

# Négy potenciális patogén légúti baktérium tünetmentes hordozásának vizsgálata közösségbe járó gyerekek körében

Doktori tézisek

**Kovács Eszter Tamara**

Semmelweis Egyetem  
Patológiai Tudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Dobay Orsolya, PhD, egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Emőd Levente, DSc, emeritus professzor

Dr. Zelles Tibor, PhD, egyetemi docens

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Buzás Edit, DSc, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Csire Márta, PhD, laborvezető

Dr. Lohinai Zsolt, PhD, egyetemi docens

Budapest  
2021

## Bevezetés

A *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), a *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), a *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) és a *Moraxella catarrhalis* (*M. catarrhalis*) gyakori légúti kórokozók. Széles skálán mozgó fertőzéseket képesek okozni, az enyhe lefolyásútól kezdve egészen a súlyos, életet veszélyeztető betegségekig, mint a bakteriémia, meningitis és pneumonia. A *S. pneumoniae*, a *H. influenzae* és a *M. catarrhalis* gyakran okoznak akut középfülgyulladást, ami az antibiotikum-felírások elsősorú oka világszerte. A *S. aureus* rengeteg virulencia faktorának köszönhetően különféle betegségeket képes előidézni, melyek két csoportba oszthatók: toxin mediálta fertőzések, illetve a baktérium közvetlen inváziója által okozottak. Gyakran azonban tünetmentesen is hordozzák őket, az erős kórokozó-képességük ellenére, főleg közösségbe járó kisgyerekek. A gyerekekkel ellentétben a felnőtteket kevésbé kolonizálják ezek a baktériumok, emiatt a felnőttek akkor fertőződnek, ha például érintkeznek a hordozó gyerekekkel. Ezáltal a hordozó gyerekek jelentős forrásai lehetnek a környezetükben kialakuló fertőzéseknek.

Jelenleg a *S. pneumoniae* és a *H. influenzae* ellen rendelkezünk védőoltással. A 23 valens pneumococcus elleni poliszacharid vakcina (PPV23) tisztított tok poliszacharidokat tartalmaz, így védelmet nyújt a jelenleg ismert több, mint 95 szerotípus közül 23 ellen. Sajnos a poliszacharid vakcinák csak gyengén immunogének két éves kor alatt, mivel a B sejtes immunválasz T sejt függő és a poliszacharidok elleni válasz T sejt független, emiatt pedig nem alakulnak ki memória B sejtek.

Ennek a problémának a kiküszöbölésére fejlesztették ki a konjugált védőoltásokat (PCV-k). Először a PCV7 került bevezetésre az USA-ban 2000-ben, majd a PCV10 és PCV13 követték. A PCV7 sikeresen csökkentette a PCV7 szerotípusok arányát az invazív megbetegedések körében, viszont a nem-PCV7 szerotípusok előfordulása növekedett, különösen a 19A szerotípusé.

Magyarországon 2005-ben vált elérhetővé a PCV7, ezt 2010-ben a PCV13 váltotta, ez pedig 2014 júliusa óta a kötelező védőoltások közé tartozik.

A konjugált Hib vakcina a *H. influenzae* b szerotípusának tokjából áll diphteria toxoidhoz kötve. Hasonlóan a fent említett pneumococcus konjugált védőoltáshoz, itt is protein hozzáadására volt szükség, hogy a T limfociták is aktiválódjanak az immunválasz során. A Hib védőoltás 3+1-es sémában kötelező Magyarországon 1999 óta.

Gyorsan terjed a penicillin rezisztencia illetve a penicillin mérsékelt érzékenység a *S. pneumoniae* törzsek között. A rezisztencia egy szerkezetében módosult penicillinkötő fehérjének tulajdonítható.

A penicillin rezisztencia a *S. aureus* izolátumok körében is jellemző. A methicillin rezisztens *S. aureus* (MRSA) törzsek jelentik a legnagyobb problémát, mivel ezek rezisztensek a penicillináz-rezisztens penicillinekre is és minden  $\beta$ -laktám antibiotikumra. Az első MRSA törzset 1961-ben írták le, két évvel azután, hogy a methicillint elkezdték alkalmazni a klinikumban. Az orrban történő *S. aureus*, valamint MRSA hordozás megszüntetésére mupirocin kenőcsöt használnak a leggyakrabban.

Különböző rezisztencia-mechanizmusok által, a *H. influenzae* izolátumok is rezisztensek lehetnek a  $\beta$ -laktám antibiotikumokkal szemben. Ami a *M. catarrhalis* törzseket illeti, majdnem 100%-uk képes  $\beta$ -laktamázt termelni.

Mivel a vizsgált, négy baktérium más antibiotikumokkal szemben is rezisztens lehet, ezért az általuk okozott fertőzések kezelése egyre bonyolultabbá és költségesebbé vált.

## Célkitűzés

Jelen tanulmány célja négy fontos, légúti patogén (*S. pneumoniae*, *S. aureus*, *M. catarrhalis* és *H. influenzae*) orrban való hordozásának vizsgálata volt három különböző korcsoportba tartozó, közösségbe járó gyerekek között 2015-2016-ban. Ez volt az első tanulmány Magyarországon, amely a *M. catarrhalis* és *H. influenzae* tünetmentes hordozását mérte fel. Az egyéni hordozási arány mellett a baktériumok együttes hordozását is vizsgáltuk.

Megpróbáltuk meghatározni a hordozásra hajlamosító kockázati tényezőket és a törzsek antibiotikum rezisztenciáját.

A szerotípus eloszlást is vizsgáltuk adott esetben. A tanulmány célja volt még a pneumococcus konjugált védőoltások szerotípus váltásra, valamint a másik három faj hordozására kifejtett hatását vizsgálni. Magyarország jó modell a védőoltások hatékonyságának vizsgálatára, mivel itt nagyon szigorúak a védőoltások beadására vonatkozó szabályok, ellenben néhány európai országgal, ahol erős szkepticizmus uralkodik.

Az összes *H. influenzae* és *S. aureus* törzs és néhány kiválasztott szerotípusú *S. pneumoniae* izolátum genetikai rokonságát meghatároztuk, hogy képek kapjunk a klonális terjedésükről. Négy kiválasztott, 19F szerotípusú *S. pneumoniae* törzset multilokusz szekvencia tipizálással (MLST) is megvizsgáltunk, mivel ez a szerotípus meglepően nagy arányban fordult elő annak ellenére, hogy ezt már a PCV7 is tartalmazta és ez a szerotípus kiemelten képes invazív kórképeket okozni.

Kaptunk néhány klinikai pneumococcus izolátumot a vizsgált időszakból (2015-2016), hogy összehasonlíthassuk a szerotípus eloszlását és az antibiotikum rezisztencia mintázatát a klinikai és a hordozott izolátumoknak.

Az epidemiológiai felmérések értékesek, segítségükkel megjósolhatók a jövőbeli domináns szerotípusok és genotípusok és hogy mely típusok fordulnak elő az invazív betegségekben. Továbbá létfontosságú információkkal szolgálhatnak, amelyek segítik a megelőzést, ellenőrzést és a vakcinafejlesztést.

## Módszerek

### Vizsgálati csoportok

Összesen 580 tünetmentes gyermeket teszteltünk bölcsődékben, óvodákban és egy általános iskolában 2015 márciusa és 2016 májusa között, akik három különböző korcsoportba tartoztak (1-3 év, 3-6 év, 6-13 év).

A tanulmány második részeként 146 klinikai pneumococcus izolátumot kaptunk a Semmelweis Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetétől, Budapestről, ugyanabból az időszakból. Színtenyészeteket kaptunk véres agar lemezekben, melyeket már rutin laboratóriumi vizsgálatokkal azonosítottak.

A mintákat steril vattapálcával vettük mindkét orrlyukból, majd ezt követően a vattapálcát aktív szén tartalmú Amies transzporttáptalajba (Transwab, Medical Wire & Equipment, Corsham, UK) helyeztük. A mintavevőket 24 órán belül a mikrobiológiai laborba szállítottuk. A résztvevők szülei egy kérdőívet is kitöltöttek a vizsgált kockázati tényezőkkel kapcsolatban.

### *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *H. influenzae* és *M. catarrhalis* azonosítása

Az orrminták leoltása Columbia véres agar lemezre történt *S. pneumoniae* és *S. aureus* esetében, illetve vancomycin tartalmú csokoládé agar lemezre a *H. influenzae* és a *M. catarrhalis* szelektív tenyésztése érdekében. Színtenyészetet hoztunk létre azokból a telepekből, amelyek fajspecifikus fenotípust mutattak. Ezek a fenotípusok a következők voltak: Pneumococcus esetében a mukoid vagy lapos telepeket, amelyek a közepükön bemélyedtek és  $\alpha$ -hemolizáltak véres agaron, tovább vizsgáltuk optochin érzékenységre (5 $\mu$ g korongok, Mast Group Ltd., Bootle, UK). Ha a telep  $\beta$ -hemolizált és kataláz és clump-teszt (Pastorex Staph-Plus Kit, Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) pozitív volt, *S. aureus* törzset feltételeztünk. A csokoládé agar lemezen, amely X-és V-faktorról volt kiegészítve, a sima, kerek, színtelen vagy szürkés telepeket *H. influenzae*-ként azonosítottuk és ezt konfirmáltuk egy pozitív kataláz és oxidáz teszttel is. A *M. catarrhalis* gyakran színtenyészetként nőtt a csokoládé agar lemezen. Ezek a szabálytalan szélű, tipikusan hófehér telepek képesek voltak akadálytalanul végigcsúszni a felszínen, ha oltókaccsal megtöltük és oxidáz pozitívak voltak. A fenotípusosan megerősített törzseket speciális fagyasztó gyöngyön (Cryobank, Mast Group Ltd., Bootle, UK) -80°C-on tároltuk további feldolgozásig.

Minden törzs esetében genetikai szintű azonosítást is végeztünk. Minden fajra nézve egy fajspecifikus gént amplifikáltunk egy-egy polimeráz láncreakció (PCR) során: *lytA-S. pneumoniae*, *nucA-S. aureus*, *ompP2-H. influenzae*, *16S rRNA* szekvencia-*M. catarrhalis*.

## Szerotipizálás

A pneumococcusok szerotípusának meghatározáshoz a latexagglutinációt (Pneumotest Latex Kit, Statens Serum Institut, Koppenhága, Dánia) használtuk. A faktor meghatározását szerotípus specifikus PCR-rel végeztük vagy Quellung teszttel, amit a Nemzeti Népegészségügyi Központ vagy a Német Nemzeti Streptococcus Referencia Laboratórium (GNRCS) kivitelezett.

*H. influenzae* és *M. catarrhalis* szerotipizálásra PCR-t használtunk.

## Antibiotikum érzékenység meghatározása

Agar hígítós módszerrel határoztuk meg a törzsek minimális gátló koncentrációját (MIC). A törzseket az alábbi antibiotikumokra teszteltük (mindegyiket a releváns szerekre): penicillin, ampicillin, amoxicillin-klavulánsav, oxacillin, cefotaxim, imipenem, tetracyclin, erythromycin, clindamycin, gentamicin, ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, vancomycin, mupirocin és trimethoprim/sulfamethoxazol (TMP/SMX). A 0,25 mg/l-nél nagyobb oxacillin MIC-cel rendelkező *S. aureus* törzseket tovább teszteltük korongdiffúziós módszerrel 30 µg cefoxitin korongokat (Bio-Rad) használva. Az *S. aureus* törzsek mupirocin érzékenységét E-teszttel (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Italy) határoztuk meg. A kapott eredményeket az EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) által javasolt értékek alapján interpretáltuk.

A mupirocin rezisztens *S. aureus* törzseket tovább vizsgáltuk, hogy eldöntsük, alacsony vagy magas szintű rezisztenciával rendelkeznek-e.

Egy duplex PCR során, a *nucA* mellett a *mecA* gén jelenlétét is szűrtük, hogy kimutathassuk a meticillin rezisztens izolátumokat.

A makrolid rezisztens *S. pneumoniae* izolátumok esetén négy lehetséges rezisztencia gén (*ermA*, *ermB*, *ermTR*, *mefE/A*) jelenlétét ellenőriztük PCR-rel.

Az ampicillin rezisztens *H. influenzae* izolátumok  $\beta$ -laktamáz termelő képességét nitrocefín koronggal (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) teszteltük.

## Genotipizálás pulzáló mezejű gélelektroforézissel (PFGE)

A *S. pneumoniae*, *S. aureus* és a *H. influenzae* törzsek genetikai kapcsolatát PFGE-vel vizsgáltuk. A teljes bakteriális genomot *SmaI* restrikciós enzimmel emésztettük. A PFGE mintázatok elemzéséhez (normalizáció, gélkép összehasonlítás és dendrogram készítés) a

BioNumerics szoftver 2.5-ös verzióját (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) használtuk.

### *S. pneumoniae* izolátumok MLST tipizálása

Négy, 19F szerotípusú *S. pneumoniae* törzset tipizáltunk MLST segítségével a PFGE dendrogramjuk alapján. Ebben az esetben 7 meghatározott háztartási gén (*aroE*, *gdh*, *gki*, *recP*, *spi*, *xpt*, *ddl*) PCR-el történő felszaporítása történt az MLST weboldalon közzétett primerek segítségével. A PCR termékeket megtisztítottuk és elküldtük szekvenálásra (BIOMI Ltd., Gödöllő). A kapott szekvenciákat összehasonlítottuk az MLST adatbázisban található adatokkal, így megkaptuk a törzsek szekvencia típusát.

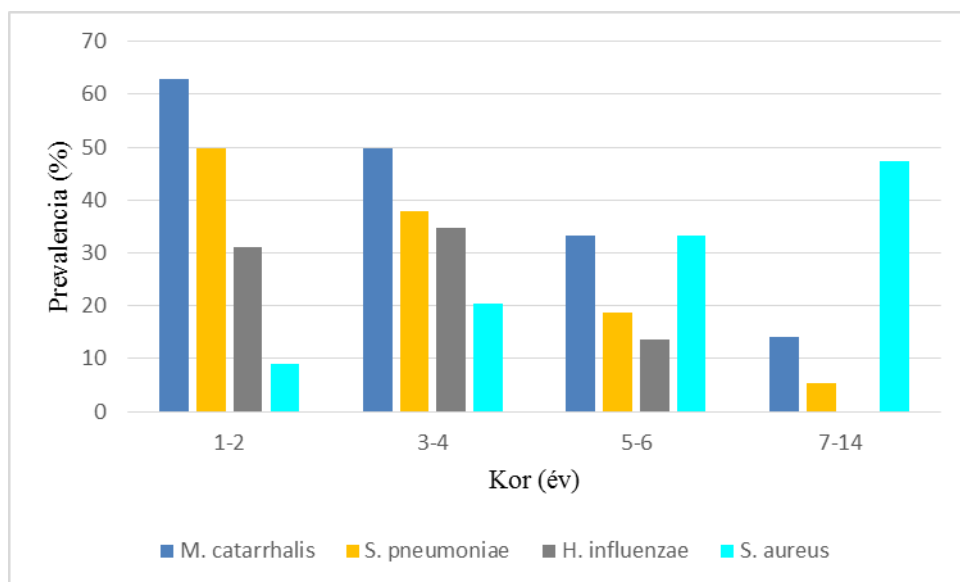
### Statisztikai elemzés

A statisztikai korrelációt a rizikófaktorok esetében Fisher-egzakt teszttel állapítottuk meg a kis mintaszám miatt. A különbséget 95%-os konfidenciaszint ( $p < 0,05$ ) érték esetén tekintettük szignifikánsnak.

## Eredmények

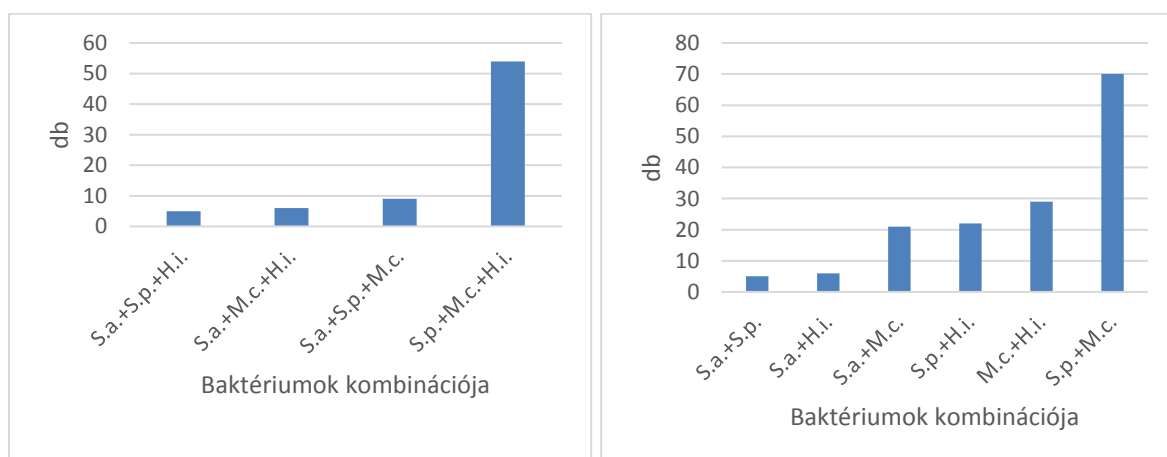
### Hordozási arány

Az 580 gyerek közül, 442-en (76,2%) hordoztak legalább egyet a négy faj közül. Megfigyeltük egy korról összefüggő prevalenciát. A *M. catarrhalis*, *S. pneumoniae* és a *H. influenzae* hordozás csökkent a korral, míg a *S. aureus* előfordulása ellentétes tendenciát mutatott (1. ábra).



### 1. ábra. A négy baktériumfaj előfordulása

Többszörös hordozás gyakrabban fordult elő *S. aureus* nélkül, ez a kettős és hármas hordozás esetében vált a legnyilvánvalóbbá (2. ábra).



### 2. ábra. Hármas és kettős hordozás előfordulása

A statisztikai elemzés során szignifikáns negatív kapcsolatot találtunk a *S. aureus* és a *S. pneumoniae* illetve a *M. catarrhalis* hordozás között. Közel szignifikáns negatív eredményt kaptunk *S. aureus* és *H. influenzae* esetében. Másrészről pozitívan korrelált egymással a *S.*



*pneumoniae-H. influenzae, S. pneumoniae-M. catarrhalis* és a *H. influenzae-M. catarrhalis* hordozás.

### Kockázati tényezők

Az általános iskolás csoportban a fiúk bizonyultak gyakoribb *S. aureus* hordozóknak. Az összesített csoportban (bölcsődék, óvodák és az általános iskola adatai voltak összesítve) szignifikánsan többen hordoztak *S. aureus*-t, akiknek volt testvérük. Az antibiotikum használat a mintavétel előtti két hétben viszont negatívan hatott a hordozásra (összesített adatok). Szintén az antibiotikum használat negatívan hatott a *H. influenzae* hordozásra (viszont csak az óvodás korcsoportban). Végezetül a passzív dohányzás negatívan befolyásolta a *S. pneumoniae* hordozást. A vizsgált tényezők közül egy sem befolyásolta a *M. catarrhalis* hordozást.

### Szerotípus eloszlás

#### *S. pneumoniae*

A 208 pneumococcus hordozó között összesen 210 törzset izoláltunk, mivel kettős hordozást találtunk két lány esetében. Alig találtunk PCV13 szerotípusokat a három csoportban: 4,8%-ot (19F, 19A) a bölcsődékben, 9,8%-ot (19F, 9V) az óvodákban és 25,0%-ot (7F) az általános iskolában. Ezzel szemben a PPV23 lefedettség nagyobb volt: 34,5% (15B, 11A, 10A, 9N, 33F, 22F), 39,0% (11A, 15B, 10A, 17F) és 0,0%. A 15B (17,0%) volt a vezető szerotípus a bölcsődékben és a 11A (26,8%) az óvodákban. A korral növekvő előfordulást figyeltünk meg a 23B (2,4% bölcsődékben, 9,8% óvodákban és 25,0% az általános iskolában), a 11A (6,7% bölcsődékben, 26,8% óvodákban) és a 6C (1,8% bölcsődékben, 9,8% óvodákban) esetében. A 15B és a 24F csökkenő tendenciát mutatott: 17,0%, 4,9% és 11,5%, 0,0%. Mind a PCV13 (4,8% és 9,8%), mind a PPV23 (34,5% és 39,0%) lefedettség nagyobb volt az óvodákban, mint a bölcsődékben.

A klinikai mintákat két csoportra osztottuk, hogy könnyen összehasonlíthassuk az egy korcsoportba tartozó hordozókat és pácienseket. A P1-be tartoztak a 7 évnél fiatalabb páciensek, a P2-be pedig a 7 évesek és az ennél idősebbek, akik valószínűleg nem kaptak pneumococcus elleni védőoltást. A P1-ben a PCV13 lefedettség 17,5% volt, a PPV23 pedig 22,2%, míg ugyanezek a számok a P2-ben 32,5% és 28,9% voltak. A 7 évnél fiatalabb hordozók összességében látványos vakcina lefedettséget produkáltak, mindössze 5,8%-uk volt PCV13 és 35,4%-uk PPV23 szerotípus.

A 19F mindhárom csoportban jelen volt (7 évnél fiatalabb hordozók, P1 és P2), mint kiemelkedő PCV13 szerotípus, míg a 3-as szerotípus egyáltalán nem volt jelen a hordozóknál.

Ellenben a 3-as szerotípus volt a vezető típus a P2-es csoportban (15,7%), ami megmagyarázza a magas PCV13-as lefedettséget. A PPV23-as szerotípusok közül a 15B volt a leggyakoribb a hordozók körében (14,6%) és a P1-ben (9,5%), míg csak 2,4%-nyi volt a P2-ben. Érdekes, hogy a 11A volt a vezető PPV23-as szerotípus a P2-ben (12,0%) és ez volt a második helyen a P1-ben (7,9%) és a hordozók (10,7%) között is.

#### *H. influenzae*

Az általános iskolások között nem izoláltunk *H. influenzae*-t. Az óvodákban talált 37 izolátum közül 33 (89,2%) nem tipizálható (NTHi) volt és 4 db f szerotípust (10,8%) azonosítottunk. A bölcsődékben 115 izolátum közül 110 volt NTHi (95,7%), 3 f (2,6%) és 2 e (1,7%) szerotípusú. B szerotípust az egész vizsgálat alatt nem találtunk.

#### *M. catarrhalis*

Minden törzs (9 db) A szerotípusú volt az általános iskolában izoláltak közül. Az óvodákban (70 db) az A szerotípus 68,6%-ban (48 db) volt jelen, a B 18,6%-ban (13 db), a C 2,9%-ban (2 db) és 10,0% (7db) nem volt tipizálható (NT). A bölcsődékben 202 törzsből 180 tartozott az A szerotípushoz (89,1%), 19 a B-hez (9,4%) és 2 a C-hez (1,0%). A maradék 1 izolátum NT (0,5%) volt.

#### Antibiotikum érzékenység

##### *S. pneumoniae*

Penicillin rezisztenciát nem detektáltunk. Mérsékelt érzékenységet is csak 13,1%-ban mértünk a 7 évnél fiatalabb hordozóknál, 17,5%-ban a P1-ben és 25,3%-ban a P2-ben. Az erythromycin rezisztencia 17,5%, 19,0% and 28,9% volt a három csoportban. A makrolid rezisztens törzseket (36 db a hordozóknál, 12 db a P1-ben és 24 db a P2-ben) tovább vizsgáltuk PCR-rel az *erm(B)* és *mef* gének jelenléte után kutatva. Az *erm(B)* gént 38 törzs esetében mutattuk ki, amelyek MLSB fenotípust mutattak: magas MIC érték erythromycinre és clindamycinre. *Mef(E)*-t 29 törzsnél detektáltunk, melyeknél alacsony MIC értéket (8–16 mg/l) mértünk erythromycinnel szemben és érzékenyek voltak clindamycinre és ezzel kijelenthetjük, hogy M fenotípusúak. Mindkét gén jelen volt három esetben (egy-egy 19A, 19F és NT törzsnél). A 11A (mindig M fenotípusú) mellett a 19F, 15A, 15C és a 19A (MLSB fenotípusú) szerotípusok járultak hozzá legnagyobb részben a makrolid rezisztenciához. Néhány szerotípus érzékeny volt szinte az összes tesztelt antibiotikummal szemben: 3, 10A, 23A, 23B, 24F, 35B és 35F.

### *S. aureus*

MRSA-t nem találtunk a vizsgálataink során. Ellenben magas szintű mupirocin rezisztenciát mutattunk ki három törzsnél (az összes törzs 2,4%-a), mindet pápai óvodákban izoláltuk. Vancomycinre nézve 100% érzékenységet mértünk. A penicillin rezisztencia mindhárom csoportban magas volt: 73,7% bölcsődékben, 76,8% óvodákban és 82,8% az általános iskolában.

### *H. influenzae*

Kilenc bölcsődéből származó törzs (7,8%) és egy óvodai törzs (2,7%) volt ampicillin rezisztens. Ennek a tíz törzsnek a MIC értéke nagyobb volt, mint 8 mg/l, de mind amoxicillin-klavulánsav érzékenynek bizonyult. Ez  $\beta$ -laktamáz termelésre utal, amit minden esetben meg is erősítettünk nitrocefín korong segítségével. A legmagasabb rezisztenciát TMP/SMX esetében mértük (11,3% bölcsődékben és 24,3% az óvodákban). Mind a kilenc szerotipizálható törzs teljesen érzékeny volt az összes alkalmazott antibiotikummal szemben.

### *M. catarrhalis*

Általánosan elmondható, hogy 100% érzékenységet mértünk amoxicillin-klavulánsav, cefotaxim és moxifloxacin esetében. Makrolidokkal és TMP/SMX-lal szemben alacsony, 5% alatti mérsékelt érzékenységet és rezisztenciát detektáltunk szintén alacsony MIC értékekkel.

### A törzsek genetikai kapcsolata

#### *S. pneumoniae*

Teljesen egyező PFGE mintázatot találtunk klinikai és hordozott izolátumok között a 11A, 19A és a 19F szerotípusok esetében (3. ábra).

	Törzs	Származás	Szerotípus	Peni	Ery	Clinda	Dátum
	16775	klinikai	11A	<0,015	<0,06	<0,5	Ápr-2015
	BT10	hordozott	11A	<0,015	0,125	<0,5	Ápr-2016
	14749	klinikai	19A	<0,015	0,125	<0,5	Ápr-2015
	BT75	hordozott	19A	0,03	0,125	<0,5	Ápr-2016
	45354	klinikai	19F	0,03	256	128	Okt-2015
	BT7	hordozott	19F	0,06	>256	>128	Ápr-2016

**3. ábra. 11A, 19A és 19F szerotípusú, azonos emésztési mintázattal rendelkező klinikai-hordozott izolátumpárok**

### 3-as szerotípus

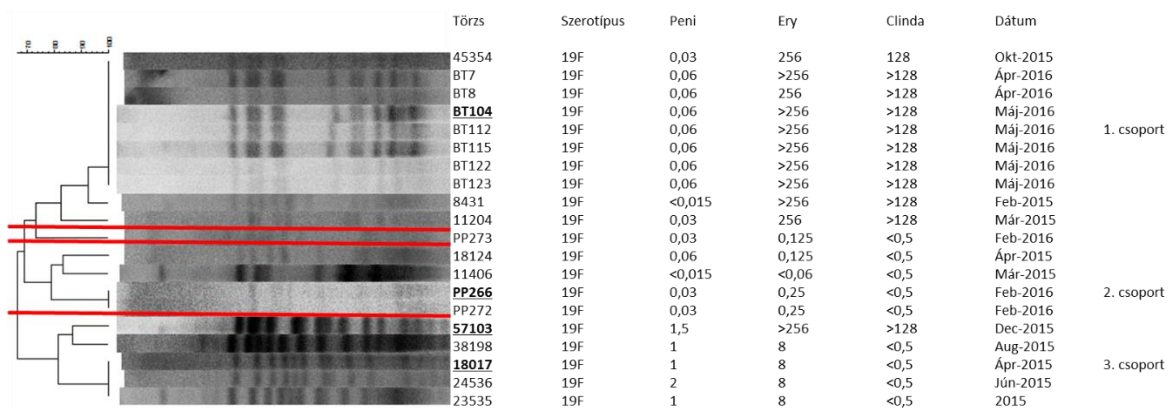
Az izolátumok felének a restrikciós mintázata teljesen megegyezett, a maradék klinikai törzsek mintázata is nagyon hasonló volt. Amellett, hogy általában érzékenyek az antibiotikumokkal szemben, a két, mérsékelten penicillin érzékeny törzs (16744, 52128) két különböző csoportba tartozott.

### 19A szerotípus

A 19A szerotípusú törzsek mintázata meglehetősen változatosnak bizonyult. Az egyik izolátum (8754) ugyanolyan mintázattal rendelkezett, mint egy korábban izolált törzs, ami a világszerte elterjedt ST320-as szekvencia típusához tartozott. Nemcsak a mintázatuk, de a MIC értékeik is megegyeztek. A 8754-es törzs az *erm(B)* és *mef(E)* géneket is expresszálta.

### 19F szerotípus

PFGE mintázatuk alapján három csoportot tudunk megkülönböztetni, amivel a csoportok antibiotikum érzékenysége is korrelált. A penicillin érzékeny és magas szintű makrolid és linkozamid rezisztenciával rendelkező törzsek képezték az első, legnagyobb csoportot. Minden izolátum Budapestről származott. A második, kisebb csoportot teljesen érzékeny törzsek alkották. A harmadik csoportba csak klinikai izolátumok tartoztak, amelyek penicillin mérsékelt érzékenységet és alacsony szintű erythromycin rezisztenciát mutattak egy kivétellel. Az 57103-as törzs (az egyetlen törzs emelkedett penicillin MIC értékkel és MLSB fenotípussal) egy külön alcsoportba tartozott. Mindhárom csoportból egy-egy törzset és az 57103-ast MLST segítségével is tipizáltuk (a 4. ábrán félkövérrel és aláhúzással jelölve). Ennek eredménye alapján az első csoport törzsei az ST179-es szekvencia típusba tartoztak, a kettes csoporté az ST180-ashoz. Az 57103-as az ST320 tagja volt. Hasonlóan az előbb említett 19A szerotípusú ST320-as törzshöz, ez is expresszálta az *erm(B)* és *mef(E)* géneket. A másik, harmadik csoportba tartozó törzs szekvencia típusa az ST651 volt. Ez ugyanabba a nagyobb csoportba (CC-271) tartozik, mint az ST320, ami azt jelenti, hogy a hét háztartási gén közül csak egyben különböznek.



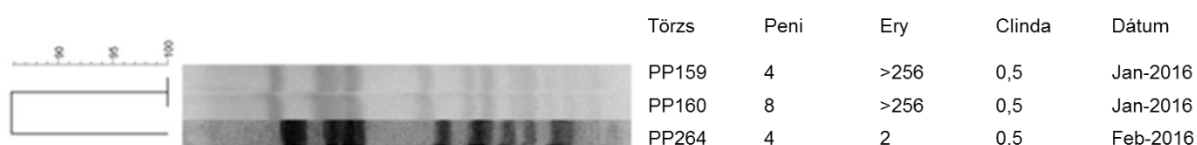
4. ábra: A 19F szerotípusú törzsek dendrogramja

11A szerotípus

Két nagyobb csoportot tudunk megkülönböztetni. Az első M fenotípusú törzseket tartalmazott, a második érzékeny izolátumokat.

*S. aureus*

Összességében magasfokú diverzitást találtunk, néhány kisebb, 2-5 tagból álló csoporttal. A három mupirocin rezisztens törzsből kettő ugyanolyan mintázattal rendelkezett és az antibiotikum-érzékenységük is összefüggött ezzel a hasonlósággal (5. ábra). A harmadik törzs (PP264) egy kicsit eltérő PFGE profilt mutatott és erythromycinre is érzékeny volt, de közeli rokonságban állt a két másik törzssel. Ezt alátámasztja, hogy mindhárom törzs Pápáról származik, de a PP264 egy másik óvodából.



5. ábra. A mupirocin rezisztens *S. aureus* törzsek PFGE mintázata

*H. influenzae*

Az NTHi izolátumok nagyban különböztek egymástól, csak néhány kisebb csoportot tudunk meghatározni. Az f szerotípusú törzsek (7 db) közül négy teljesen egyforma mintázatú volt (ugyanabból az óvodából származtak), továbbá a MIC értékeik is egyeztek. Az e szerotípusú törzsek is közeli rokonoknak számítottak, csak egy fragmentnyi különbséget detektáltunk.

## Következtetések

- Ez az első tanulmány Magyarországon, amely a *H. influenzae* és a *M. catarrhalis* tünetmentes hordozását vizsgálja
- Ez az első tanulmány Magyarországon, amely négy légúti kórokozó tünetmentes hordozását vizsgálja egyszerre
- A baktériumok hordozási gyakorisága a gyermekek életkorával együtt változik
- A *S. aureus* előfordulása fordított mintát mutat a másik három vizsgált faj hordozásához képest
- A pneumococcus elleni oltás drasztikus szerotípus változást okozott a pneumococcus populációban, a legfontosabb változások a következők:
  - A 3-as és a 6A szerotípus teljesen eltűnt Magyarországon, ami a hordozást illeti
  - A 3-as továbbra is a vezető szerotípus az idős betegek körében
  - A 19A szerotípus csökkenő tendenciát mutat, míg a 19F szerotípus újra megjelenni látszik
  - A helyettesítő, nem vakcina típusok (NVT-k) alacsony invazív potenciállal rendelkeznek és alacsonyabb az antibiotikum-rezisztencia aránya köztük
- A pneumococcus elleni oltás hatással volt a többi hordozott baktériumfaj előfordulására is
- A klinikai pneumococcus izolátumok késleltetve reagálnak a konjugált vakcinák szelektáló hatására
- A hordozott *S. aureus* izolátumok között nem fordult elő MRSA
- Mind a négy faj érzékenyebb volt a vizsgált antibiotikumokra, mint az azonos időszakban Magyarországról származó klinikai izolátumok
- A két Gram-negatív faj alapvetően érzékenyebb volt, mint a két Gram-pozitív
- Előfordult, hogy ugyanabba a PFGE csoportba tartozó izolátumok különböző városokban megjelentek, ami azt jelzi, hogy bizonyos törzsek nagyobb földrajzi területeken terjedtek el
- Néhány szekvencia típus (pl. pneumococcus ST320) már néhány évvel ezelőtt kimutatható volt a korábbi hordozási vizsgálatok során, jelezve egyes sikeres típusok hosszú távú előfordulását Magyarországon

## Saját publikációk listája

Az értekezés témájában megjelent közlemények

Kovács E., Sahin-Tóth J., Tóthpál A., Linden M., Tirczka T., Dobay O. (2020) Co-carriage of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* among three different age categories of children in Hungary. PLOS ONE, 15: (2) Paper e0229021

Kovács E., Sahin-Tóth J., Tóthpál A., Kristóf K., Linden M., Tirczka T., Dobay O. (2019) Vaccine-driven serotype-rearrangement is seen with latency in clinical isolates: Comparison of carried and clinical pneumococcal isolates from the same time period in Hungary. Vaccine, 37: (1) pp 99-108

Nemzetközi konferencia absztraktok az értekezés témájában

Kovács E., Sahin-Tóth J., Tirczka T., Tóthpál A., Dobay O. (2017) Nasal bacterial carriage among Hungarian children with a focus on *Staphylococcus aureus* (P0128) 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 2017

## Nem az értekezés témájában megjelent közlemények

Sahin-Tóth J., Kovács E., Tóthpál A., Juhász J., Forró B., Bányai K., Havril K., Horváth A., Ghidán Á., Dobay O. (2021) Whole genome sequencing of coagulase positive staphylococci from a dog-and-owner screening survey. PLOS ONE, 16: (1) Paper e0245351

Kovács E., Horváth A., Sahin-Tóth J., Kaptás Á., Huber A., Dobay O., Juhász E., Kristóf K. (2020) Tünetmentes meningococcus-hordozás felmérése Magyarországon egyetemisták és középiskolások körében. Gyermekgyógyászati Továbbképző Szemle, 25: (4) pp 14-16

Laub K., Tóthpál A., Kovács E., Sahin-Tóth J., Horváth A., Kardos S., Dobay O. (2018) High prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal carriage among children in Szolnok, Hungary. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 65: (1) pp 59-72

Laub K., Kristóf K., Tirczka T., Tóthpál A., Kardos S., Kovács E., Sahin-Tóth J., Horváth A., Dobay O. (2017) First description of a catalase-negative *Staphylococcus aureus* from a healthy carrier, with a novel nonsense mutation in the katA gene. International Journal of Medical Microbiology 307: (8) pp 431-434

## Nemzetközi konferencia absztraktok nem az értekezés témájában

Tóthpál A., Kovács E., Laub K., Kardos S., Tirczka T., Linden M., Dobay O. (2016) Summarized data of carried pneumococcus before and after PCV vaccinations, between 2009-2013, in Hungary (EP0164). 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Amsterdam, Netherlands, April 2016.

Kovács E., Laub K., Kardos S., Kristóf K., Dobay O., Tóthpál A. (2016) Carriage of coagulase positive Staphylococci among healthy owners and their dogs (P0218). 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Amsterdam, Netherlands, April 2016.