredményt adott, a szintén repetitív szekvencia analízisen alapuló ERIC PCR módszerrel vizsgáltuk, mely módszer a PFGE-sel kapott eredményeket támasztotta alá. A 11 genotípusból három törzset választottunk MLST analízisre, egy reprezentatív törzset minden járványból/esethalmozódásból, illetve a három különböző ESBL-t termelő pánrezisztens törzset. MLST vizsgálatokkal a törzsek ST235-nek, ST253-nak, valamint ST 619-nek bizonyultak, mind a három törzs tagja különböző klonális komplexeknek.

#### **4.2.2. Cisztás fibrózisos betegekből izolált *P. aeruginosa* törzsek**

A cisztás fibrózisos betegekből izolált 149 *P. aeruginosa*-ból 44 izolátumot választottunk ki molekuláris tipizálásra, ebből 23 izolátum (61 %) volt mukoid fenotípusú. PFGE-sel a 44 izolátum 16 különböző genotípusnak bizonyult, míg DiversiLab automatával összesen 20 genotípust detektáltunk. Hat izolátumot választottunk ki véletlenszerűen MLST vizsgálatokhoz, a hatból öt izolátum bizonyult ún. singleton-nak, vagyis olyan törzsnek, amely nem tagja klonális komplexnek.



## 5. MEGBESZÉLÉS

### 5.1. Antibiotikum-rezisztencia vizsgálatok

Négy év alatt 51 multirezisztens izolátumot választottunk ki további vizsgálatok céljából, molekuláris tipizálás alapján az 51 izolátum 12 genotípusnak bizonyult. Meglepő módon eltéréseket figyelhettünk meg az antibiotikum-rezisztencia profilban egy-egy genotípuson belül, valamint előfordult, hogy két törzset, mely egyforma antibiotikum-rezisztencia profillal rendelkezett és egy genotípusba tartozott, két különböző, egymástól földrajzilag is távol eső kórházi osztályról izoláltunk.

Minden genotípusból egy reprezentatív izolátumban kerestünk különböző, elsősorban  $\beta$ -laktám rezisztencia mechanizmusokat. A MBL termelés detektálására irányuló módszerek ellentmondásos eredményekkel zárultak. Fenotípusos módszerekkel kettő kivételével minden törzs MBL termelő törzsnek bizonyult, azonban egyetlen esetben sem sikerült kimutatni sem a MBL enzim génjét, sem a működését olyan módszerekkel, amelyek esetében sejt-mentes extraktummal dolgoztunk. Következésképpen megállapíthatjuk, hogy azon fenotípusos módszerek, amelyek EDTA-ot alkalmaznak a MBL termelés detektálására, nem megbízható, fals pozitív eredményt adhatnak, köszönhetően az EDTA sejtfal-károsító hatásának. Ezen törzsek esetében a magas fokú  $\beta$ -laktám rezisztencia egyéb mechanizmusoknak volt köszönhető, mint az ESBL termelés, efflux pumpák túltermelése, valamint a porin csatorna alulexpresszálása. Rutin mikrobiológiai laboratóriumok számára mindenképpen szükség lenne egy megbízható, gyors és olcsó módszer kidolgozására, mely alkalmas a MBL termelés detektálására. Vizsgálataink során a sejtmentes extraktumot alkalmazó ún. bioassay módszer alkalmasnak bizonyult ezen feladatra.

A 149, cisztás fibrózisos betegből izolált *P. aeruginosa* esetében általánosságban egy magas fokú in vitro antibiotikum-érzékenység volt megfigyelhető, mely ellentétben áll a nemzetközi irodalommal. A carbapenem rezisztens törzsek egyike sem termelt MBL-t, egyetlen ESBL termelő törzset izoláltunk, mely törzs rezisztens volt cefepimre, de érzékeny minden más  $\beta$ -laktám antibiotikumra. Egy törzs esetében detektáltunk aminoglikozid-rezisztencia-gént kódoló class integront, mely törzs rezisztens volt minden vizsgált aminoglikozidra. Relatív magas volt a csak imipenemre rezisztens törzsek aránya, mely törzsek esetében bebizonyítottuk, hogy a rezisztencia hátterében az OprD porin csatorna alultermelése áll.

## 5.2. Molekuláris tipizáló módszerek összehasonlítása

Jelen tanulmányunkban különböző molekuláris tipizáló módszereket hasonlítottunk össze *P. aeruginosa* izolátumok tipizálására. Az 51 multirezisztens izolátumok mindegyikét vizsgáltuk PFGE-se, valamint DiversiLab automatával. Vizsgálataink alátámasztották, hogy a gold standard-nek tekintett PFGE módszer megbízható, nagy felbontóképességű módszer, habár a felszerelés igen drága, a módszer idő- és munkaigényes. Számos tényező befolyásolhatja a PFGE-sel kapott eredményeket, mint a gélbe ágyazott DNS mennyisége, a restriktációs emésztés hatékonysága, vagy ha az izolátum mukoid fenotípusú. A kapott eredmények kiértékelése nagy gyakorlatot igényel.

A DiversiLab automatával kapott eredmények kiértékelése során arra a következtetésre jutottunk, hogy a módszer megbízható, egyszerű és gyors módja *P. aeruginosa* izolátumok tipizálására, nagy felbontóképességű, real-time módszer. A központi adatbázisnak köszönhetően különösen jól alkalmazható járványok estén, a vizsgált izolátumokat akár múltbéli járványokat okozó törzsekkel is össze tudjuk hasonítani. Habár az automata igen drága, mégis hatékony eszköze lehet egy rutin mikrobiológiai laboratóriumnak.

MLST módszerrel a vizsgált izolátumok klonális hovatartozását tudtuk megállapítani, az internetes adatbázisnak köszönhetően nemzetközi viszonylatban is. Mivel a módszer a bakteriális genom konzervatív szakaszainak szekvencia-analízisén alapszik, járványok detektálására kevésbé alkalmas.

A cisztás fibrózisos betegekből izolált *P. aeruginosa* izolátumok esetében igen ellentmondásos eredményeket kaptunk a PFGE-sel és a DiversiLab automata esetében. Az automatával történt PCR reakció során túl sok termék amplifikálódott, különösen a mukoid törzsek esetén a módszer túl diszkriminatívanak bizonyult. A kapott eredmények sem a PFGE-se kapott eredményekkel, sem az antibiotikum rezisztencia profillal, sem pedig a betegek klinikai hátterével nem állt összhangban. PFGE-sel ugyanazt a genotípust sikerült kimutatnunk olyan betegekből, akik egy időben lettek hospitalizálva ugyanazon az osztályon, vagy egy CF-táborban nyaraltak. Mindazonáltal a szegedi cisztás fibrózis központban kezelt betegek körében alacsony volt a keresztfertőződés, köszönhető ez a klinikai személyzet által alkalmazott infekció-kontrollnak (ambuláns betegek különböző időben történő ellátása, kórházi bennfekvést igénylő betegek lehetőség szerint különböző kórteremben történő elhelyezése, stb.) valamint a jó beteg-compliance-nek.

## 6. KÖVETKEZTETÉSEK

Jelen tanulmányunk során bebizonyítottuk, hogy :

- Dél-Magyarországon a **multi- illetve a pánrezisztens *P. aeruginosa* törzsek** előfordulása relatíve alacsony (7 %) volt a 2004-től 2008-ig terjedő időszakban,
- a nemzetközi irodalommal ellentétben az MBL termelő törzsek előfordulása nem gyakori a Szegedi Egyetem Klinikáin,
- a különböző antibiotikum rezisztencia-mechanizmusok megbízható rutin detektálása igen fontos a mikrobiológiai laboratóriumok számára, különös tekintettel azon mechanizmusokéra, melyek epidemiológiai következménnyel járnak,
- kórházi járványok esetén egy gyors, megbízható és hatékony molekuláris tipizáló módszerre van szükség ahhoz, hogy a járványt okozó törzs forrását megtaláljuk, a törzssel fertőződött betegeket megkülönböztessük. Vizsgálataink során a DiversiLab tipizáló automata alkalmasnak bizonyult a feladatra.
- a nemzetközi tendenciát követve az általunk vizsgált járványt okozó törzsek mindegyikére jellemző volt a klonalitás az MLST vizsgálatok alapján,
- a **cisztás fibrózisos betegekből izolált *P. aeruginosa* törzsek** viszonylag magas fokú in vitro antibiotikum-érzékenységgel rendelkeztek, ami ellentmond a nemzetközi irodalomnak,
- ezen törzsek tipizálása során a DiversiLab automata nem bizonyult megbízható módszernek, a törzsek molekuláris tipizálására a PFGE bizonyult alkalmasnak,
- ezekre a törzsekre a magas fokú genetikai diverzitás volt a jellemző, amely összhangban áll a nemzetközi irodalommal,
- néhány, sporadikus esetet leszámítva a betegek közötti transzmisszió alacsony volt, nem izoláltunk járványt okozó törzset, amely szintén ellentmond a nemzetközi irodalomnak.

## A szerző témához kapcsolódó publikációi

Controlling for false positives: interpreting MBL Etest and MBL combined disc-test for the detection of metallo- $\beta$ -lactamases

Csilla Ratkai, Sandra Quinteira, Filipa Grosso, Nuno Monteiro, Elizabeth Nagy and Luísa Peixe

*JAC* (Journal of Antimicrobial Chemotherapy) 2009, 64:657-658 (JAC-2009-0352.R1)

Successful application of the DiversiLab rep-PCR typing system for confirmation of the circulation of a multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* clone in different hospital wards

Csilla Ratkai, Sandra Quinteira, Filipa Grosso, Luísa Peixe and Elizabeth Nagy

*Diagn Microbiol Infect Dis.* (Diagnostic Microbiology and Infectious Disease) 2010 ;67:202-206.

Isolation and characterization of an imported extremely-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing three different extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and hyperproducing two multidrug-efflux pumps.

Ratkai C., Nagy E., Peixe L., Bertalan V., Hajdu E

*J Inf* (Journal of Infection) 2010, 61:511-512

Characterisation of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients suffering from cystic fibrosis in South-East Hungary

Ratkai C., Nagy E., Peixe L., Szabó Á., Hajdu E.:  
under publication

## A témához kapcsolódó kongresszusi előadások, poszterek

The prevalence of metallo-beta-lactamase producing and multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Szeged

Csilla Ratkai

European Antibiotic Awareness Day

Szeged, Hungary, 2008

MBL E-test and MBL Combined disk-test are unreliable for the detection of metallo- $\beta$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*

Csilla Rátkai, Sandra Quinteira, Filipa Grosso, Luísa Peixe, Erzsébet Nagy

36th Meeting of Hungarian Society for Infectology, Székesfehérvár, Hungary

Abstract is available in: Infectology and Clinical Microbiology, 2008; XV: S23

Isolation and preliminary characterisation of carbapenem-resistant, metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains from different hospital wards in Hungary

Csilla Ratkai, József Sóki, Gabriella Terhes, Elizabeth Nagy

1st Central European Forum for Microbiology (CEFARM) and the Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology. Keszthely, Hungary, 2005

Abstract is available in: Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 2005; 52:143

Unreliability of MBL E-test and MBL Combined disk-test for detection of metallo- $\beta$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*

Csilla Ratkai, Sandra Quinteira, Filipa Grosso, Elisabeth Nagy and Luísa Peixe

48th Annual ICAAC/IDSA 46th Annual Meeting. Washington, USA, 2008

Comparison of different methods for the molecular typing of *Pseudomonas aeruginosa*

Csilla Rátkai, Sandra Quinteira, Filipa Grosso, Erzsébet Nagy, Luísa Peixe

XI. Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology. Keszthely, Hungary, 2008

Abstract is available in: Abstract of XI. Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology. 2008

Isolation and characterization of an imported PER-1 ESBL producer *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate

Csilla Rátkai, Sandra Quinteira, Filipa Grosso, Erzsébet Nagy, Luísa Peixe

XI. Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology. Keszthely, Hungary, 2008

Abstract is available in: Abstract of XI. Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology. 2008

Comparison of different molecular methods for the typing of *Pseudomonas aeruginosa*  
Csilla Rátkai, Sandra Quinteira, Filipa Grosso, Erzsébet Nagy, Luísa Peixe  
36th Meeting of Hungarian Society for Infectology. Székesfehérvár, Hungary, 2008  
Abstract is available in: *Infectology and Clinical Microbiology*, 2008; XV:S13

The applicability of three different methods for the molecular typing of *Pseudomonas aeruginosa*  
Csilla Rátkai<sup>1</sup>, Sandra Quinteira<sup>2</sup>, Filipa Grosso<sup>2</sup>, Erzsébet Nagy<sup>1</sup>, Luísa Peixe<sup>2</sup>  
19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID),  
Helsinki, 2009

Isolation and characterization of an imported pan-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate producing three different ESBL enzymes, hyperproducing multidrug-efflux pumps  
Csilla Rátkai<sup>1</sup>, Sandra Quinteira<sup>2</sup>, Filipa Grosso<sup>2</sup>, Erzsébet Nagy<sup>1</sup>, Luísa Peixe<sup>2</sup>  
19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID),  
Helsinki, 2009