

MH Központi Honvédkórház Mikrobiológiai Laboratóriuma

Automata és hagyományos mikrobiológiai rendszerek felhasználása az infekció kontrollban*

Dr. Gyulay Katalin,
Dr. Barcs István, az orvostudomány kandidátusa

Közlésre érkezett: 1998. március 10.

Kulcsszavak: infekció kontroll, surveillance, klinikai mikrobiológia, hemokultúra, automatizáció

A korszerű infekció kontroll a klinikai mikrobiológiai laboratórium aktív részvételére épül. A klinikai mintákból és a kórházhygiénés szűrővizsgálatok során izolált baktériumok incidenciájának és antibiogramjának figyelésével segíti a klasszikus járványügyi felügyelet munkáját. Automatizált mikrobiológiai rendszerek használata a kórokozók részletesebb jellemzésének lehetőségét és az infekciók gyorsabb diagnosztizálását biztosítja, ezáltal az infekció kontroll hatékonyságát fokozza. A Bactec 9050 hemokultúra automata használatával 6 hónap alatt a pozitivitas 12%-kal emelkedett, a detektálási idő 1-6 nappal csökkent. A korábban elkezdett célzott antibiotikum terápia következtében az ápolási idő lerövidülése és az ápolási költségek csökkenése várható.

Az utóbbi években Magyarországon is egyre több előadás és publikáció foglalkozott az infekció kontrollal. A fejlettebb egészségüggyel rendelkező államokban a nosocomialis infekciók megelőzésére irányuló törekvés, az infekció kontroll rendkívüli jelentőségének felismerése évtizedekkel korábban zajlott, mint hazánkban. Valószínűleg a magyar egészségügyi finanszírozás radikális megváltozása és az egészségügy finansziális problémái voltak a közvetlen okai annak, hogy a téma hazánkban is egyre aktuálisabbá vált. Az Egyesült Államok-

ban évek óta a kórházak akkreditációjának nélkülözhetetlen feltétele működő infekció kontroll bizottság létezése. A Népjóléti Minisztérium 19/1996. sz. rendelete alapján Magyarország összes kórházában kötelező infekció kontroll bizottság megalapítása.

Az infekció kontroll feladata

Az infekció kontroll alapvető feladata a kórházba felvételre kerülő, manifeszt infekcióban nem szenvedő, illetve fertőzést nem inkubáló betegek nosocomialis infekciójának megelő-

* A Magyar Honvédség Orvosi Tudományos Tanácsa 1997. évi Konferenciáján, Budapesten, 1998. január 29-én elhangzott előadás szerkesztett változata

zése [11]. Az infekció kontroll rendkívül sokrétű, szerteágazó tevékenység, amely igazi team-munkát, az infektológus, az epidemiológus és a klinikai mikrobiológus állandó, szoros együttműködését igényli [4]. Közleményünkben a klinikai mikrobiológiai laboratóriumok szerepét mutatjuk be e csapatmunkában, valamint összefoglaljuk azokat a régi és új, részben még kipróbálás alatt álló módszereket, amelyeket a KHK Mikrobiológiai Laboratóriuma a minőségi betegellátás és az infekció kontroll szolgáltatába kíván állítani. Az infekció kontroll program nélkülözhetetlen része a surveillance, a hatékony járványügyi felügyelet. Ennek feladata a betegek folyamatos monitorizálásával infekciójuk gyors felismerése, adataik elemzése, valamint a következtetések interpretálása a betegellátásban közvetlenül résztvevőknek [5]. Enélkül a visszajelzés nélkül a surveillance önmagában eredménytelen, nem jelent preventíót, de még kontrollt sem [4]. A surveillance számára leghasználhatóbb adatokat a mikrobiológiai laboratórium szolgáltatja [4, 5]. A mikrobiológus az első, aki észleli valamely osztályon bizonyos patogének halmozott előfordulását, multirezisztens, vagy azonos rezisztencia képű izolátumok megjelenését, ezáltal a mikrobiológiai laboratórium a nosocomialis infekciókkal kapcsolatos információk elsődleges forrása [2, 4]. Éppen emiatt fontos, hogy a kórházhygiénés szűrővizsgálatok és a széklet bakteriológiai vizsgálata is a klinikai mikrobiológiai laboratóriumban történjen, biztosítandó az infekció kontroll átfogó mikrobiológiai hátterét [5].

A nosocomialis infekciók felismerése és megelőzése

A nosocomialis infekciók diagnosztizálásához, illetve a nosocomialis járványok megelőzéséhez szükséges a különböző forrásokból, illetve betegekből kitenyésztett baktérium törzsek gyors összehasonlító vizsgálata, a klinikai izolátumok és a kontaminánsok különválasztása. Hagyományosan ezeket az ún. járványügyi vizsgálatokat az ÁNTSZ laboratóriumi végezték, illetve végzik. A távolságból adódó törvényszerű késedelmes eredményközlés miatt az eredmények csak a járványok retrospektív elemzésére alkalmasak, de megelőzésükre nem. A klinikai mikrobiológiai laboratóriumok többségében rendelkezésre állnak azok a módszerek, amelyekkel a járványtörzsek megfelelően azonosíthatóak lennének, jelentősen lerövidítve ezáltal az infekció tovaterjedését gátló intézkedésekig eltelő időt. A rutin bakteriológiai vizsgálatok mellett az összehasonlító mikrobiológiai vizsgálatoknak is a beteghez, a klinikushoz, az infektológushoz és az epidemiológushoz közeli, *kórházi mikrobiológiai laboratóriumban* kell zajlani [3, 5].

A nosocomialis infekciókat előidéző kórokozók döntő többsége gyakori, vagy univerzális tagja az emberi normál flórának, illetve környezetünknek. Az összehasonlító mikrobiológiai vizsgálatok célja a különböző helyekről, betegekből izolált törzsek klinikai relevanciájának megítélése, az izolátumok azonos klónhoz tartozásának igazolása, illetve cáfolása [2].

Bakteriológiai tipizáló módszerek

A nosocomialis patogének jellemzésére nem elegendő a species szintű meghatározás. Epidemiológiai jellemzésükre számos tipizáló módszert (1. táblázat) fejlesztettek ki [4, 11]. Egy adott intézményen belül a mikrobiológiai laboratórium felszereltsége, anyagi lehetőségei és szemlélete határozza meg a törzsek karakterizálására használt módszereket.

A hagyományos tipizáló módszerek közé tartozik az antibiotikum érzékenységi vizsgálat, a biotipizálás, a szerotipizálás, a bacteriocin tipizálás, továbbá a fágtipizálás.

Az antibiotikum érzékenységi vizsgálat, bár szoros értelemben nem tipizálási eljárás, járványügyiileg értékes információt nyújthat, különösen azért, mert minden törzssel elvégzik [2, 4]. Egy adott pillanatban eltérő antibiotikum érzékenységgű két törzs biztosan más klónhoz tartozik.

A biotipizálás a törzsek biokémiai profiljának meghatározása. Alapja, hogy a speciesre jellemző, állandó tulajdonságok mellett léteznek variábilisak is. Több reakció eredményét egy adott kódrendszer szerint csoportosítva adódik a biotípus [2].

A fágtipizálásra nagy munkai igényessége miatt nem érdemes referencia laboratóriumokon kívül berendezkedni. Az eredményközlés késedelmén túl további hátránya, hogy kevés nosocomialis patogén megbízható jellemzésére használható. Nincs, vagy rossz reprodukálhatóságú a módszer az *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, koalugáz-negatív *Staphylococcus* (KNS), *Enterococcus*, *Haemophilus* izolátumok jellemzésére [4].

◊ Hagományos tipizáló módszerek

- ◆ Antibiotikum érzékenység meghatározása
- ◆ Biotipizálás
- ◆ Szerotipizálás
- ◆ Bacteriocin tipizálás
- ◆ Fágtipizálás

◊ Molekuláris biológiai módszerek

- ◆ Nukleinsav alapú módszerek
 - Plazmid profil
 - Restriktációs endonukleáz profil
 - Hibridizáció
 - Pulzálatott mezejű elektroforézis
 - Polimeráz láncreakció
 - Ligáz láncreakció
- ◆ Fehérje alapú módszerek
 - Immunoblot
 - Poliakrilamid gél-elektroforézis
 - Multiókuszos enzim-elektroforézis

I. táblázat: Járványügyi tipizáló módszerek

A fejlett egészségüggyel rendelkező országokban ma már egyre gyakrabban **molekuláris biológiai** módszereket használnak a törzsek epidemiológiai tipizálása során [4, 11]. A nukleinsav-alapú technikák közül leghatékonyabb a restriktációs endonukleáz profillal kombináltan alkalmazott polimeráz láncreakció (PCR). A PCR kiválasztott kromoszómális vagy extrakromoszómális nukleinsav szakaszok mennyiségi megsokszorozásával növeli a DNS metodikák érzékenységét. A diagnosztikában elsősorban a nehezen, vagy nem tenyészthető kórokozók gyors kimutatására használják. A *Mycobacterium*, a *Chlamydia* és a *Neisseria gonorrhoeae* infekciók gyors diagnosztizálása mellett tervezzük az eljárás bevezetését a nosocomialis patogének járványügyi összehasonlítására is. A moleku-

lárís módszerek az előzetesen kiválasztott izolátumok még részletesebb vizsgálatát teszik lehetővé, ezzel a törzsek azonos eredete kétségtelenné tehető, vagy ellenkezőleg, cáfolható. A különböző mintákból származó izolátumok jellemzőinek összehasonlítása lehetővé teszi a klinikailag releváns és a kolonizáló törzsek elkülönítését és a kórházban ápoltak kereszt-infekcióinak dokumentálását [11]. Hátrányuk viszont, hogy általában bonyolult és drága műszerezettséget igényelnek, ezért a kórházi mikrobiológiai laboratóriumok számára egyelőre viszonylag szűk körben elérhetőek hazánkban.

A baktériumok tipizálására használt klasszikus módszerek előnye, hogy olcsók, naponta sok vizsgálat elvégezhető, az eredmények jól reprodukálhatók és megbízhatók, vagyis járványügyi felhasználásra alkalmasak [2]. A fágtypizálás kivételével laboratóriumunkban lehetőség van a fenti módszerek alkalmazására. A nyolcvanas évek második felétől a nosocomialis infekciókban addig főszerepet játszó Gram-negatív baktériumok mellett egyre jelentősebb szerepre tettek szert a Gram-pozitív baktériumok, ezen belül olyanok is, amelyeket azelőtt apatogénnek tartottak [5, 11, 12, 13]. Az összehasonlító mikrobiológiai vizsgálatok alapvető jelentőségűek a methicillin-rezisztens *Staphylococcus aureus*, a KNS-ok, az enterococcusok, a Gram-negatív baktériumok, ezen belül az utóbbi időben egyre nagyobb jelentőségű acinetobacterek és pseudomonasok, valamint a gombák okozta nosocomialis infekciók diagnosztizálásában és megfékezésében.

A KNS-ek, mint humán kórokozók in-

fektológiai megítélése gyökeresen megváltozott [1, 5, 10, 13]. Nosocomialis fertőzések, illetve immunszupprimált betegek infekcióinak kórokozóiként jelentős járványtani szerepre tettek szert [1, 13]. Bizonyos szituációkban ma már a mikrobiológiai leleten szereplő KNS eredmény nem kielégítő. Szemléletváltásra van szükség a klinikusok és a mikrobiológusok részéről egyaránt. A jelenleg elfogadott közel 30 KNS species egymástól való elkülönítése a törzs kórokozó szerepének megítélésében, vagy kórházi járványok felderítésében perdöntő lehet. A species identifikálás nem segít ebben, mert nincs olyan KNS species, amely jelenléte egyértelműen körjelző lenne. Több tulajdonság összehasonlító vizsgálatán alapuló tipizálásra van szükség [1]. A kórházi laboratóriumok számára elérhető módszerek közül az antibiotikum rezisztencia kép és a biotípus meghatározása terjedt el, amelyeket kiegészíthet az extracellularis nyákanyag, az ún. slime kimutatása. Jelenleg több, kereskedelmi forgalomban lévő hagyományos, félautomata és automata, biotipizálásra alkalmas rendszer, illetve teszt (Lachema, Biotest, Crystal, MicroScan) felbontóképességének összehasonlítását végeztük. A fenti céloknak legmegfelelőbbet vezetjük be majd a törzsek rutinszerű biotipizálására. A mikrobiológiai leleteken feltüntetett rezisztencia kép és biotípus alapján a klinikus is ki tudja választani az összetartozó izolátumokat, esetleg a fertőzés góca is megállapítható [1]. A laboratórium ezáltal segítséget nyújt a további infektológiai, epidemiológiai és kórházhigiénés teendőket illetően. A rendkívüli mértékben emelkedő antibiotikum rezisz-

tencia, különösképpen a methicillin-oxacillin rezisztencia indokolja hatékony infekció kontroll bevezetését erre a baktérium csoportra is [10, 13].

A *Pseudomonas aeruginosa* fakultatív patogén, klasszikus nosocomialis kórokozó, klinikai jelentősége nem vitatható. Az általa okozott infekciók spektruma széles. Az intenzív osztályon kezelt betegek 70%-a a felvételt követő 2-3 nap után kolonizálódik az osztályra jellemző baktérium flórával, köztük pseudomonasokkal. Ubiquiter jellegük megnehezíti kórokozó szerepük megítélését. A legsúlyosabb *Pseudomonas* infekció, a szepszis esetén a bakteriémia megszüntetésében az egyik legfontosabb feladat a kiindulási góc felkutatása [6]. A beteg különböző váladékaiból kitenyésző, esetleg azonos rezisztencia képű izolátumok biokémiai profiljának meghatározása jelentős segítség a klinikusnak az infekció kiindulási helyének felderítésében. A biotípus alapján a különböző klónhoz tartozó *P. aeruginosa* törzsek egymástól elkülöníthetők.

Felnőttekben gyakran a gyomor-béltraktus a kiinduló forrása a bakteriemiának, illetve a gépi lélegeztetett betegek pneumóniájának [6, 9]. Ezért jelentős előrelépés, hogy 1997 szeptembere óta a kórházban fekvő betegek székettenyésztését nem külső laboratórium végzi, hanem a beteg egyéb tenyésztési eredményeit, alapbetegségét ismerő, a klinikussal szoros kapcsolatban álló, ún. házi mikrobiológus.

A realitás talaján maradva az mondható, hogy a *P. aeruginosa* infekciók

megelőzése szinte lehetetlen. Túl sok az olyan kockázati tényező, amely ezen ubiquiter, számos virulencia faktorral rendelkező baktérium okozta megbetegedéseknek lehetőséget teremt. A pseudomonasok esetében az összehasonlító mikrobiológiai vizsgálatok bevezetésének elsődleges célja a keresztfertőzések, epidémiák megelőzése, vagyis az infekciók sporadikus szinten tartása [6]. Reméljük, hogy a PCR biztosította lehetőségek kihasználására e téren is mielőbb módunk lesz.

A hemokultúra (HK) vizsgálatok szerepe az infekció kontrollban

Az infekció kontroll hatékonyságát fokozza az egyik legsúlyosabb infekció, a szepszis gyors és megbízható laboratóriumi diagnosztikájának megteremtése. Mivel a hagyományos HK rendszerek ezt nem biztosítják, automata hemokultúra inkubáló és detektáló készülék használatára tértünk át. Párhuzamos vizsgálatokat végeztünk a kórházban korábban használt, mechanikus detektálású Signal (Oxoid) és az automata detektálást biztosító Bactec Plus (Becton- Dickinson) hemokultúra palackokkal. Ez utóbbiak többféle, antibiotikum hatást közömbösítő műgyantát tartalmaznak, ezáltal szignifikánsan, akár 30%-kal is növelik a pozitivitást [7, 8]. Prospektív, összehasonlító vizsgálatunk során a KHK Általános Sebészeti osztályán fekvő, szepikus állapotú betegektől párhuzamosan történt mintavétel mindkét típusú palackba. Az automata rendszerrel detektált bakteriemiák száma 12%-kal magasabb volt, mint a hagyományos palackok esetén. Ahol a HK párok mindkét tagja pozitívvá vált, összeha-

sonlítottuk a detektálásig eltelt időket. Az esetek 42%-ában az automata rendszer több, mint 12 órával korábban jelezte a pozitivitást (II. táblázat).

A mintavétel előtt elkezdett antibiotikum terápia rontja a kórokozó izolálásának esélyét a hemokultúrából. A Bactec Plus palackok műgyanta tartalmának tulajdoníthatóan jelentős mértékben nőtt a kórokozó izolálásának gyakorisága azokban az esetekben, ahol a beteg a mintavételt megelőzően már antibiotikum kezelésben részesült (III. táblázat).

A mikrobiológiai laboratórium lehetőségeinek fejlesztésével igyekszik gyors és megbízható eredményeket közölni a klinikusokkal, valamint a törzsek eddiginél részletesebb jellemzésével aktívan résztvenni a nosocomialis járványok diagnosztizálásában és terjedésük megelőzésében. Nem arra törekszünk, hogy ugyanazokat a vizsgálatokat végezzük, mint az erre szakosodott járványügyi laboratóri-

Izolátum	Epizódok száma		
	6 óra*	6-12 óra*	12 óra*
Gram-pozitív			
<i>S. aureus</i>	-	2	1
KNS**	5	-	3
<i>Streptococcus</i>	1	-	-
<i>Enterococcus</i>	4	-	1
Gram-negatív			
<i>E. coli</i>	-	1	-
<i>Klebsiella/Enterobacter</i>	1	1	2
<i>Citrobacter</i>	-	-	1
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	1
<i>Acinetobacter</i>	-	-	2

* Időkülönbség, amivel a palackár Bactec tagja előbb vált pozitívvá, mint a Signal.

** Koaguláz-negatív staphylococcus

II. táblázat: Pozitív Bactec Plus és Oxoid Signal hemokultúra palackok detektálási ideje közötti különbség

umok, hanem, hogy ugyanazt a célt klinikai mikrobiológiai laboratóriumi feltételek mellett gyorsabban és megbízhatóbban ériük el. Ehhez az elérhető módszerek kombinálásával minőségileg új, összehasonlító szisztémát

Izolátum	Az izolátumok száma					
	Antibiotikum mellett			Antibiotikum nélkül		
	Mindkét palack	Csak Bactec	Csak Signal	Mindkét palack	Csak Bactec	Csak Signal
Gram-pozitív						
<i>S. aureus</i>	-	-	-	3	-	-
KNS*	6	5	2	2	-	1
<i>Streptococcus</i>	1	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus</i>	4	2	-	1	-	-
Egyéb	-	1	-	-	-	-
Gram-negatív						
<i>E. coli</i>	-	-	-	1	-	-
<i>Klebsiella/Enterobacter</i>	2	-	-	2	1	-
<i>P. aeruginosa</i>	1	-	2	-	-	-
<i>Acinetobacter</i>	2	-	-	-	-	-

* Koaguláz-negatív staphylococcus

III. táblázat: Antibiotikum terápia hatása a hemokultúra pozitivitásra

dolgozunk ki a Népjóléti Minisztérium által támogatott T-10 064/1996 számú, „Az összehasonlító mikrobiológiára alapozott infekció kontroll” című kutatási témánk keretében. Ezzel próbálunk meg segítséget nyújtani az aktív, az eseményeknek elémelő infekció kontroll megteremtéséhez.

Köszönetnyilvánítás: A szerzők köszönetüket fejezik ki együttműködésükért dr. Orgován Györgynek, dr. Kiss Péternek, valamint a KHK Mikrobiológiai Laboratórium szakdolgozóinak értékes technikai közreműködésükért.

IRODALOM

- [1] Barcs, I.: A coagulase negatív staphylococcusok klinikai és járványügyi jelentősége. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia*, 1994, 1: 103.
- [2] Barcs I.: Összehasonlító mikrobiológiai vizsgálatok a klinikai és a járványügyi mikrobiológiában. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia*, 1996, 3: 142.
- [3] Barcs I., Paróczay K.: A korszerű klinikai mikrobiológia és kórházhigiéne kapcsolata az infekció kontrollon keresztül. *Honvéddorvos*, 1996, 48: 180.
- [4] Casewell, M.W.: Surveillance of infections in hospitals. *J. Hosp. Infect.*, 1980, 1: 293.
- [5] Emori, T.G., Gaynes, R.P.: An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1993, 428.
- [6] Filetóth Zs.: A *Pseudomonas aeruginosa* okozta infekciók jelentősége az intenzív osztályokon. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia*, 1995, 2: 146.
- [7] Goldenbaum, P., Stafford, E., Talbot, B.: Laboratory study of the neutralization of antimicrobials by resin-containing blood culture medium. In: Sixth European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Seville, Spain, 1993, Abstract 688.
- [8] Koontz, F.P., Flint, K.K., Reynolds, J.K., Allen, S.: Multicenter comparison of high volume (10 ml) NR Bactec Plus and the standard (5 ml) NR Bactec system. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 1991, 14:

111.

- [9] Magyar T.: Nosocomialis pneumóniák megelőzése és terápiája. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia*, 1995, 2: 134.
- [10] Mehtar, S.: The continuing problem of "hospital staphylococci": why?. *J. Chemother.*, 1994, 6 (Suppl. 4): 25.
- [11] Pfaller, M.A.: Microbiology: the role of the clinical laboratory in hospital epidemiology and infection control. In: Wenzel, R.P. (szerk.): Prevention and control of nosocomial infections. Williams and Wilkins, Baltimore – Hong Kong – London – Munich – Philadelphia – Sidney – Tokyo, 1993, 385. old.
- [12] Szalka A.: Szepszis és terápiás lehetőségek. *Gyógyszereink*, 1993, 43: 307.
- [13] Vincent, J.L., Bihari, D.J., Suter, P.M., Bruining, H.A., White, J., Nicolas-Chanoin, M.H., Wolff, M., Spencer, R.C., Hemmer, M.: The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. *JAMA*, 1995, 274: 639.

**Katalin Gyulay, M.D.,
I. Barcs, Ph.D.**

Automatized and classical microbiological methods for infection control

Recent methods used in infection control is based on an active role of the clinical microbiology laboratory which helps surveillance with collecting incidence and antibiotic resistance data of clinical and environmental isolates. Applying automatized systems results in more effective characterization of isolates and rapid diagnosis of infections leading to more efficient hospital infection control. Using automatized blood culture system, rate of positivity was increased in 12%, respectively detection time was significantly shorter.

*Dr. Gyulay Katalin,
1553 Budapest Pf. 1.*