

Emberi Erőforrások Minisztériuma – Egészségügyért Felelős Államtitkárság

EGÉSZSÉGÜGYI SZAKMAI KOLLÉGIUM

**Egészségügyi szakmai irányelv –
A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról**

Típusa:	Klinikai egészségügyi szakmai irányelv
Azonosító:	000773
Érvényesség időtartama:	2015. június 23. - 2018. február 28.

TARTALOMJEGYZÉK

I. ADATLAP	4
1. A dokumentum jellemzői	4
2. Kiadás és elérhetőség.....	4
3. Időbeli határok	4
4. Hatókör	4
5. Felhasználói célcsoport és a felhasználás célja.....	5
6. A tartalomért felelősök köre	6
7. Kapcsolat a hivatalos hazai és külföldi szakmai irányelvekkel, népegészségügyi programmal.....	6
8. Kulcsszavak	9
II. CÍM	10
III. ELŐSZÓ	10
IV. DEFINÍCIÓK	10
1. Fogalmak	10
2. Rövidítések	11
3. Bizonyítékok szintjének meghatározási módja.....	11
4. Ajánlások rangsorolásának módja	12
V. BEVEZETÉS	13
1. A témakör hazai helyzete, a témaválasztás indoklása	13
2. Célok.....	13
VI. ÖSSZEFOGLALÓ	14
1. Meghatározó ajánlások	14
2. Az ellátási folyamat algoritmus.....	22
VII. AJÁNLÁSOK SZAKMAI RÉSZLETEZÉSE	22
VIII. AJÁNLÁSOK ALKALMAZÁSA	36
1. Az alkalmazás feltételei a hazai gyakorlatban	36
2. Alkalmazást segítő dokumentumok listája.....	38
3. A gyakorlati alkalmazás mutatói, auditkritériumok	38
4. Az ajánlások terjesztésének terve	38
IX. A DOKUMENTUM FELÜLVIZSGÁLATÁNAK TERVE	38
X. IRODALOM	39
XI. MELLÉKLET	42
1. A folyamat teljesítését igazoló dokumentumok.....	42

2. A fejlesztés módszerének leírása és a kapcsolódó dokumentumok.....	42
3. Az alkalmazást segítő dokumentumok.....	45

I. ADATLAP

1. A dokumentum jellemzői

Címe:	Egészségügyi szakmai irányelv – A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról
Azonosító:	000773
Típusa:	Klinikai egészségügyi szakmai irányelv

Ez a dokumentum az Orvosi helyesírási szótár (Akadémiai Kiadó) helyesírási szabályait használja.

2. Kiadás és elérhetőség

Kiadja:	Emberi Erőforrások Minisztériuma – Egészségügyért Felelős Államtitkárság
----------------	---

Megjelenés helye:

Nyomtatott verzió: Egészségügyi Közlöny

Elektronikus elérhetőség: <https://kollegium.gyemszi.hu>

3. Időbeli határok

Az irodalomkutatás lezárásának ideje:	2014. február
A megjelenés dátuma:	2014. december 23.
A hatályba lépés dátuma:	Megjelenést követően 6 hónap (2015. június 23.)
Az érvényesség lejárat dátuma:	2018. február 28.

4. Hatókör

Egészségügyi kérdéskör:	Mycobacteriumok okozta infekciók
Az ellátási folyamat szakasza(i):	Mycobacteriumok okozta infekciók mikrobiológiai laboratóriumi diagnosztikájának döntési folyamata a minta mikrobiológiai laboratóriumba történő beérkezésétől a lelet kiadásáig, illetve a klinikum által esetlegesen kért konzílium adásáig.

Az irányelv nem fogalmaz meg ajánlásokat speciális betegségek mellett fellépő tbc-infekció eseteire.

Az irányelv nem foglalkozik az egyes vizsgálóeljárások metodikájával, kivitelezési szabályaival, csak az egyes módszerek alkalmazásának külső és belső minőségbiztosítási vonatkozásai kapcsán kerülnek kiemelésre fontos szempontok.

Az irányelv nem fogalmaz meg ajánlásokat a vizsgálati tevékenység munkabiztonsági szempontjaival kapcsolatban.

Az érintett ellátottak köre:

Életkortól és nemtől függetlenül az alábbi betegcsoportba tartozóktól érkező minták:

1. Mycobacteriumfertőzés és megbetegedés gyanúja;
2. tuberkulózissal fertőzöttek;
3. tuberkulózis betegségben szenvedők;
4. tuberkulózis betegségre veszélyeztetettek.

Az érintett ellátók köre:

Szakterület:

5003 Klinikai mikrobiológiai diagnosztika
5013 Járványügyi mikrobiológiai diagnosztika

Ellátási forma:

Mikrobiológiai laboratóriumi diagnosztikai tevékenység járó és fekvő betegek számára

Progresszivitási szint:

M1 (mikrobiológiai laboratórium csak mikroszkópos tbc-diagnosztikát végez)
M2 és M3 (önálló vagy mikrobiológiai laboratórium részlegeként működő mycobacteriologiai laboratóriumok, amelyek a mikroszkópos vizsgálatokon kívül hagyományos és fehérje vagy nukleinsav alapú molekuláris diagnosztikát is végeznek)

5. Felhasználói célcsoport és a felhasználás célja

Felhasználói célcsoportok:

- Klinikai és járványügyi mikrobiológiai laboratóriumok mycobacteriologiai részlegei.
- Önálló mycobacteriologiai laboratóriumok.
- A Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium.

Mindazon szakterületen működő kezelőorvosok – kiemelten a tüdőgyógyászok –, akik *Mycobacterium tuberculosis* okozta, bármely lokalizációban megjelenő infekcióban

szenvédő vagy arra gyanús beteget látnak el abban az értelemben, hogy tudniuk kell, hogy mit várhatnak el az egyes diagnosztikai módszerek alkalmazása során a laboratóriumi eredmény közlésével kapcsolatban.

- A finanszírozási eljárásrendek készítéséhez a társadalombiztosító.
- Bármely szakmapolitikai vagy népegészségügyi program, amely a tbc felszámolását tűzi ki célul – mikrobiológiai tevékenység szabályozása.

6. A tartalomért felelősök köre

Társszerző Szakmai Kollégiumi Tagozat:

Klinikai és Járványügyi Mikrobiológia Tagozat

Prof. Dr. Nagy Erzsébet PhD., DSc., orvosi mikrobiológia szakorvos, a Szegedi Tudományegyetem Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet volt intézetvezető professzora, a fejlesztő csoport koordinátora

Dr. Szabó Nóra, gyógyszerész, szakmikrobiológus, a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium vezetője, társszerző

Dr. Kónya József, egyetemi docens PhD., orvosi mikrobiológia szakorvos, DEOEC Orvosi Mikrobiológiai Tanszék tanszékvezetője, társszerző

Véleményező Szakmai Kollégiumi Tagozat:

Tüdőgyógyászat Tagozat

Dr. Bártfai Zoltán PhD., egyetemi magántanár, tüdőgyógyász szakorvos, klinikai onkológus, klinikai immunológus, allergológus, Soproni Erzsébet Oktató Kórház, Tüdőgyógyászat, osztályvezető, véleményező

Az egészségügyi szakmai irányelv készítése során a szerzői függetlenség nem sérült.

Az egészségügyi szakmai irányelvben foglaltakkal a fent felsorolt egészségügyi szakmai kollégiumi tagozatok vezetői dokumentáltan egyetértenek.

7. Kapcsolat a hivatalos hazai és külföldi szakmai irányelvekkel, népegészségügyi programmal

1. Egészségügyi szakmai irányelv előzményei:

Jelen fejlesztés az alábbi, lejárt érvényességi idejű szakmai irányelv témáját dolgozza fel.

Cím: Az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja a tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról [1]

Megjelenés helye:

Nyomtatott verzió: Egészségügyi Közlöny 2009;21:3405-17.

Elektronikus elérhetőség: <https://kollegium.gyemszi.hu>

2. Kapcsolat külföldi szakmai irányelv(ek)kel:

Jelen irányelv az alábbi külföldi irányelv(ek), módszertani kézikönyvek ajánlásainak adaptációjával készült.

1. Tudományos szervezet: ECDC/WHO

Cím: Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe (Surveillance report) [2]

Megjelenés adatai: Stockholm, ECDC, 2013.

Elérhetőség:

<http://www.euro.who.int/en/health-topics/communicable-diseases/tuberculosis/publications/2013/tuberculosis-surveillance-and-monitoring-in-europe-2013>

2. Tudományos szervezet: ECDC

Cím: Mastering the basics of TB control: Development of a handbook on TB diagnostic methods (Technical report) [3]

Megjelenés adatai: Stockholm, ECDC, 2011.

Elérhetőség:

http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1105_TER_Basics_TB_control.pdf.

3. Tudományos szervezet: ECDC

Cím: ERLN-TB expert opinion on the use of the rapid molecular assays for the diagnosis of tuberculosis and detection of drug-resistance. (Technical report) [4]

Megjelenés adatai: Stockholm, ECDC, 2013.

Elérhetőség:

<http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/ERLN-TB-use-rapid-molecular-assays-diagnosis-tuberculosis-detection-drug-resistance.pdf>

4. Tudományos szervezet: IUATLD-WHO

Cím: Laboratory Diagnosis of Tuberculosis by Sputum Microscopy [5]

Megjelenés adatai: SA Pathology, 2013

Elérhetőség:

<http://www.theunion.org/what-we-do/publications/technical/laboratory-diagnosis-of-tuberculosis-by-sputum-microscopy-the-handbook>

5. Tudományos szervezet: CDC

Cím: Updated guidelines for using interferon gamma release assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection (Recommendations and Reports) [6]

Megjelenés adatai: USA, CDC, 2010

Elérhetőség:

<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5905a1.htm>

6. Tudományos szervezet: WHO

Cím: Best practices in prevention, control and care for drug-resistant tuberculosis [7]

Megjelenés adatai: Regional Office for Europe, WHO, 2013

Elérhetőség:

http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0020/216650/Best-practices-in-prevention-control-and-care-for-drugresistant-tuberculosis-Eng.pdf

7. Tudományos szervezet: CDC

Cím: Report of Expert Consultations on Rapid Molecular Testing to Detect Drug-Resistant Tuberculosis in the United States [8]

Megjelenés adatai: USA, CDC, 2013

Elérhetőség:

<http://www.cdc.gov/TB/topic/Laboratory/rapidmoleculartesting/default.htm>

8. Tudományos szervezet: CDC

Cím: Availability of an Assay for Detecting Mycobacterium tuberculosis, Including Rifampin Resistant Strains, and Considerations for Its Use [9]

Megjelenés adatai: USA, CDC, 2013

Elérhetőség:

<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6241a1.htm>

9. Tudományos szervezet: CDC

Cím: [National Plan for Reliable Tuberculosis Laboratory Services Using a Systems Approach](#) [10]

Megjelenés adatai: USA, CDC, 2005

Elérhetőség:
<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5406a1.htm>

10. Tudományos szervezet: CDC

Cím: [Report of an Expert Consultation on the Uses of Nucleic Acid Amplification Tests for the Diagnosis of Tuberculosis](#) [11]

Megjelenés adatai: USA, CDC, 2008

Elérhetőség:
http://www.cdc.gov/tb/publications/guidelines/amplification_tests/default.htm

11. Tudományos szervezet: CDC

Cím: Updated Guidelines for the Use of Nucleic Acid Amplification Tests in the Diagnosis of Tuberculosis [12]

Megjelenés adatai: USA, CDC, 2009

Elérhetőség:
<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5801a3.htm>

3. Kapcsolat hazai egészségügyi szakmai irányelv(ek)kel:

Jelen irányelv bármely lokalizációban manifesztálódó aktív és latens tbc témakörében érvényben lévő egészségügyi szakmai irányelvvel kapcsolatban áll. Kapcsolódási pontja, a mikrobiológiai diagnosztikához szükséges minta vétele és mikrobiológiai laboratóriumba küldése, majd a kapott lelet értelmezése és beépítése az ellátási stratégiába.

4. Kapcsolat népegészségügyi program(ok)kal:

Jelen irányelv nem áll kapcsolatban népegészségügyi programmal.

8. Kulcsszavak

Mycobacterium tuberculosis diagnosztikája, *Mycobacterium tuberculosis complex* diagnosztikája, nem tuberkulózist okozó mycobacteriumok (NTM) diagnosztikája, hagyományos mycobacteriologiai diagnosztika, molekuláris mycobacteriologiai diagnosztika, latens tbc diagnosztikája.

II. CÍM

EGÉSZSÉGÜGYI SZAKMAI IRÁNYELV – A TUBERKULÓZIS MIKROBIOLÓGIAI DIAGNOSZTIKÁJÁRÓL

Érvényesség időtartama: 2015. június 23. - 2018. február 28.

III. ELŐSZÓ

A bizonyítékokon alapuló egészségügyi szakmai irányelvek az egészségügyi szakemberek és egyéb felhasználók döntéseit segítik meghatározott egészségügyi környezetben. A szisztematikus módszertannal kifejlesztett és alkalmazott egészségügyi szakmai irányelvek tudományos vizsgálatok által igazoltan javítják az ellátás minőségét. Az egészségügyi szakmai irányelvben megfogalmazott ajánlások sorozata az elérhető legmagasabb szintű tudományos eredmények, a klinikai tapasztalatok, az ellátottak szempontjai, valamint a magyar egészségügyi ellátórendszer sajátosságainak együttes figyelembevételével kerülnek kialakításra. Az irányelv szektorsemleges módon fogalmazza meg az ajánlásokat. Bár az egészségügyi szakmai irányelvek ajánlásai a legjobb gyakorlatot képviselik, amelyek az egészségügyi szakmai irányelv megjelenésekor a legfrissebb bizonyítékokon alapulnak, nem pótolhatják minden esetben az egészségügyi szakember döntését, ezért azoktól indokolt esetben dokumentáltan el lehet térni.

IV. DEFINÍCIÓK

1. Fogalmak

- Antituberkulotikumokkal szembeni rezisztencia: a mycobacteriumok tbc kezelésére használt antibiotikumokkal szembeni rezisztenciája.
- Multi-Drug Resistant *Mycobacterium* (MDR *Mycobacterium*): INH és RMP antibiotikumokkal szemben rezisztens mycobacteriumok.
- Extensively Drug Resistant *Mycobacterium* (XDR *Mycobacterium*): INH + RMP + fluorokinolon + intravénásan adható szerek egyikére (amikacin, kanamycin, capreomycin) rezisztens mycobacteriumok.
- Dekontamináció: a nem steril testtájékról származó vizsgálati minta előkezelése abból a célból, hogy a kísérő flóra minél kevésbé zavarja a célorganizmus izolálását.
- Lamináris fülke: lamináris áramlású biztonsági fülke, amely a minták sterilizálásának, szennyezésmentességének fenntartása mellett védik a felhasználót és a környezetet a mintákból származó esetleges patogén mikroorganizmusok okozta fertőzésektől.

Egészségügyi szakmai irányelv - A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról

- Latens tbc: a *Mycobacterium* törzs klinikai tünetek nélküli hordozása.
- Mycobacteriumok: a *Mycobacterium* genusba tartozó azon specierek (törzsek), amelyek humán megbetegedésben szerepet játszhatnak.
- *Mycobacterium tuberculosis complex*: A mycobacteriumok genetikailag hasonló specierei (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. bovis spp. bovis*, *M. bovis BCG*, *M. caprae*, *M. canetti*, *M. pinnipedii*), amelyek emberben tuberkulózist okoznak.
- Non-Tuberculous *Mycobacterium*: nem tbc-t okozó mycobacteriumok.
- Nukleinsav-kimutatáson alapuló módszerek: amelyek a tbc kórokozójának kimutatására, a törzsek identifikálására, az antimikrobás szerekkel szembeni rezisztenciáért felelős gének kimutatására és az izolált törzsek tipizálására használhatók.
- Direkt nukleinsav-amplifikációs módszerek (DNAM): nukleinsav-kimutatáson alapuló olyan módszerek, amelyek a tbc vizsgálata során direkt a vizsgálati anyagból képesek a mycobacteriumok kimutatására és bizonyos kitek esetén a RMP/INH rezisztenciagének kimutatására.

2. Rövidítések

CDC: Center for Disease Control and Prevention

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

DNAM: direkt nukleinsav-amplifikációs módszerek

ECDC: European Centre for Diseases Control and Prevention

ERLN-tbc: European Reference Laboratory Network-TBC

ETB: ethambutol

EuroTB: Európai Tuberculosis Surveillance Központ

FDA: Food and Drug Administration

IGRA: Interferon-Gamma Release Assays

INH: isonicid

IUATLD: International Union against Tuberculosis and Lung Disease

LJ: Löwenstein–Jensen-táptalaj

MDR: Multi-Drug Resistant Mycobacterium (rezisztens INH + RMP)

NTM: Non Tuberculous Mycobacterium (nem tbc-t okozó mycobacteriumok)

PZA: pyrazinamid

RMP: rifampicin

Tbc: *Mycobacterium tuberculosis complex* által okozott infekció

VNTR-MIRU: Variable Numbers of Tandem Repeats of Mycobacterial Interspersed Repetitive WHO: World Health Organisation Units

XDR: Extensively Drug Resistant Mycobacterium (rezisztens INH + RMP + fluoroquinolon + iv. adható szerek egyike: amikacin, kanamycin, capreomycin)

ZN: Ziehl–Neelsen-féle saválló festési eljárás

3. Bizonyítékok szintjének meghatározási módja

Az adaptálásra felhasznált nemzetközi szervezetek által kiadott dokumentumok (WHO, IUATLD, ERLN, ECDC, CDC, FDA irányelvek, technológiai leírások és kézikönyvek) a szakterületen általánosan elfogadottak. Az általuk felhasznált eredeti tanulmányokat kritikusan értékelték, így a fejlesztőcsoport elfogadta az irányelveket kiadó nemzetközi szervezetek feldolgozásának eredményét, a szakértők véleményét. Ezeket a bizonyítékokat a U. S. Preventive Services Task Force módszertanának

adaptált rendszerével soroltuk be [14], amely a bizonyítékok megbízhatóságának mértékét határozza meg.

Erősen megbízható	A bizonyítékok összessége a kérdésre választ adó, jó minőségű tanulmányokból származik, nem valószínű, hogy a jövőben végzett kutatás megváltoztatja.
Elfogadhatóan megbízható	A bizonyítékok összessége a kérdésre választ adó, limitált minőségű tanulmányokból származik, az alábbi hibák, hiányosságok lehetnek a forrástanulmányokban: <ul style="list-style-type: none"> – a vizsgálati minta mérete, a tanulmány lefolytatásának minősége; – nem eléggé egybehangzó eredmények; – az eredmények nem teljesen alkalmazhatók a hazai környezetben. <p>A jövőben folyó kutatások eredményeinek nagysága vagy iránya lehet eltérő és olyan mértékben, hogy az megváltoztathatja a konklúziót.</p>
Nem vagy alig megbízható	A bizonyíték elégtelen ahhoz, hogy annak alapján következtetés levonható lenne. Okok: <ul style="list-style-type: none"> – a vizsgálati minta mérete, a támogató tanulmányok száma alacsony; – alapvető hiba a vizsgálati elrendezésben, módszertanban; – inhomogenitás a forrástanulmányok között; – az eredmények nem általánosíthatók; – nincs információ fontos kimeneti eredményekre vonatkozóan; – csak szakértői véleményeken alapul. <p>További kutatások nagy eséllyel megváltoztathatják a bizonyítékot.</p>

4. Ajánlások rangsorolásának módja

Az adaptálásra felhasznált dokumentumok az ajánlások besorolását nem alkalmazták. A fent bemutatott bizonyítékbesorolásra alapozva, a New Zealand Guidelines Group (NZGG) által alkalmazott módszer alapján került kialakításra az egészségügyi szakmai irányelvben használt ajánlás rangsorolási rendszer [15].

Ajánlások	szint
<i>Az ajánlást erősen megbízható bizonyítékok támasztják alá.</i> (Számos olyan hiteles vizsgálaton alapul, melyek klinikailag relevánsak, nem ellentmondóak és hasonló hatást mutatnak, saját populációra, hazai környezetre alkalmazhatóak és várhatóan újabb kutatás nem módosítja.)	A
<i>Az ajánlást elfogadható megbízhatóságú bizonyítékok támasztják alá.</i> (Hiteles vizsgálatokon alapul, azonban a vizsgálatok nagyságát, relevanciáját, az eredmények egybehangzóságát és/vagy saját populációra, hazai környezetre alkalmazhatóságát illetően bizonytalanság merül fel, de várhatóan	B

újabb kutatás nem módosítja.)	
<p><i>Az ajánlást egységesen elfogadott nemzetközi szakértői vélemények támasztják alá.</i></p> <p>(Megbízható tudományos bizonyíték hiányában kiemelkedő nemzetközi szakértők konszenzusán alapul, amely a saját populációra, hazai környezetre alkalmazható, de kutatási eredmény módosíthatja.)</p>	C
<p><i>Az ajánlást hazai szakértői vélemények támasztják alá.</i></p> <p>(Megbízható tudományos bizonyíték vagy nemzetközi konszenzus hiányában, vagy ha ezek saját populációra, hazai környezetre nem alkalmazhatók, a hazai „legjobb gyakorlat” meghatározása az irányelvfejlesztő csoport tagjainak tapasztalatán vagy konzultációval szerzett szakmai visszajelzéseken alapul; kutatási eredmény módosíthatja.)</p>	D

Az ajánlások gyakorlati megvalósításának kötelezettségi szintjét az ajánlások szóhasználatával fejeztük ki, amely a nemzetközi gyakorlatban egyre hangsúlyosabb tendenciát követi.

V. BEVEZETÉS

1. A témakör hazai helyzete, a témaválasztás indoklása

A tuberkulózis okozta morbiditás és mortalitás Európában és hazánkban is az egészségügy kiemelkedően fontos problémája. A magyarországi tuberkulózishelyzetnek az 1950-es évek óta tartó kedvező tendenciája 1990-ben megtört. Az addig folyamatosan csökkenő incidencia 1990 és 1995 között újra 19%-kal emelkedett. A kedvezőtlen tendencia visszafordítására, valamint a betegség visszaszorítására irányuló erőfeszítések optimalizálása céljából 1994-ben a Tüdőgyógyászati Szakmai Kollégium Nemzeti Tuberkulózis Programot fogadott el [15, 16]. 2010-ben a tbc-incidencia, bár csökkenő tendenciát mutatott, de még mindig 18/100000 lakos volt, ami jelentősen meghaladja a számos nyugat-európai országban mért adatokat (3-10/100000 lakos). 2012-re sikerült az incidenciát 12/100000 alá csökkenteni, ugyanakkor a bakteriológiailag igazolt tbc-s betegek arányát évek óta mindössze 50% körüli értéken tudtuk tartani [2]. Ennek okai között szerepet játszik, hogy az ország legtöbb, tbc-diagnosztikát végző mikrobiológiai laboratóriumában jelenleg alkalmazott bakteriológiai módszerek érzékenysége nem megfelelő, illetve hogy a betegek egy jelentős százalékában (kb. a bakteriológiailag negatív esetek egyharmadában) a surveillance-adatok alapján egyáltalán nem készül tenyésztés, illetve az adatközlés nem megfelelő [17]. A nemzetközi irányelvek egyértelműen leszögezik, hogy a tbc-ben szenvedő betegek prognózisa, a kezelés sikere és a tbc terjedésének megakadályozása a megfelelő színvonalú, modern módszereket is alkalmazó mikrobiológiai diagnosztikai eljárásokon alapul [3, 7, 10].

2. Célok

Az irányelv célja az egységes hazai mikrobiológiai tbc-diagnosztikai gyakorlat kialakítása, figyelembe véve a témában meghatározó jelentőségű nemzetközi (WHO,

IUATLD, ERLN, ECDC, CDC, FDA) szervezetek ajánlásait és az érvényben lévő hazai rendelkezéseket.

A jelenlegi irányelv ajánlásainak alkalmazásával elérhető eredmények:

1. A mikrobiológiai diagnózissal alátámasztott tbc-s esetek számának növekedése (surveillance-adatokkal mérhető).
2. Bakteriológiai eredmény biztosítása a minél előbbi célzott terápia megindításához
3. A multirezisztens *Mycobacterium* törzsek terjedésének megakadályozása (surveillance-adatokkal mérhető).
4. Epidemiológiai adatok nyerése a multirezisztens (MDR és XDR) *Mycobacterium* törzsek terjedésével kapcsolatban (surveillance-adatokkal mérhető).

VI. ÖSSZEFOGLALÓ

Az alábbi területeken módosultak az ajánlások az irányelv korábbi verziójához képest:

- A WHO ajánlása alapján a Class II típus A2 változatú lamináris fülke alkalmazása javasolt minden a mycobacteriologiai laboratóriumba beérkező vizsgálati anyag feldolgozása során, mert ennél a típusnál az érkező és távozó levegő egy HEPA-szűrőn keresztül távozik és beköthető a laboratóriumi helyiség saját elszívó rendszerébe (Ajánlás14).
- A tenyésztési idő lerövidítése érdekében minden mycobacteriologiai tenyésztő laboratórium számára javasolt a szilárd táptalaj mellett a megfelelő folyékony tenyésztési eljárás használata is (Ajánlás3, 7).
- Mivel a nemzetközi irányelvek egyértelműen leszögezik, hogy a tbc-ben szenvedő betegek prognózisa, a kezelés sikere és a tbc terjedésének megakadályozása a megfelelő színvonalú, modern (nukleinsav/protein alapú molekuláris) módszereket is alkalmazó mikrobiológiai diagnosztikai eljárásokon alapul [3, 4, 8, 12, 18, 19], a jelenlegi irányelvben hangsúlyozottan javasoljuk ezen módszerek hazai használatát a nagy anyagszámmal dolgozó mycobacteriologiai részlegeknek (M3 kompetenciaszint), illetve a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumnak (Ajánlás5, 8, 9, 10).
- Az utóbbi időben került a diagnosztikus palettára egy olyan real-time PCR módszeren alapuló assay, amely szimultán, egy lépésben, néhány óra alatt képes detektálni a *M. tuberculosis* komplexet és a rifampicin iránti rezisztenciát direkt a mintából vagy a tenyészetből. Az assay egy zárt rendszerű, keresztkontaminációra nem érzékeny teszt, amelynek magas a szenzitivitása (lásd lejjebb: 1. TÁBLÁZAT). Használata a nagy anyagforgalmú mycobacteriologiai laboratóriumok számára javasolt (Ajánlás5).

1. Meghatározó ajánlások

1. A minta előkezelése: homogenizálás, dekontaminálás

Ajánlás1

A nem steril testtájról származó, kontaminálnak tekinthető vizsgálati anyagok esetében a tenyésztés előtt a minta előkezelését el kell végezni (A).

A nem steril testtájról származó, kontaminálnak tekinthető vizsgálati anyagok esetében a tenyésztés előtt a mintát dekontaminálni kell, célszerűen N-acetyl-L-cystein-NaOH (NALC-NaOH)-nel történő előkezelés formájában, a tenyészetek befertőződésének megakadályozása céljából. Ez az előkezelés a folyékony tenyésztési eljárások esetében is alkalmazható, míg az elterjedtebb klórhexidinum-digluconatos eljárás csak szilárd alapú tenyésztés esetén alkalmazható. Más előkezelési módszer alkalmazásakor validálni kell a választott módszert [3, 20–24].

2. Mikroszkópos vizsgálat

Ajánlás2

Minden tbc-diagnosztikára érkezett minta mikroszkópos vizsgálatát el kell végezni (A), és az eredményről 24 órán belül értesíteni kell a kezelőorvost (D).

A mikroszkópos vizsgálat a minta direkt (előkezeletlen) vagy előkezelt centrifugált üledékéből Ziehl-Neelsen (ZN) vagy auramin alapú fluoreszceninnel festett kenetből történik. Minden fluoreszcein mikroszkópos vizsgálat alapján felvetett, új tbc-s beteg esetében az eredményt javasolt megerősíteni ZN-festéssel. A saválló baktériumok mikroszkóppal történő kimutatása alapján előzetes eredmény adható ki (saválló baktérium pozitív vagy negatív), de a mikroszkópos vizsgálat nem helyettesíti a tenyésztést. A mikroszkópos vizsgálati eredményt 24 órán belül jelezni kell a kezelőorvosnak [3, 5, 10, 20, 21, 24–26].

3. Tenyésztéses eljárások

Ajánlás3

A tbc-kimutatásra érkezett vizsgálati minta tenyésztését párhuzamosan folyékony és szilárd táptalajon is el kell végezni (A).

A dekontaminált minta megfelelően megválasztott folyékony és szilárd táptalajban történő tenyésztése elengedhetetlen a mycobacteriologiai diagnosztikában, mert a tenyésztés érzékenysége nagyságrendekkel nagyobb, mint a mikroszkópos vizsgálatoké, és meghaladja a jelenleg alkalmazott molekuláris technikák szenzitivitását is, valamint ez biztosít megfelelő mennyiségű biomasszát további vizsgálatokhoz. A klinikum által elvárt eredményközlési időintervallum (Ajánlás12) teljesítéséhez nélkülözhetetlen a folyékony táptalaj alapú rendszerek rutinszerű alkalmazása. Mindemellett javasolt a szilárd és folyékony táptalajok párhuzamos használata. Negatív tenyésztési eredmény 8 hetes inkubálást követően adható ki [3, 20–27].

4. A kitenyésztett mycobacteriumok identifikálása

Ajánlás4

A *M. tuberculosis* complex hagyományos módszerrel történő identifikálását minden mycobacteriologiai tenyésztőlaboratóriumnak el kell tudnia végezni (C). A klinikailag releváns NTM törzseket a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumba kell küldeni identifikálás vagy annak megerősítése céljából (D).

Bár a hagyományos identifikálási módszerek szerepe világszerte igen jelentősen visszaszorulóban van, a *M. tuberculosis* complex identifikálására és az ehhez szükséges alapvető hagyományos identifikálási módszerek elvégzésére (niacin, nitrát-reduktáz teszt) minden mycobacteriologiai tenyésztést végző laboratóriumnak képesnek kell lennie [3, 20–22, 24–26].

Ajánlás5

Amennyiben gyors identifikálás szükséges, javasolt valamely nukleinsav/protein kimutatáson alapuló módszer elvégzése (B).

A kereskedelmi forgalomban napjainkban többféle nukleinsav-kimutatáson alapuló identifikáló teszt kapható a mycobacteriumok species szintű azonosítására (lásd: 1. TÁBLÁZAT). A hagyományos identifikálást kiváltó egyszerű immunkromatográfiás módszer bevezetése minden mycobacteriologiai laboratóriumban javasolt. A nagy anyagszámmal dolgozó mycobacteriologiai laboratóriumok vagy laboratóriumi részlegek számára ajánlott valamely, a tenyésztést követően vagy a mikroszkóposan pozitív mintából direkt elvégezhető nukleinsav alapú molekuláris identifikáló módszer alkalmazása. Ezek a technikák nagy változatossággal képesek a *Mycobacterium tuberculosis* complex és/vagy további NTM speciestek azonosítására. Ezek előnye, hogy jelentősen lerövidítik az identifikálás idejét. Van olyan módszer, amely amplifikálást követően az identifikálással egy időben az RMP-rezisztencia kimutatására is alkalmas. Az egyéb nukleinsav-kimutatáson alapuló molekuláris identifikáló módszerek alkalmazása mycobacteriologiai kutatólaboratóriumnak vagy a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium számára ajánlott [4, 9, 12, 20–22, 24, 26].

1. TÁBLÁZAT. A hazai ellátás számára elérhető, nem hagyományos módszereken alapuló (nukleinsav és fehérje alapú molekuláris módszerek) tbc-diagnosztikai kitek az ECDC Tbc Referencia Laboratóriumi Hálózat (ERLN-TBC) javaslata és a hazai gyakorlat alapján, 2014 első negyedévében értékelve [3, 4].

A kit neve	Alkalmazott módszer	Diagnosztikai lehetőség	Gyártó/forgalmazó cég	Javaslat az alkalmazásra
Capilia TB-neo vagy BD MGIT TBcID	Immunkromatográfia	Kromatográfiás immunoassay a <i>M. tuberculosis</i> complex antigén alapú kvalitatív kimutatására tenyészetből	Tanus Laboratories Inc., Japan, Becton Dickinson, USA.	Minden tbc-tenyésztő laboratórium
ProbeTec	DNS-extrakció, RT PCR	<i>M. tuberculosis</i> complex kimutatása direkt mintából	Becton Dickinson USA	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium
AccuProbe	Nukleinsav-hibridizáció	<i>M. tuberculosis</i> complex identifikálása tenyészetből	Gen-Probe Inc., USA.	Minden tbc-tenyésztő laboratórium
INNO-LiPA Mycobacteria v2 (line probe assay)	DNS-extrakció, PCR, reverz hibridizáció	<i>Mycobacterium</i> genus és 16 species identifikálása tenyészetből	Innogenetics, Belgium	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium
INNO-LiPA Rif.TB kit (line probe assay)	DNS-extrakció, nested PCR, reverz hibridizáció	Rifampicinrezisztens <i>M. tuberculosis</i> kimutatása vizsgálati anyagból és tenyészetből	Innogenetics, Belgium	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium
GenoType Mycobacteria Direct	RNS-extrakció, NASBA, reverz hibridizáció	Identifikálás közvetlenül klinikai mintából, <i>M. tuberculosis</i> complex, <i>M. avium</i> , <i>M. intracellulare</i> , <i>M. kansasii</i> , <i>M. malmoense</i>	Hain Lifescience GmbH, Németország	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium
GenoType CM, AS és MTBC tesztek	DNS-extrakció, multiplex PCR, reverz hibridizáció	Mycobacteriumok (<i>M. tuberculosis</i> complex tagjai – CM, MTBC – és további 40 NTM species – AS) identifikálása tenyészetből	Hain Lifescience GmbH, Németország	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium

Egészségügyi szakmai irányelv - A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról

A kit neve	Alkalmazott módszer	Diagnosztikai lehetőség	Gyártó/forgalmazó cég	Javaslat az alkalmazásra
GenoType MTBDRplus és MTBDRsl tesztek	DNS-extrakció, multiplex PCR, reverz hibridizáció	<i>M. tuberculosis</i> identifikálás és RIF-, INH- és kinolonrezisztencia kimutatása tenyészetből vagy alsó légúti mintából	Hain Lifescience GmbH, Németország	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium (MTBDRplus) illetve a Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium a (MTBDRsl)
VirCell Speed-oligo Direct <i>M. tuberculosis</i>	DNS-extrakció multiplex PCR, reverz hibridizáció	<i>M. tuberculosis</i> complex / <i>Mycobacterium</i> genus identifikálása klinikai mintákból	VirCell, Spanyolország	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium
Amplicor Respiratory specimen Preparation Kit + Cobas Amplicor TaqMan MTB Test	DNS-extrakció + TaqMan RT-PCR	<i>M. tuberculosis</i> complex kimutatása légúti mintából	Roche GmbH, Németország	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium
Xpert MTB/RIF kit	Automatizált DNS-extrakció, PCR és amplikon detekció	<i>M. tuberculosis</i> és RIF-rezisztencia kimutatása közvetlenül a mintából	Cepheid GeneXpert System, USA	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium

5. Rezisztencia meghatározása

Ajánlás6

Tuberkulózisban szenvedő beteg elsőként izolált mycobacterium-tenyészetéből kötelező elvégezni az antituberkulotikumokkal szembeni rezisztenciameghatározást (kezdeti rezisztenciavizsgálat) (A).

A Nemzeti Tuberkulózis Program elvárásának, valamint a nemzetközi ajánlásoknak megfelelően minden újonnan felismerésre került, tuberkulózisban szenvedő beteg elsőként izolált tenyészetéből kötelezően antituberkulotikumokkal szembeni rezisztenciameghatározást kell végezni. Amennyiben a laboratórium nem végez rezisztenciavizsgálatot, vagy multirezisztens (MDR) *M. tuberculosis* törzset talál, a törzset a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumba kell továbbítani kontrollvizsgálat, illetve a másodrendű szerek iránti rezisztenciameghatározás céljából. A másodrendű szerek iránti rezisztenciavizsgálatokat csak a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium végzi. NTM törzsek esetében, egyes kivételektől eltekintve (*M. avium*, *M. kansasii*, gyorsan növekvő NTM-ek), a rutinszerű rezisztenciameghatározás a megfelelően standardizált módszerek hiányában nem javasolt [3, 20–22, 25, 26, 28].

Ajánlás7

A folyékony tenyészetben végzett rezisztenciavizsgálat bevezetése ajánlott a nagy anyagszámmal dolgozó mycobacteriologiai laboratóriumokban (B).

Mind az antituberkulotikumra érzékeny, mind az arra rezisztens kórokozót hordozó betegek esetében az adekvát kezelés folytatásához, a beteg compliance-ének megtartásához és javításához kívánatos, hogy a rezisztenciavizsgálatok eredményei mihamarabb, de a mintavételtől számított legkésőbb 8 héten belül rendelkezésre álljanak. Ehhez a folyékony táptalajban végzett rezisztenciavizsgálatok adnak lehetőséget, mert a 4 első vonalbeli antituberkulotikumon (INH, RMP, ETB, PZA) kívül a másodrendű szerek többségével szembeni rezisztenciavizsgálatok is 4-6 nap alatt elvégezhetők [3, 20–22, 25, 26, 28].

Ajánlás8

A multirezisztens *M. tuberculosis* törzsek gyors detektálásához a nukleinsav-kimutatáson alapuló módszereket kell alkalmazni (B).

Az MDR tuberkulózis fenyegető mértékű globális terjedése miatt a rezisztenciaeredményekhez való gyors hozzájutás bevezetése alapvető célkitűzéssé vált. A WHO állásfoglalása szerint: A reverz hibridizáción alapuló line probe assay-k alkalmasságát a mikroszkóposan pozitív esetek RMP, illetve INH + RMP rezisztencia detektálására megfelelő számú evidencia alapján bizonyították.

- Ha a line probe assay érzékeny törzset detektál, az érzékeny *M. tuberculosis* okozta infekció diagnózisa elfogadható, és a kezelés az elsőrendű szerekkel azonnal megkezdhető.
- Ha a line probe assay rezisztens törzset detektál, további tenyésztés, majd a kitenyésztett törzssel az első- és másodrendű szerek iránti rezisztenciavizsgálatot el kell végezni.

Fontos, hogy az MDR törzs esetében a szükséges közegészségügyi intézkedések késedelem nélkül elindíthatók. A módszerek bevezetését a nemzetközi ajánlásokkal megegyezően a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumban, illetve a technikailag jól felszerelt és képzett munkaerővel rendelkező mycobacteriologiai laboratóriumokban ajánljuk [3, 4, 6–9, 29].

6. Molekuláris módszerek egyedi alkalmazása

Ajánlás9

Tbc-re gyanús, súlyos állapotban lévő beteg esetében, illetve differenciáldiagnosztikai célból a mycobacteriumok direkt nukleinsav-amplifikációs módszerrel (DNAM) történő direkt kimutatása javasolt a vizsgálati anyagból (B).

A DNAM legfontosabb előnye, hogy 6-8 órán belül elvégezhető, ezért a kezelőorvos részéről elvárható, hogy az eredmények még a mintafeldolgozás napján, de legkésőbb 24 órán belül visszajelzésre kerüljenek.

Mikroszkópos vizsgálattal pozitívnak bizonyuló mintából csak akkor javasolt a DNAM elvégzése, ha olyan betegről van szó, akinél NTM kóroktani szerepe vetődik fel (például HIV-fertőzött, transzplantált beteg, cysticus fibrosis). Mikroszkóposan negatív beteg esetében csak akkor indokolt ilyen vizsgálat végzése, ha a tuberkulózis diagnózisának felállítása komoly differenciáldiagnosztikai problémát jelent a rendelkezésre álló egyéb klinikai adatok tükrében, amelyet a klinikus előre kell, hogy jelezzen a vizsgálatkérő lapon. A direkt nukleinsav-amplifikációs vizsgálatra kerülő mintákból – függetlenül az eredménytől – a mikroszkópos és tenyésztéses vizsgálatokat is el kell végezni [9, 11, 12, 18, 19, 21, 22, 27, 30].

Ajánlás10

***M. tuberculosis* complex izolátumok tipizálása nukleinsav-kimutatáson alapuló módszerekkel referencialaboratóriumban javasolt epidemiológiai célból (B).**

A nemzetközi irodalmi adatok alapján a *M. tuberculosis* complexbe tartozó izolátumok tipizálását (RFLP, spoligotyping, VNTR-MIRU) sikeresen alkalmazzák különböző járványok vizsgálatára, a tuberkulózis aktív transzmisszióját befolyásoló rizikótényezők vizsgálatára (például antituberkulotikum-rezisztencia), valamint a konvencionális módszerekkel azonosíthatatlan kontaktok kiszűrésére és ezáltal a fertőzési lánc felderítésére. Jól használhatók ezek a módszerek a különböző veszélyeztetett szubpopulációkon belül a tuberkulózis transzmisszójának vizsgálatára és a

laboratóriumi keresztfertőzések okozta téves diagnózisok kiszűrésére. Az ilyen helyzetekben szükséges prevenció lépések meghatározásához és megtételéhez hazánkban is szükséges a molekuláris epidemiológiai vizsgálatok bevezetése legalább a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumban [3, 12, 21, 24].

7. Egyéb ajánlás

Ajánlás11

Latens tuberkulózisfertőzés kimutatására immunszerológiai módszerek alkalmazása javasolt (C).

A tuberkulin- (Mantoux-) próbát nem helyettesítő, de annál határozottan specifikusabb módszerek az *in vitro* interferon-gamma gyorsteszték (IGRA), a latens tuberkulózis kimutatására szolgálnak. Biológiai terápia alkalmazása előtt, a latens tbc-fertőzés reaktiválódásnak veszélye, továbbá az 5 év alatti gyermekek és immunszupprimáltak tbc-gyanúja esetén választható diagnosztikus módszerek [3, 6, 31].

8. Eredmények és közlésük

Ajánlás12

A mintavétel időpontjától számítva, a tbc izolálása, identifikálása 3-6 héten belül, az ezt követő rezisztenciavizsgálatok pedig újabb 2-6 héten belül eredményt kell, hogy adjanak, amennyiben a laboratórium a hagyományos módszereket használja (A).

Ajánlás13

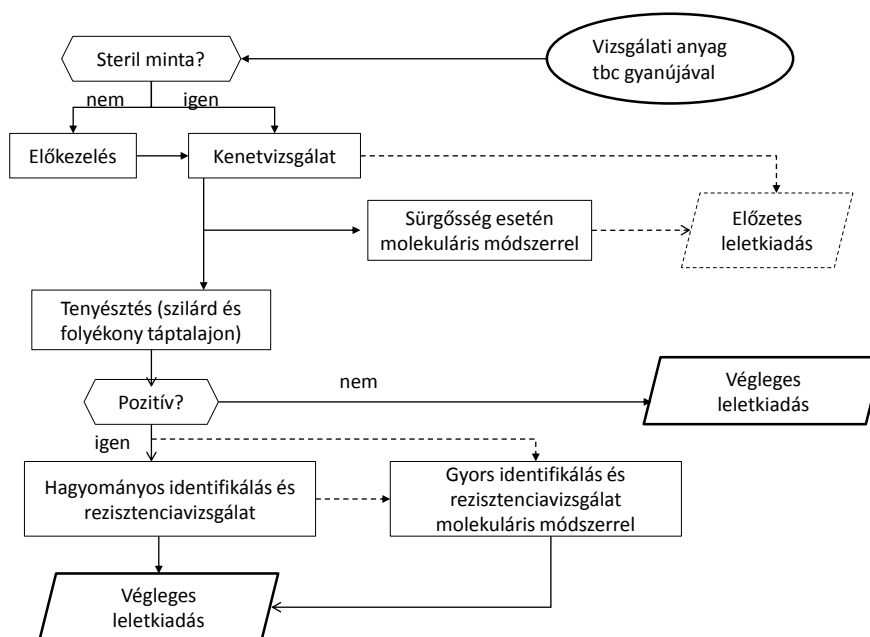
A mycobacteriologiai diagnosztikát végző laboratóriumok kötelesek az elvégzett vizsgálatok eredményéről a legrövidebb időn belül elektronikusan vagy postai úton értesíteni a beküldő orvost (C).

A különböző módszerekkel kapott eredmények interpretálása elengedhetetlen, beleértve az alkalmazott hagyományos vagy molekuláris módszerek szenzitivitásának és specifitásának értékelését is. Mivel a mycobacterium-diagnosztika meglehetősen időigényes, és a végleges eredmény kiadása sokszor csak több héttel a minta beérkezése után lehetséges, előzetes/köztes eredmény kiadása sokszor több időpontban is javasolt [3].

Ajánlás14

Minden mycobacteriumdiagnosztikát végző laboratórium köteles a végzett vizsgálatok eredményéről (izolált törzsek speciesmeghatározása, rezisztenciameghatározása, MDR és XDR törzs és a direkt nukleinsav- vagy proteinkimutatáson alapuló diagnosztika eredményéről) évente jelentést küldeni a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumnak és az aktuális jogszabályban előírt országos szervezetnek (D).

2. Az ellátási folyamat algoritmususa



VII. AJÁNLÁSOK SZAKMAI RÉSZLETEZÉSE

1. A minta előkezelése: homogenizálás, dekontaminálás [3, 20–24]

Ajánlás1

A nem steril testtájról származó, kontaminálnak tekinthető vizsgálati anyagok esetében a tenyésztés előtt a minta előkezelését el kell végezni (A).

A mycobacteriumok osztódási ideje meglehetősen hosszú (16-20 óra) ezért a nem steril testtájékokról származó minták (például köpet, vizelet, széklet) nem mycobacterialis, úgynevezett kontamináns baktériumai számottevően gyorsabb növekedési ütemüknek köszönhetően könnyen túlnőhetik az adott klinikai minta mycobacteriumait. Az álnegatív eredmények elkerülése céljából a mycobacteriologiai laboratóriumok ezeket a klinikai mintákat úgynevezett dekontaminációs eljárásnak vetik alá. A dekontamináció steril testtájékról származó minták esetében (például liquor cerebrospinalis, pleuralis folyadék) nem szükséges. A dekontaminálás során alkalmazott vegyszerek a kontamináns baktériumok vagy gombák előlészén kívül segítenek a gyakran erősen purulens minták homogenizálásában, valamint a centrifugálási lépések közbeiktatásával az esetlegesen jelenlévő mycobacteriumok koncentráálásában is. A dekontaminálás hatékonyságát befolyásolja az alkalmazott reagens toxicitása, expozíciós ideje, és a centrifugálási lépés során keletkező hő károsító hatása. Mindezeketől függően még a legenyhébbnek számító dekontaminálási módszer a N-acetyl-L-cystein-NaOH (NALC-NaOH) is elpusztítja a minta mycobacterium tartalmának legalább 33%-át, míg erősebb

reagensek (például klórhexidin-digluconát) alkalmazása esetén ez az érték könnyen 70%-ra emelkedhet, ami jelentősen csökkentheti a különböző tenyésztési eljárások érzékenységét.

Dekontaminációs módszerek:

- N-acetyl-L-cystein-NaOH (NALC-NaOH) eljárás [3, 21]. A CDC, valamint a jelentősebb nyugat-európai mycobacteriologiai referencialaboratóriumok (ECDC) is a NALC-NaOH előkezelést ajánlják. A folyékony tenyésztőrendszerek rutinszerű alkalmazásának feltétele ezen előkezelési technika használata, ezért elengedhetetlen ennek az új módszernek a fokozatos hazai bevezetése.
- Klórhexidin-digluconatos eljárás [25]: Számos hazai mycobacteriologiai laboratórium használja ezt a módszert, elsősorban olcsósága miatt. A módszer nem túl munkaigényes, egyszerűen kivitelezhető, nem kell a vizsgálati anyagot centrifugálni, semlegesíteni, ezért tömeges minta feldolgozására is kiválóan alkalmas. A módszer hátránya, hogy jobban károsítja a mycobacteriumokat, mint a NALC-NaOH technika, és csak szilárd alapú tenyésztés esetén alkalmazható. A két eljárás összehasonlító vizsgálata szerint a Löwenstein–Jensen-táptalajon történő tenyésztés pozitivitásának aránya közel duplájára emelkedik, ha a NALC-NaOH előkezelést alkalmazzák. A klórhexidines módszerrel történő előkezelés a folyékony táptalajon való tenyésztésre alkalmatlan (roncsolja a táptalajt), így napjainkban az újabb folyékony alapú táptalajok hazai elterjesztésének gátjává vált.
- Oxálsavas előkezelés [22]: Bizonyos betegcsoportok megkülönböztetett figyelmet igényelhetnek a dekontaminálás vonatkozásában. Így például a cysticus fibrosisban szenvedő betegek légúti mintájából egyre gyakrabban kerül izolálásra klinikai szignifikanciával (például transzplantálhatóság kérdése) bíró NTM-csoportba tartozó törzs. Azonban az esetek 80%-ában a minta *Pseudomonas aeruginosa*-t is tartalmaz, amely könnyedén túlnövi a tenyésztés során a mintában jelenlévő NTM-et, és álnegatív tenyésztéshez vezet még a rutinszerűen alkalmazott dekontaminálási módszerek mellett is. Ezért az ilyen betegek esetében speciális 5% (v%) oxálsavas kezeléssel kiegészített dekontaminálás javasolt.

Az alkalmazott dekontaminációs módszerek értékelése (belső minőségbiztosítás):

Bármely más dekontaminációs eljárás alkalmazása esetén értékelni kell annak alkalmazhatóságát az adott laboratórium körülményei között az alábbiak szerint:

A táptalaj beszennyeződésének mértékéből következtetni lehet az alkalmazott dekontaminációs eljárás kivitelezésének helyességére. Így szilárd táptalajon a 3%-nál alacsonyabb, illetve folyékony táptalajt használva az 5-8%-nál alacsonyabb kontaminációs ráta esetén a dekontaminálás túl erős, míg az ezen értékek feletti arány túl gyenge dekontaminálásra utal.

2. Mikroszkópos vizsgálat [3, 5, 10, 20, 21, 24–26]

Ajánlás2

Minden tbc-diagnosztikára érkezett minta mikroszkópos vizsgálatát el kell végezni, és az eredményről 24 órán belül értesíteni kell a kezelőorvost (A).

A direkt mikroszkópos vizsgálat a mycobacteriológiai vizsgálatok legolcsóbb, legegyszerűbben kivitelezhető és leggyorsabb módszere. Egyes laboratóriumokban (M1 kompetenciaszintű laborokban jellemzően) a minta dekontaminálás nélkül, közvetlenül kerül mikroszkópos vizsgálatra, az így készült keneteket direkt keneteknek, az így végzett vizsgálatokat direkt mikroszkópos vizsgálatnak nevezzük.

A gyakorlatban azonban az indirekt mikroszkópos vizsgálat a gyakoribb, és az is a javasolt, amikor a minták dekontaminálásra kerülnek, és a mikroszkópos kenet nem közvetlenül a klinikai mintából, hanem a minta előkezelt, centrifugált üledékéből készül. Magasabb érzékenysége miatt a direkt módszerrel szemben ez a módszer választandó, azonban tudni kell, hogy a dekontaminálás során felhasznált steril desztillált víz tartalmazhat előtt saválló környezeti baktériumokat, amelyek álpozitívá tehetik a kenetet, ezért ilyenkor szűrt, steril desztillált víz használata ajánlott.

A kenetkészítést követően a festés a Ziehl–Neelsen-féle (ZN) vagy auramin alapú fluoreszcen eljárásokkal történhet. A Kinyoun-féle festés alacsony érzékenysége miatt nem ajánlott módszer. A ZN-festést követően a mycobacteriumok vörös pálcákként észlelhetők a kék vagy zöld háttér kontrasztja mellett. Az auramin festést követően a mycobacteriumok sárgászölden fluoreszkálnak fekete háttér mellett. A fluoreszcens mikroszkópia elsősorban azon laboratóriumok számára ajánlható, amelyek nagy esetszámmal dolgoznak. A sötét háttér mellett ugyanis a mycobacteriumok könnyebben észlelhetők, a fluoreszcens mikroszkóp látótere nagyobb, mindezek miatt egy-egy kenet áttekintése gyorsabb. Ez a módszer azonban még a ZN-vizsgálathoz képest is nagyobb gyakorlatot igényel, a kevésbé tapasztalt vizsgáló gyakran jelez vissza álpozitív eredményt, a fluoreszcen festékrögeket nézve baktériumnak. Emellett, a fluoreszcens festés a karbol-fukszinhoz képest sokkal jobb hatásokkal képes megfesteni az antituberkulotikus kezelés miatt már károsodott saválló baktériumokat, így a mikroszkópos pozitívítás a fluoreszcens festés mellett hosszabb ideig detektálható egy kezelt beteg esetében, ami nem feltétlenül jelenti azt, hogy a kezelés inadekvát, vagy a beteg még mindig fertőző. További eltérés a ZN-festéshez képest, hogy a mintában esetlegesen jelen lévő vér álpozitívítást okozó fluoreszcenciát eredményezhet. Mindezek miatt minden újonnan felismerésre került beteg esetében a fluoreszcens mikroszkópos pozitívítást ZN-festéssel javasolt megerősíteni.

A mikroszkópos vizsgálatok érzékenysége, specifikitása:

A mikroszkópos vizsgálat legnagyobb hátránya, hogy nem kellően érzékeny és a negatív eredmény kiadásához minimum 100-300 látótér áttekintése szükséges, ami meglehetősen munkaigényes. A *mikroszkópos vizsgálat érzékenysége* az adott betegpopuláción belül függ a tuberkulózisban szenvedő betegek arányától, a vizsgált minta típusától (felső légúti vs. mély légúti), a mintagyűjtés minőségétől, a mycobacteriumok mintán belüli számától, az alkalmazott dekontaminálási és centrifugálási módszertől (cytocentrifugálás), a

centrifuga minőségétől (legalább 3000g) és *mindössze* 50-75%. Míg a pozitív mikroszkópos eredmény felveti tuberkulózis diagnózisát, addig a negatív eredmény, az alacsony érzékenységi mutató miatt, nem zárja ki a tuberkulózis lehetőségét. Legalább 10^4 mycobacterium/ml jelenléte szükséges ahhoz, hogy egy kenet teljes átvizsgálását követően legalább néhány saválló pálcát találjunk.

A mikroszkóposan pozitív betegek tehát megkülönböztetett figyelmet igényelnek, hiszen az általuk ürített baktériummennyiség miatt ezek a betegek a legfertőzőbbek. Éppen azért, hogy az ilyen esetben szükséges izolációs lépések időben foganatosíthatók legyenek, a pozitív mikroszkópos vizsgálati eredményt (különös hangsúllyal a savállóra pozitív eredményt) a laboratórium 24 órán belül vissza kell, hogy jelezze a vizsgálatkérő számára.

Nem szabad elfeledkeznünk azonban arról a tényről sem, hogy a mikroszkópia nem képes különbséget tenni az élő és élettelen mycobacteriumok között. Így egy megfelelően kezelt és ellenőrzött beteg esetében a mikroszkópos vizsgálat negatívvá válást követő esetleges pozitivitása nem feltétlenül a klinikai romlás jele. Ugyancsak fontos szem előtt tartani azt a tény is, hogy a mikroszkópos vizsgálat nem tud különbséget tenni a *M. tuberculosis* complex és az NTM-ek között. Azaz a kenet pozitivitása atípusos *Mycobacterium* jelenlétének eredménye is lehet, amely nem biztos, hogy klinikai fontossággal bír. Emellett az aerob *Actinomycetaceae*-k, legionellák egyes fajai is saválló-pozitivitást mutathatnak. Mindezek miatt a mikroszkópos vizsgálat eredményét saválló baktérium pozitív vagy negatív megjelöléssel kell visszajelezni.

A mikroszkópos vizsgálatok értékelése (belső minőségbiztosítás):

Pozitív és negatív kontrollt kell alkalmazni minden új festékkoldat használatánál. Minden kenet pozitív mintát és a negatívak legalább 10%-át egy második vizsgálaton ellenőriznie kell. Ugyancsak figyelemmel kell kísérni a mikroszkóposan pozitív és tenyésztéssel negatív betegek arányát is. Az ilyen betegek (elsősorban az újonnan nyilvántartásba vett betegekről van szó) arányának kevesebb, mint 1%-nak kell lennie. Az ennél magasabb arány dekontaminálási, tenyésztési (táptalajminőség, rövid inkubációs idő) hibát, nehezen tenyészthető NTM (például *M. haemophilum*, *M. genavense*) jelenlétét vagy laboratóriumi keresztfertőzést jelezhet.

3. Tenyésztési eljárások [3, 20–26]

Ajánlás3

A tbc-kimutatásra érkezett vizsgálati minta tenyésztését párhuzamosan folyékony és szilárd táptalajon is el kell végezni (A).

A mycobacteriologiai vizsgálatok következő lépése a dekontaminált minta tenyésztése, amely továbbra is nélkülözhetetlen a tbc-diagnosztikában a következő okok miatt:

- A tenyésztés érzékenysége nagyságrendekkel nagyobb, mint a mikroszkópos vizsgálatoké.
- A *M. tuberculosis* complexen belüli species diagnózishoz, a különböző NTM törzsek azonosításához, a molekuláris epidemiológiai vizsgálatok elvégzéséhez (DNS-ujjlenyomat-vizsgálat) megfelelő mennyiségű biomasszára van szükség, amelyet a tenyésztés biztosít.

- A rezisztenciavizsgálatok elvégzéséhez élő kórokozót ugyancsak a tenyésztés biztosít.

A mycobacteriumok izolálására használt legismertebb táptalaj a tojás alapú, szilárd Löwenstein–Jensen (LJ) táptalaj. Az agar alapú táptalajok, mint amilyen a Middlebrook 7H10 vagy 7H11 agar, az LJ táptalajhoz képest a némileg gyorsabb tenyésztési idő és a transzparenciájuk folytán megvalósítható egyszerűbb kolóniamorfológia-vizsgálat lehetősége miatt kedveltek. Mindazonáltal, ezeken a hagyományos szilárd táptalajokon a *M. tuberculosis* telepei általában 3-6 hét elteltével jelennek csak meg. Az izolálást követő identifikálás, majd rezisztencia meghatározása további 2-6 héttel növelheti ezt az amúgy is tetemes tenyésztési időt. Mindemellett a vizsgálatok azt is igazolták, hogy csak szilárd táptalajon történő tenyésztéssel a klinikailag egyértelműen tuberkulózisban szenvedőnek diagnosztizált betegek mintáiból mintegy 20-30%-ban nem sikerült a *M. tuberculosis* törzset izolálni. Ez az adat világosan jelzi, hogy a szilárd táptalajon való tenyésztés érzékenysége, bár lényegesen jobb, mint a mikroszkópos vizsgálaté, mégsem haladja meg a 70-80%-ot.

A vizsgálatok elvárt eredményközlési időintervallumának (Ajánlás12-13) teljesítéséhez nélkülözhetetlen a folyékony táptalaj alapú rendszerek rutinszerű alkalmazása. Folyékony táptalajon tenyésztve, a tenyésztési idő a minta *Mycobacterium* tartalmától függően 1-3 hétre rövidíthető. Emellett a folyékony táptalajok szenzitivitása 90% feletti, valamint előnyük hogy automatizálhatók. Hátrányuk, hogy jóval hajlamosabbak a befertőződésre.

A tenyésztési módszerek érzékenysége:

Bár a folyékony táptalajok alkalmazása jelentősen csökkenteni képes a tenyésztési időt, szilárd táptalajra azért továbbra is szükség van, mivel bizonyos törzsek nem növekednek jól a folyékony táptalajokban. A tenyésztés érzékenységét jelentősen befolyásolja a szilárd táptalaj pH-értéke is. A rutinszerűen alkalmazott pH 7-es LJ-táptalaj nem felétlenül alkalmas minden *Mycobacterium species* optimális tenyésztésére. Így olyan helyeken, ahol bizonyos NTM okozta megbetegedések gyakoribbak (például HIV-fertőzöttek) vagy endémiások, szükség lehet egy savanyú pH-érékű LJ-re vagy a pH 6 értékű Ogawa- (Japánban elterjedt tojás alapú) táptalajra való leoltásra is. A szilárd táptalaj további előnye, hogy a növekedés kvantitatív formában is visszajelenthető, a kolóniamorfológia és a pigment termelés is vizsgálható, illetve kellő mennyiségű biomassza biztosítható az identifikálást segítő biokémiai tesztekhez.

Önmagában tehát sem a szilárd, sem a folyékony táptalaj érzékenysége nem éri el a 100%-ot, azaz mindkét táptalajtípus esetében előfordulhatnak olyan törzsek, amelyek vagy csak az egyik vagy csak a másik táptalajtípuson képesek növekedni. Ez az oka, hogy a nemzetközi ajánlásoknak megfelelően a mycobacteriumok izolálását folyékony és szilárd táptalajt is egy időben használva kell végezni, a kórokozó minél gyorsabb és érzékenyebb detektálása, valamint a rezisztenciavizsgálatok minél gyorsabb elvégezhetősége érdekében. Amennyiben a beoltott folyékony vagy szilárd táptalajokon növekedés nem észlelhető, úgy negatív tenyésztési eredmény 8 hetes inkubálást követően adható ki.

Az előkezelési és tenyésztési eljárások ellenőrzése (belső minőség-biztosítás)

Általános:

- Az összes eszköz és berendezés szabályozott időközönkénti kontrollvizsgálatát el kell végezni, különös tekintettel a lamináris fülkékre és a centrifugákra.

Naponként ellenőrizni kell:

- A reagensek lejáratí idejének kontrollja: a NALC-ot mindig a munkafolyamat kezdetén kell a NaOH-hoz adni, NALC-NaOH oldatot 24 órán túl nem szabad felhasználni.
- Folyamatosan monitorozni kell a szennyezett minták százalékos előfordulását.
- Ha ismételt azonos szennyező baktérium tenyész ki, ellenőrizni kell az összes felhasznált reagens sterilitását.
- A dekontaminálás kezdetén és végén egy-egy cső (5 ml) steril desztillált vízzel, illetve fízológias sóoldattal is el kell végezni a munkafolyamatot.
- Az előkezeléshez használt reagenseket a munkafolyamat előtt véres agarra kell oltani.
- Ellenőrizni kell a táptalajok és a reagensek lejáratí idejét.
- Minden új, házilagosan gyártott táptalajszorozat minőségi vizsgálatát M. fortuitummal (ATCC 6841), egy gyorsan növé NTM-mel ajánlott elvégezni.
- A kereskedelmi forgalomban kapható, minőségbiztosítási tanúsítvánnyal ellátott táptalajokat nem szükséges ellenőrizni, de a felhasznált táptalajok gyártási számát fel kell jegyezni.

Hetente ellenőrizni kell:

- Meg kell határozni a szennyezett tenyészetek százalékos előfordulását. Szilárd táptalaj esetén az >5%, folyékony táptalaj esetén a >8-10% kontamináció inadekvát előkezelési munkafolyamatra utal. A <3% szennyeződés túl erős dekontaminációt jelez.

Havonta ellenőrizni kell:

- Monitorozni kell a M. tuberculosis-pozitív tenyészetek számát.
- Monitorozni kell a kenetben pozitív és tenyésztéssel negatív minták számát. Ha az ilyen minták száma meghaladja az 1%-ot, ez túl erős előkezelésre, nem megfelelő minőségű táptalajokra, különleges igényű mycobacteriumokra, vagy antituberkulotikus kezelés alatt álló beteg mintájára utal.
- Monitorozni kell a kenet negatív, tenyésztéssel pozitív minták számát. Az elvárhatóság kb. 30%. Monitorozni kell a kenet negatív és mindössze egy pozitív tenyészetrel rendelkező betegek számát.
- Monitorozni kell a kenetben és tenyésztéssel is pozitív esetek arányát. Az elvárt mérték 95%.
- Monitorozni kell a tenyészetek pozitívvá válásának idejét külön a szilárd és folyékony táptalajok esetében mind kenet pozitív, mind a kenet negatív mintáknál

A fenti értékektől való szignifikáns eltérés nem megfelelő előkezelési eljárásra, vagy álopozitív tenyészetek előfordulására utal.

Álopozitív tenyészetek előfordulása pozitív mintákkal történő kontamináció következtében:

A mycobacteriologiai laboratóriumokban az előkezelési és tenyésztési eljárások során a vizsgálati anyag keresztfertőzése következtében álpozitívvá válhat. Az álpozitív tenyészetek elfogadható aránya nemzetközi ajánlások alapján kb. 3%. A keresztfertőzés létrejöhet az előkezelő szer adagolása vagy a semlegesítés során az aeroszolképződés miatt, esetleg a reagens csövek vagy oldatok kontaminálódhatnak saválló baktériummal. Ez utóbbiak könnyen szennyeződhetnek a vízben gyakran előforduló atípusos mycobacteriumokkal (*M. gordonae*, *M. xenopi*), ha a felhasznált víz nem volt steril. A vizsgálati anyagok átfertőződésének esélyét csökkenti, ha a laminális fülkében kisebb mennyiségű reagenst használunk, a manipulációk során alkalmanként csak egy minta csöve van nyitva, és a centrifugacsövek zárókupakját lassan nyitjuk ki az aeroszolképződés csökkentése érdekében.

4. A kitenyésztett mycobacteriumok identifikálása [3, 9 12, 20–22, 24–26]

Ajánlás4

A *M. tuberculosis* complex hagyományos módszerrel történő identifikálását minden mycobacteriologiai tenyésztőlaboratóriumnak el kell tudnia végezni (C). A klinikailag releváns NTM törzseket a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumba kell küldeni identifikálás vagy annak megerősítése céljából (D).

A különböző *Mycobacterium* fajok egymástól való elkülönítésének, identifikálásának hagyományos útját a különböző hőmérsékleti szinteken mutatott növekedési sajátosságok, a telepmorfológia és pigment termelés vizsgálata, valamint különböző enzimaktivitás vagy növekedésgátlás kimutatását célzó biokémiai reakciók elvégzése jelenti. Ezeknek a hagyományos identifikálási teszteknek a legnagyobb hátránya, hogy elvégzésük jelentős mennyiségű biomasszát igényel, amely szubkultúrákra való átolással a primer izolálást követően még további többhetes tenyésztéssel és idővesztéssel jár. Emellett a vizsgálatok elvégzése munkaigényes, az eredmények értékelése sok esetben szubjektív. Az utóbbi évek során nagy számban írtak le olyan új NTM törzseket, amelyek identifikálása a hagyományos módszerek segítségével egyáltalán nem lehetséges, ezeket a fajokat csak az új molekuláris biológiai vagy egyéb új módszerek alkalmazásával lehet felismerni. Mindezen okok miatt a hagyományos identifikálási módszerek szerepe világszerte igen jelentősen visszaszorulóban van. A *M. tuberculosis* complex identifikálására és az ehhez szükséges alapvető hagyományos identifikálási módszerek elvégzésére (niacin, nitrát-reduktáz teszt) minden mycobacteriologiai tenyésztést végző laboratóriumnak képesnek kell lennie. Az átfutási idő mérséklésére azonban hazai viszonylatban is meg kell teremteni a molekuláris vagy egyéb gyors identifikálási módszerekhez (Ajánlás5) való hozzáférés lehetőségét, legalább a magasabb kompetenciájú, nagy anyagszámmal dolgozó mycobacteriologiai laboratóriumok számára. A klinikailag releváns NTM törzseket a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumba kell küldeni identifikálás céljából [3, 20–22, 24–26].

A hagyományos identifikálási módszerek ellenőrzése (külső minőségbiztosítás)

A mycobacteriológiai laboratóriumoknak a szakterületen szervezett hazai körvizsgálatokban, jártassági vizsgálatokban való részvétellel és megfelelő eredménnyel kell igazolni a jártasságukat *M. tuberculosis* complexbe tartozó törzsek identifikálásában.

Ajánlás5

Amennyiben gyors identifikálás szükséges, javasolt valamely nukleinsav/protein kimutatáson alapuló módszer elvégzése (B).

A kereskedelmi forgalomban napjainkban többféle molekuláris módszerrel alapuló identifikáló teszt kapható, amelyek különböző immunkromatográfiás, géntechnikai, folyadékkromatográfiás vagy tömegspektrográfiás módszert alkalmaznak a *Mycobacterium* speciesek azonosítására. Hogy a laboratórium milyen módszert használ, függ a laboratórium költségviselő képességétől, a rendelkezésre álló felszereltségétől és szaktudástól.

Az egyszerű és gyorsan elvégezhető, **immunkromatográfiás** módszer a *M. tuberculosis* complexet különíti el az NTM törzsektől. A módszer a *M. tuberculosis* törzsekre specifikus MPB64 protein és az ez ellen termelt monoklonális antitestek reakcióján alapszik. Pozitív reakció esetén a cellulóz membránhoz kötött anti-MPB64 monoklonális antitestek reakcióba lépnek a MPB64 proteinnel, és 15 percen belül egy piros gyűrű válik láthatóvá. A módszer specificitása a vizsgálatok szerint 100%, és a szenzitivitása is 90% feletti. Minden mycobacteriológiai tenyésztőlaboratórium számára ajánlott a gyorsasága miatt a hagyományos identifikálás kiváltására.

A **reverz hibridizáció**n alapuló identifikáló tesztek használata során egy speciális DNS-szakaszt sokszorozunk PCR segítségével, majd a DNS-terméket egy tesztcsíkon elhelyeztük, az egyes mycobacteriumokra specifikus próbákkal hibridizáltatjuk. Ezek a rendszerek egyes esetekben a *Mycobacterium* genus vagy a *M. tuberculosis* complex elkülönítésére alkalmasak, vagy a *M. tuberculosis* complexen kívül az összes jelenleg ismert klinikailag fontos NTM kimutatására is alkalmasak. Lehetőség van a *M. tuberculosis* complex, valamint a *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. gordonae*, *M. scrofulaceum*, és *M. chelonae* egyidejű azonosítására is.

A **real-time PCR** módszerrel alapuló assay előnye, hogy szimultán, egy lépésben, néhány óra alatt képes detektálni a *M. tuberculosis* complexet és a rifampicinnel szembeni rezisztenciát direkt a mintából vagy a tenyészetből. Az assay egy zárt rendszerű, keresztkontaminációra nem érzékeny teszt, amelynek magas a szenzitivitása.

A **DNS-szekvenálás** a mycobacteriumok identifikálásának jelenleg a legpontosabb módszere. Az egyes törzsek azonosításán kívül információval szolgál az egyes fajok filogenetikájáról és rokonsági fokáról is. A DNS-szekvenálás során egyes gének olyan fajspecifikus szakaszainak bázissorrendjét határozzák meg, amelyet azután már ismert és jól karakterizált törzsek bázissorrendjével vetnek össze. A referencia-bázissorrend adatbázisának összeállítása történhet „háziilagosan”, de kereskedelmi forgalomban árult adatbázisok is rendelkezésre állnak. A rutin alkalmazásban

mintegy referenciamódszerként legelterjedtebb DNS-szekvenálás a 16S rRNS hipervariábilis régiójának vizsgálatán alapszik. Automata DNS-szekvenáló műszer segítségével a vizsgálat 1-3 nap alatt elvégezhető. A DNS-szekvenálás lehetővé tette olyan NTM fajok felfedezését is, amelyek nem vagy nagyon nehezen tenyésztethetők, potenciálisan patogének, vagy egyelőre még nem kellően karakterizáltak, nem minden szempontból ismertek (patogenitás, rezervoár, transzmisszió stb.). A módszer alkalmazása referencialaboratóriumban indokolt.

A magas teljesítményű folyadékkromatográfia (high-performance/pressure liquid chromatography; HPLC) a *Mycobacterium* fajok specifikus sejtfal mycolsav összetételének gyors és pontos vizsgálatát teszi lehetővé, amellyel számos ismert, sőt, új, korábban még nem azonosított *Mycobacterium* faj identifikálása vált lehetővé. A HPLC berendezés megléte esetén a mérés olcsó és gyors, 2 órán belül elvégezhető. A módszer hátránya, hogy a szükséges műszer költséges és az eredmények értékelése gyakorlatot, nagy tapasztalatot igényel. A módszer alkalmazása referencialaboratóriumban indokolt.

A tömegspektrometriás módszer (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time of Flight Mass Spectrometry – MALDI-TOF MS) egy olyan eljárás, amely a lézerrel ionizált sejtkomponensek tömegét méri, az eredményt egy detektoron regisztrálják, így megkapják az egyes speciestekre jellemző proteinspektrumot. Egy szoftver segítségével a spektrumprofil alapján a törzs beazonosítható. A módszer alkalmazása referencialaboratóriumban indokolt.

Molekuláris módszeren alapuló identifikálási módszerek ellenőrzése (belső és külső minőségbiztosítás)

A fenti módszereket az immunkromatográfias módszer kivételével csak olyan, önálló M3-as besorolású mycobacteriológiai laboratórium, vagy M3 szintű mikrobiológiai laboratórium részlegeként működő mycobacteriológiai laboratóriumban lehet végezni, amely személyzet és felszereltség vonatkozásában alkalmas nukleinsav alapú módszerek végzésére, valamint alkalmazza a pozitív és negatív kontrollokat a folyamat végzése közben (belső minőségbiztosítás), és részt vesz külső szervezet által szervezett minőség-ellenőrzési körkísérletben.

5. Rezisztenciameghatározás [3, 4–9, 20, 21, 22, 25, 26, 28, 29]

Ajánlás6

Tuberkulózisban szenvedő beteg elsőként izolált tenyészetéből kötelezően meg kell határozni az antituberkulotikumokkal szembeni rezisztenciát (kezdeti rezisztenciavizsgálat) (A).

Ajánlás7

A folyékony tenyészetben végzett rezisztenciavizsgálat bevezetése ajánlott a nagy mintaszámmal dolgozó mycobacteriológiai laboratóriumokban (B).

Hagyományos rezisztenciavizsgálati módszerek *Mycobacterium* törzsek esetén:

A szilárd táptalajon végzett rezisztencia-meghatározás (**proportiós módszer**) bár pontos, de meglehetősen idő- és munkaigényes (az izolálást követő további 3-5 hetes tenyésztésre van szükség). A vizsgálat biotermék igénye miatt szükség van az identifikált kórokozó LJ- vagy egyéb szubkultúrán történő felszaporítására, vagy ha a *M. tuberculosis* NTM-mel együtt, úgynevezett kevert tenyészet formájában került izolálásra, akkor a tenyészetnek az álrezisztenciához vezető NTM-től való megtisztítására, ami újabb többhetes idővesztést okozhat.

A folyékony táptalajon végzett rezisztenciavizsgálatokra a lehetőséget különböző folyékony tenyésztési rendszert gyártó cég teremtette meg. Az 4 első vonalbeli antituberkulotikumon (INH, RMP, ETB, PZA) kívül a másodrendű szerek többségével szembeni rezisztenciavizsgálatok kb. 4-6 nap alatt elvégezhetők automata rendszerben vagy manuálisan, és a klinikus számára visszajelezhetők.

A hagyományos rezisztenciavizsgálatok ellenőrzése (minőségbiztosítás)

A rezisztenciavizsgálatok megbízhatósága kiemelten fontos, ezért elengedhetetlen, hogy minden rezisztens izolátum kontrollvizsgálata megtörténjen, a vizsgálat eredménye a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumban megerősítésre kerüljön. Különösen fontos az MDR törzsek rezisztenciájának minőségi kontrollja. Az MDR törzsek ellenőrző vizsgálata mellett a referencialaboratórium automatikusan elvégzi a másodvonalbeli szerekkel szembeni rezisztenciameghatározást is, ezért ezen törzseknek a referencialaboratóriumba történő továbbítása kötelező.

A *M. tuberculosis* izolátumokkal szemben a NTM törzsek esetében, egyes kivételektől eltekintve (*M. avium*, *M. kansasii*, gyorsan nöövő NTM törzsek), a rutinszerű rezisztencia meghatározás a megfelelően standardizált módszerek hiányában nem javasolt.

Ajánlás8

A multirezisztens *M. tuberculosis* törzsek gyors detektálásához a nukleinsav-kimutatáson alapuló módszereket kell alkalmazni (B).

Mind az antituberkulotikum érzékeny, mind a rezisztens kórokozót hordozó betegek esetében az adekvát kezelés folytatásához, a beteg compliance-ének megtartásához és javításához kívánatos, hogy a rezisztenciavizsgálatok eredményei mihamarabb, de a mintavételtől számított legkésőbb 8 héten belül rendelkezésre álljanak. Ehhez a kórokozó izolálásához, identifikálásához és a rezisztenciavizsgálatokhoz alkalmazott gyorsabb átfutási időt biztosító, újabb rezisztencia meghatározási módszerek hazai rutinszerű bevezetése szükséges.

A rifampicin (RMP) kulcsfontosságú a tuberkulózis kezelésében és a gyógyszerrel szembeni rezisztencia mihamarabbi felismerése igen fontos a beteg számára. Az RMP-vel szembeni monorezisztencia ritka, az RMP-rezisztencia leggyakrabban az izonid- (INH-) rezisztenciához társulva, multidrug-rezisztencia (MDR) formájában jelentkezik. Így az RMP-rezisztencia gyors kimutatása nemcsak a kezelés optimalizálása szempontjából, hanem a legveszélyesebb, MDR törzsek okozta megbetegedésben szenvedő betegek gyors azonosítása szempontjából is fontos. Az RMP-rezisztenciát okozó mutációknak a kimutatása néhány órán belül elvégezhető az *rpoB* gén speciális

szakaszának DNS-szekvenálással, vagy a PCR és reverz hibridizáción alapuló line probe assay-k segítségével. A kereskedelmi forgalomban kapható tesztek az RMP-rezisztenciáért felelős *rpoB* génnek és az INH-rezisztenciáért felelős *katG* és *inhA* géneknek a mutációját szimultán is képesek kimutatni az izolált törzsből és közvetlenül a mikroszkópos vizsgálattal saválló pozitívnek bizonyult beteg mintájából is (lásd: 1. TÁBLÁZAT).

A MDR tuberculosis fenyegető mértékű globális terjedése miatt a rezisztencia-eredményekhez való gyors hozzájutás érdekében a WHO új diagnosztikai algoritmus bevezetését javasolta, elsősorban a mikroszkópos vizsgálattal saválló pozitívnek talált betegek esetében.

A WHO/ECDC állásfoglalása szerint:

- A reverz hibridizáción alapuló line probe assay-k alkalmasságát a mikroszkóposan pozitív esetekben a RMP, illetve INH + RMP rezisztencia detektálására közvetlenül a vizsgálati anyagból, együtt a kórokozó kimutatásával, megfelelő számú evidencián alapuló vizsgálattal bizonyították.
- Ha line probe assay érzékeny törzset detektál, megfelelő gyorsasággal biztosítható eredmény az érzékeny *M. tuberculosis* okozta infekció diagnózisának felállításához és a kezelés az elsőrendű szerekkel azonnal megkezdéséhez.
- Ha a line probe assay rezisztens törzset detektál közvetlenül a vizsgálati anyagból, az egy időben elindított tenyésztés során a kitenyésztett törzsből az első és másodrendű szerek iránti rezisztenciavizsgálatot is el kell végezni.

A módszerek bevezetését a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumban, illetve a technikailag jól felszerelt és képzett munkaerővel rendelkező mycobacteriologiai laboratóriumokban ajánljuk. A gyors eredménykiadási képesség lehetőséget biztosít a szükséges közegészségügyi intézkedéseket késedelem nélküli megkezdéséhez is.

Nukleinsav alapú módszerekkel történő mycobacterium rezisztencia-kimutatás ellenőrzése (külső és belső minőségbiztosítás)

A fenti módszereket csak olyan M3 szintű önálló vagy mikrobiológiai laboratórium részlegeként működő mycobacteriologiai laboratóriumban lehet végezni, amely személyzet és felszereltség és jártasság (az adott módszer folyamatos, legalább hetenkénti alkalmazása) alapján alkalmas molekuláris genetikai vizsgálatok végzésére, valamint alkalmazza a pozitív és negatív kontrollokat a folyamat végzése közben (belső minőségbiztosítás), és részt vesz külső szervezet által szervezett minőség-ellenőrzési körkísérletben.

6. Molekuláris genetikai módszerek egyedi alkalmazása [3, 9, 11, 12, 18, 19, 21, 27, 30]

Ajánlás9

Tbc-re gyanús, súlyos állapotban lévő beteg esetében, illetve differenciál-diagnosztikai célból a mycobacteriumok direkt nukleinsav-amplifikációs módszerrel (DNAM) történő direkt kimutatása javasolt a vizsgálati anyagból (B).

A direkt nukleinsav-amplifikációs módszereknek (DNAM) a mycobacteriologiában való alkalmazása a lassan tenyésztethető *M. tuberculosis* és a bizonyos speciális tenyésztési feltételeket igénylő, ezért nehezen izolálható nem tuberkulózist okozó mycobacteriumok (NTM) közvetlenül a klinikai mintából történő detektálásának gyors, 24 órán belüli kivitelezésének lehetőségét teremtette meg. Bár a nemzetközi irányelv [18] minden elsőként diagnosztizálandó tbc-gyanús beteg esetében legalább egy minta DNAM-mel történő vizsgálatát ajánlja, hazai körülmények között, ha a feltételek nem teljesíthetők (például vizsgálati költségek fedezete) a módszer rutinszerű alkalmazása mellőzhető. Mikroszkópos vizsgálattal pozitívnak bizonyuló mintából csak akkor javasolt a teszt elvégzése, ha olyan betegről van szó, akinél NTM kóroktani szerepe vetődik fel (például HIV-fertőzött, transzplantált beteg, cysticus fibrosis). Ilyen esetekben a tesztek érzékenysége a mikroszkóposan pozitív légúti minták esetében közel 100%. Mikroszkóposan negatív beteg esetében csak akkor végezzünk ilyen vizsgálatot, ha a tuberkulózis diagnózisának felállítása komoly differenciáldiagnosztikai problémát jelent a rendelkezésre álló egyéb klinikai adatok tükrében. A tesztek érzékenysége ezen betegcsoport esetében függ az alkalmazott módszertől és az irodalmi adatok alapján mindössze 70-90% [12, 18]. Az eredmények értékelése mindig individuálisan történjék. Elengedhetetlen, hogy a direkt nukleinsav-amplifikációs vizsgálatra kerülő mintákból egy időben a mikroszkópos és tenyésztéses vizsgálatok is elvégzésre kerüljenek.

A módszerek légúti vizsgálati anyagokra vannak validálva, érzékenységük extrapulmonalis minták esetében alacsonyabb. Extrapulmonalis kórképekben a módszer szenzitivitását jelentősen csökkenti a minta jellemzően alacsonyabb csíraszám, és az amplifikációt gátló inhibitorok esetleges jelenléte, amelyek aránya szignifikánsan magasabb, mint a légúti anyagokban.

A központi idegrendszer tuberkulózisa a humán gümőkór legveszélyesebb formája, ezért ebben a kórképben a gyors diagnózis felállítása kiemelkedően fontos. A publikált esetek alacsony száma és a módszerek elégtelen szenzitivitása miatt a meningitis basilaris diagnózisának gyors felállítására jelenleg nincs nemzetközileg ajánlott módszer. Metaanalízisek megállapítása szerint a DNAM technikák érzékenysége extrapulmonalis esetekben a vizsgálati mintától, a vizsgálóhelyektől és módszerektől függően széles határok között (27–85%) mozog. Meningitisben átlagosan 56% körüli.

A DNAM indikációi a hazai szakértői grémium konszenzusa alapján (nyomtatott forrás nem azonosítható):

- Mikroszkóposan negatív, akut súlyos állapotú betegnél tuberkulózis gyanúja esetén (például lélegeztetést igénylő pneumonia).
- Bármilyen rendkívüli sürgősséget igénylő esetben (például nem tüdőgyógyászati intézmény általi ellátásra szoruló tbc-s beteg esetében).
- Mikroszkóposan saválló-pozitív, immunszupprimált betegek esetében az NTM fertőzés fokozottabb veszélye miatt.
- Szervtranszplantált betegeknek.
- Fertőzésveszély kizárása érdekében, fokozottan veszélyeztetettek védelmében, mint például biológiai terápiában részesülők infekcióveszélye (mikroszkópos negativitás mellett is).

A DNAM legfontosabb előnye, hogy 6-8 órán belül elvégezhető, ezért a klinikus részéről elvárható, hogy az eredmények még a mintafeldolgozás napján, de legkésőbb 24 órán belül visszajelzésre kerüljenek.

Jelenleg többféle teszt van forgalomban (lásd: 1. TÁBLÁZAT), amelyek a mycobacteriumok direkt vizsgálati mintából történő kimutatása mellett egyes esetekben a species identifikálását és rezisztencia kimutatást is lehetővé tesznek. Gyári kitek a minta előkezeléséből, a nukleinsav izolálásából, amplifikációból és detektálásból állnak, és minden egyes kit lépésenként más-más módszert alkalmaz. Egyes tesztek csak a *M. tuberculosis* complexet detektálják, mások a *M. tuberculosis* complexet és az INH- és RMP-rezisztenciához társuló mutációkat is, és megint mások a *M. tuberculosis* complexen belüli specioseket is elkülönítik, illetve a gyakori és klinikailag releváns NTM-specioseket is képesek kimutatni. A módszerek szenzitivitása alapvetően a kenet pozitívításának függvénye, de az alkalmazott tesztenként is változó. A módszerek alkalmazása javasolt nagy mintaszámmal dolgozó mycobacteriologiai laboratóriumokban, ahol a módszerek kivitelezésére alkalmas laboratóriumi körülmények és személyzet rendelkezésre állnak, a költségviselési lehetőségektől függően.

A DNAM alkalmazásának ellenőrzése (minőségbiztosítás)

A fenti módszereket csak olyan M3 szintű, önálló vagy mikrobiológiai laboratórium részlegeként működő mycobacteriologiai laboratóriumban lehet végezni, amely személyzet és felszereltség vonatkozásában megfelel a nukleinsav alapú módszerek alkalmazására, valamint alkalmazza a pozitív és negatív kontrollokat a folyamat végzése közben (belső minőségbiztosítás), és részt vesz külső szervezet által szervezett minőség-ellenőrzési körkísérletben.

Ajánlás10

***M. tuberculosis* complex izolátumok tipizálása nukleinsav kimutatáson alapuló módszerekkel referencia laboratóriumban javasolt epidemiológiai célból (B).**

A molekuláris epidemiológia egyik arany standard módszere, a DNS-ujjlenyomat- (Restriction Fragment Length Polymorphism – RFLP) vizsgálat a mycobacteriumok tipizálására is alkalmazott módszer. Az enzimatis emésztés során nyert DNS-fragmentumok molekuláris mérete oly módon variálódik, hogy két nem azonos *M. tuberculosis* törzs egymástól eltérő mintázatot mutat a jelölt IS6110 próbával való hibridizációt követően. A DNS-ujjlenyomat-vizsgálatot sikeresen alkalmazzák különböző járványok vizsgálatára, a tuberkulózis aktív transzmisszióját befolyásoló rizikótényezők vizsgálatára (például antituberkulotikum-rezisztencia), a konvencionális módszerekkel azonosíthatatlan kontaktok kiszűrésére és ezáltal a fertőzési lánc felderítésére. Használják továbbá a különböző veszélyeztetett szubpopulációkon belül a tuberkulózis transzmissziójának vizsgálatára, és a laboratóriumi keresztfertőzések okozta téves diagnózisok kiszűrésére. További, a mycobacteriumok tipizálására alkalmas módszerek a PCR alapú spoligotyping és VNTR-MIRU (Variable Numbers of Tandem Repeats of Mycobacterial Interspersed Repetitive Units), valamint a tömegspektrometriás módszerek. Az ilyen helyzetekben szükséges prevenció lépések meghatározásához és

megtételéhez hazánkban is szükséges a molekuláris epidemiológiai vizsgálatok bevezetése legalább a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumban [3, 12, 21, 24].

A molekuláris tipizálási módszerek ellenőrzése (minőségbiztosítás)

A fenti módszereket csak a megfelelően felkészült Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumban lehet végezni, amely személyzet és felszereltség vonatkozásában alkalmas tbc-tipizálásra, nukleinsav alapú módszerek végzésére, és rendelkezik az ehhez szükséges szaktudással, valamint részt vesz nemzetközi szervezésű körkísérletben.

7. Egyéb ajánlások

Ajánlás11

Latens tuberkulózisfertőzés kimutatására immunszerológiai módszerek alkalmazása javasolt (C).

A *M. tuberculosis* specifikus antigénjei által aktivált immunsejtek (T sejtek) fokozott jelenlétét, illetve a sejtek által termelt gamma-interferon kimutatását teszik lehetővé. A tesztek a Mantoux-próbát nem helyettesítik, de annál határozottan specifikusabb módszerek, fajlagosságukat a BCG-vakcináció, és az atípusos mycobacteriumok (NTM) okozta infekciók többsége nem befolyásolja. A módszer alkalmazható TNF- α -kezelés előtt, a latens tbc-fertőzés reaktiválódásának veszélye miatt. 5 év alatti gyermekek és immunszupprimáltak esetében felmerülő tbc kimutatására, amikor a tuberkulin-teszt alkalmazása súlyos mellékhatásokkal járhat, biztonságos diagnosztikus módszer [3, 6, 31].

8. Eredmények és közlésük

Ajánlás12

A mintavétel időpontjától számítva, a tbc izolálása, identifikálása 3-6 héten belül, az ezt követő rezisztenciavizsgálatok pedig 2-6 héten belül eredményt kell, hogy adjanak (A).

A CDC, ECDC és a WHO ajánlása szerint a tbc izolálása, identifikálása, valamint az ezt követő rezisztenciavizsgálatok elvárt eredményközlési időintervallumának teljesítéséhez lehetőleg a mintavétel időpontjától számított 3-6 héten belül (izolálás, identifikálás), illetve 2-6 héten belül (rezisztencia meghatározás) történjenek meg. Negatív tenyésztési eredmény 8 hét elteltével adható ki [3, 5, 26].

Ajánlás13

A mycobacteriologiai diagnosztikát végző laboratóriumok kötelesek az elvégzett vizsgálatok eredményéről a legrövidebb időn belül elektronikusan vagy postai úton értesíteni a beküldő orvost (C).

Mivel a mycobacteriologiai diagnosztikát végző laboratóriumok a legkülönbözőbb izolálási és identifikálási, valamint rezisztencia meghatározási módszereket alkalmazzák, az egyes laboratóriumok kötelesek tájékoztatni a beküldő

orvosokat az általuk használt módszerek szenzitivitásáról és specificitásáról, valamint a vizsgálatok várható átfutási idejéről. A különböző időben rendelkezésre álló részeredményekről, valamint a végleges eredményről a legrövidebb időn belül elektronikusan vagy postai úton kell értesíteni a beküldő/kezelő orvost [3].

Ajánlás14

Minden *Mycobacterium*-diagnosztikát végző laboratórium köteles a végzett vizsgálatok eredményéről (izolált törzsek species-meghatározása, rezisztencia meghatározása, MDR és XDR törzs és a direkt nukleinsav- vagy protein kimutatáson alapuló diagnosztika eredményéről) évente jelentést küldeni a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumnak és az aktuális jogszabályban előírt országos szervezetnek.

VIII. AJÁNLÁSOK ALKALMAZÁSA

1. Az alkalmazás feltételei a hazai gyakorlatban

1.1. Személyi feltételek, ellátók kompetenciája (például licence, akkreditáció stb.), kapacitása

- A mycobacteriologiai tenyésztőlaboratórium vagy laboratóriumi részleg kompetenciaszintje szerinti személyi feltételeknek kell megfelelni. Konzultációra alkalmas diplomás (orvosi mikrobiológus szakorvos, klinikai mikrobiológus szakbiológus, mikrobiológus szakgyógyszerész) kell, hogy rendelkezésre álljon. Ez azt jelenti, hogy tudni kell a kapott leleteket értelmezni az alkalmazott módszerek függvényében és további vizsgálatokra javaslatot tenni.
- A mycobacteriologiai diagnosztika döntő többségét Magyarországon olyan, M2-M3 szintű mikrobiológiai laboratóriumok végzik, amelyek rendelkeznek a mycobacteriumok okozta infekciók speciális diagnosztikáját végző részleggel. Néhány, jelenleg is működő laboratórium esetében csak mycobacteriumok okozta infekciók diagnosztikája zajlik a laboratóriumban. Ezek integrálása feltétlenül indokolt lenne széles spektrumon működő M2-M3 kompetenciaszintű mikrobiológiai laboratóriumokba, ami lehetőséget biztosítana differenciáldiagnosztikai problémák közvetlen megoldására, valamint fejlett mikrobiológiai diagnosztikai eszközök alkalmazására. ZN-festésen alapuló direkt mycobacterium kimutatást M1 kompetenciaszintű laboratórium is végezhet, ha megfelelő gyakorlattal rendelkezik, azaz folyamatosan használja az egyéb festési eljárások mellett a ZN-festést és mikroszkópos értékelést.
- A mycobacteriologiai diagnosztika koordináló laboratóriuma a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium.

1.2. Speciális tárgyi feltételek, szervezési kérdések (gátló és elősegítő tényezők és azok megoldása)

Egészségügyi szakmai irányelv - A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról

- A mikrobiológiai laboratóriumok számára meghatározott minimumkövetelményekben külön meghatározásra kerültek a mycobacteriológiai részlegek minimumkövetelményei is. A WHO/ECDC ajánlások [5, 26] szerint mycobacterium diagnosztikát végző laboratóriumoknak rendelkezniük kell a minta kontaminációjának elkerülésére és a környezet és a laboratóriumi személyzet kontaminációjának elkerülésére biztosító berendezésekkel, mint például az újabban ajánlott a Class II típus A2 laminális fülke, amely típus esetén az érkező és távozó levegő egy HEPA-szűrőn keresztül távozik, és beköthető a laboratóriumi helyiség saját elszívó rendszerébe.
- Fontos, hogy a nukleinsav kimutatásán alapuló módszereket használó mycobacteriológiai M3-as laboratóriumok megfelelő, a módszerek kivitelezésére alkalmas eszközökkel és megfelelő szaktudással és gyakorlattal rendelkezzenek, valamint részt vegyenek külső minőségi ellenőrzési programokban.
- A mycobacteriológiai laboratóriumnak vagy laboratóriumi részlegnek rendelkeznie kell az adatok kezelésére, leletkiadásra és a kapott tenyésztési és rezisztencia adatok továbbítására alkalmas informatikai rendszerrel (laboratóriumi surveillance alapfeltétele).
- Fontos elvárás, hogy a különböző kompetenciaszintű mikrobiológiai laboratóriumok megfelelő mycobacteriológiai részlegei egymásra épülve végezzék a diagnosztikus munkát. Az M1 kompetenciaszintű laboratóriumok képesek mikroszkópos tbc-diagnosztikát végezni megfelelő gyakorlattal rendelkező személy esetén. A tenyésztések zömét végző M2 szintű laboratóriumok amennyiben valamely lépését a diagnosztikának nem végzik (identifikálás, rezisztencia meghatározás) kötelesek a magasabb szintű M3 mycobacteriológiai diagnosztikát végző laboratóriumba továbbítani a mintát vagy az izolátumot. A Nemzeti Mycobacteriológiai Referencia Laboratórium feladata a mycobacteriológiai laboratóriumi hálózat minőségi munkáját ellenőrizni, illetve az M1 és M2-es laboratóriumok által nem végzett vizsgálatokat elvégezni. Bizonyos vizsgálatokat a mycobacterium diagnosztika területén csak a Nemzeti Mycobacteriológiai Referencia Laboratórium végez (lásd egyes ajánlások!).

1.3. Az ellátottak együttműködését befolyásoló tényezők

A beteg együttműködésének megtartásához és javításához kívánatos, hogy a vizsgálati eredmények mihamarabb, de a mintavételtől számított legkésőbb 8 héten belül rendelkezésre álljanak.

1.4. Egyéb feltételek

- A hazai M2-M3 kompetenciaszintű laboratóriumoknak (így a csak mycobacteriológiai diagnosztikát végző laboratóriumok és a mikrobiológiai laboratóriumi részlegként működő mycobacteriológiai laboratóriumok) csak kis százaléka ment keresztül szakmai akkreditáción a Nemzeti Akkreditáló Testület által elvártaknak megfelelően, de minden mycobacteriológiai diagnosztikát végző laboratóriumnak meg kell felelnie a jelenleg érvényben lévő mikrobiológiai laboratóriumra vonatkozó jogszabályi elvárásoknak.
- A minőségbiztosítási feltételek az egyes ajánlások részletezéséhez csatlakozóan témakörönként kerültek meghatározásra.

2. Alkalmazást segítő dokumentumok listája

- 2.1. Mycobacteriológiai (tbc-tenyésztő) laboratóriumokban rendszeresen zajló minőségügyi ellenőrzés jegyzőkönyve.
- 2.2. Egységes vizsgálatkérő lap.
- 2.3. A hazai laboratóriumok által elérhető, a mycobacteriumok okozta infekciók diagnosztikáját segítő, molekuláris genetikai és egyéb módszereken alapuló diagnosztikus kitek az ECDC javaslatai alapján.

3. A gyakorlati alkalmazás mutatói, auditkritériumok

A tbc mikrobiológiai diagnosztikai vizsgálatai országos vagy regionális megfeleléseinek indikátorai:

- A minta-előkezelési módszer (dekontamináció) értékelése a tenyészetek fertőzöttségének %-os előfordulása alapján.
- A direkt mikroszkópos, a tenyésztéses, valamint nukleinsav alapú kimutatási módszerekkel kapott eredmények összevetése adott betegcsoport esetében (szenzitivitás, specificitás, pozitív és negatív prediktív érték vizsgálatával, illetve az irodalomban megtalálható értékelésekkel).
- A bakteriológiailag igazolt tbc-s esetek aránya a regisztrált esetekhez viszonyítva.
- A tenyésztéssel pozitív esetekben az elvégzett rezisztenciavizsgálatok aránya.
- A MDR és XDR mycobacteriumok aránya a bakteriológiailag igazolt tbc-s esetekben kimutatott mycobacteriumok között.

4. Az ajánlások terjesztésének terve

- A jelen irányelvben foglaltak részét kell, hogy képezzék az orvosi mikrobiológiai, klinikai mikrobiológiai szakképzés tananyagának, valamint a kötelező és ajánlott továbbképzések keretében szervezett, a témával foglalkozó előadásoknak.
- A mikrobiológiai laboratóriumok részlegeként vagy önállóan működő mycobacteriológiai diagnosztikai laboratóriumok működési feltételeinek meghatározása során figyelembe kell venni ezen irányelv elvárásait.
- A társadalombiztosítás keretében zajló ellátás során a mycobacteriumok okozta infekciók diagnosztikáját biztosító mikrobiológiai vizsgálatok finanszírozási eljárásrendjének, szabályainak és díjjegyzékének meghatározásánál figyelembe kell venni ezen irányelv elvárásait.

IX. A DOKUMENTUM FELÜLVIZSGÁLATÁNAK TERVE

Az Egészségügyi Szakmai Kollégium Klinikai és Járványügyi Mikrobiológiai Tagozatát jelöli ki felelősként, hogy a „Tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikája” irányelv felülvizsgálata 4 év múlva megtörténjen. A fejlesztők munkakö-

rükből adódóan folyamatosan figyelik a területen zajló, nemzetközileg igazolt diagnosztikai fejlesztéseket, és szükség szerint akár 4 éven belül javasolnak módosításokat, amennyiben ezt a hazai tbc-incidencia adatai vagy a laboratóriumok helyzete igénylik.

Alapvetően a CDC, ECDC és a WHO ajánlásainak folyamatos követését végzi a fejlesztőcsoport. Ezen felül az érintett témakörökben a szisztematikus összefoglalók jelentenek megfelelő bizonyítékforrást. Jelenleg nem folyik olyan, nagy multicentrikus kutatás e témában, amelynek a közeljövőben várható eredménye befolyásolhatná az ajánlások aktualitását.

X. IRODALOM

1. Az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja a tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról. Egészségügyi Közlöny 2009; 21:3405-17.
2. European Centre for Disease Prevention and Control, WHO Regional office for Europe: Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2013 (Surveillance report)
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Mastering the basics of TB control: Development of a handbook on TB diagnostic methods. Stockholm: ECDC; 2011 (Technical report)
4. European Centre for Disease Prevention and Control. ERLN-TB expert opinion on the use of the rapid molecular assays for the diagnosis of tuberculosis and detection of drug-resistance Stockholm: ECDC; 2013 (Technical report) www.ecdc.europa.eu
5. IUATLD-WHO Laboratory Diagnosis of Tuberculosis by Sputum Microscopy <http://www.theunion.org/what-we-do/publications/technical/laboratory-diagnosis-of-tuberculosis-by-sputum-microscopy-the-handbook>, 2013
6. CDC. Updated guidelines for using interferon gamma release assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection: United States.
7. <http://www.guideline.gov/content.aspx?id=23847&search=interferon+gamma>, 2010
8. Best practices in prevention, control and care for drug-resistant tuberculosis. A resource for the continued implementation of the Consolidated Action Plan to Prevent and Combat Multidrug- and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis in the WHO European Region, 2011-2015. ISBN 978 92 890 0046 8; 2013.
9. Report of Expert Consultations on Rapid Molecular Testing to Detect Drug-Resistant Tuberculosis in the United States: <http://www.cdc.gov/TB/topic/Laboratory/rapidmoleculartesting/default.htm>. 2013
10. Availability of an Assay for Detecting Mycobacterium tuberculosis, Including Rifampin Resistant Strains, and Considerations for Its Use – United States, MMWR 2013; 62(41):821-4.
11. National plan for reliable tuberculosis laboratory services using a systems approach. Morb Mortal Wkly Rep 2005; 54: No: RR-6.
12. Report of an Expert Consultation on the Uses of Nucleic Acid Amplification Tests for the Diagnosis of Tuberculosis, 2008 http://www.cdc.gov/tb/publications/guidelines/amplification_tests/amplification_tests.pdf

13. Updated Guidelines for the Use of Nucleic Acid Amplification Tests in the Diagnosis of Tuberculosis MMWR
<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5801a3.htm> 2009
14. U.S. Preventive Services Task Force (USPSTF). Methods and Processes. Grade Definitions after May 2007.
<http://www.uspreventiveservicestaskforce.org/uspstf/grades.htm>
15. NZGG: Management of Early Colorectal Cancer 2011., App. 1. pp.102
<http://www.health.govt.nz/system/files/documents/publications/early-management-colorectal-cancer-guideline.pdf>
16. Jónás J, et al. Annual report of the Hungarian medical care centers in respiratory medicine, 2004–2005. Budapest: Korányi National Institute for Tuberculosis and Respiratory Medicine; 2005.
17. Strausz J, et al. A pulmonológiai intézmények 2009 évi epidemiológiai és működési adatai – tuberkulózis. Korányi Bulletin. Budapest: Országos Korányi Tbc és Pulmonológiai Intézet; 2011. p. 2-9.
18. Somoskövi Á, Szabó N, Nagy E. A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájának irányelvei. A Tüdőgyógyászati Szakmai Kollégium és az Orvosi Mikrobiológiai Szakmai Kollégium közös állásfoglalása. Med Thor 2008; 57:116-37.
19. Updated guidelines for the use of nucleic acid amplification tests in the diagnosis of tuberculosis. Morb Mortal Wkly Rep 2009; 58:7-10.
20. Pai M, Flores LL, Pai N, Hubbard A, Riley LW, Colford JM Jr. Diagnostic accuracy of nucleic acid amplification tests for tuberculosis meningitis: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis 2003; 3:633-43.
21. Kent PT, Kubica GP. Public health mycobacteriology. A guide for a level III laboratory. Atlanta, GA: Center for Disease Control; 1985.
22. Dunlap NE, Bass JP, Fujiwara P, Hopewell J, Horsburgh CR, Salfinger M, Simone PM. Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. Am J Respir Crit Care Med 2000; 161:1376-95.
23. Pfyffer GE, Palicova F, Richter E, Brown-Elliott BA, Wallace jr RJ. Mycobacterium. In: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW (eds.). Manual of Clinical Microbiology, 10th ed. Chapters 28, 29 and 30. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2011. p. 472-538.
24. Szabó N, Lipót Z, Vámos M, Nagy J. A mycobacteriumok tenyésztésének határfoka különböző előkezelési eljárások és tenyésztési módszerek függvényében. Medicina Thoracalis 2003; 56:188-92.
25. Somoskovi A, Mester J, Hale YM, Parsons LM, Salfinger M. Laboratory diagnosis of nontuberculous mycobacteria. Clin Chest Med 2002; 23:585-97.
26. Fodor T, Lőrinczi I, Szikra L. A Mycobacterium tuberculosis és egyéb típusos mycobacterium fertőzések bakteriológiai vizsgálatának módszerei. In: Czirók É. (szerk.). Klinkai és járványügyi bakteriológia kézikönyv. Budapest: Melánia; 1999. p. 555-7.
27. WHO, Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77949/1/9789241504638_eng.pdf. 2012
28. Somoskovi A, Kodmon C, Lantos A, Bartfai Z, Tamasi L, Fuzy J, Magyar P. Comparison of recoveries of Mycobacterium tuberculosis using the automated

Egészségügyi szakmai irányelv - A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról

- BACTEC MGIT 960 system, the BACTEC 460 TB system, and Lowenstein-Jensen medium. *J Clin Microbiol* 2000; 38:2395-7.
29. Mester J, Vadász I, Bártfai Z, Ködmön C, Somoskövi Á. A *Mycobacterium tuberculosis* antituberkulotikum-rezisztenciájának molekuláris alapjai. *Medicina Thoracalis* 2002; 55:30-6.
 30. World Health Organization: Molecular line probe assays for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) policy statement 27 June 2008.
 31. Rock RB, Olin M, Baker CA, Molitor TW, Peterson PK. Central nervous system tuberculosis: Pathogenesis and clinical aspects. *Clin Microbiol Review* 2008; 21:243-61.
 32. Solovic I, Sester M, Gomez-Reino JJ, Rieder HL, et al. The risk of tuberculosis related to tumour necrosis factor antagonist therapies: a TBNET consensus statement. *Eur Respir J* 2010; 36(5):1185-206.

XI. MELLÉKLET

1. A folyamat teljesítését igazoló dokumentumok

Témaválasztási javaslat	Igen
Delegálás a fejlesztőcsoportba	Igen
Fejlesztőcsoport felkérése	Igen
Egyéni összeférhetetlenségi nyilatkozatok	Igen
Egyéni összeférhetetlenségi nyilatkozatok	Igen
Csoportos nyilatkozata fejlesztés során igénybe vett külső támogatásról, a szponzori függetlenségéről és az elfogulatlanságról	Igen
Konzultációs feljegyzés(ek)	Igen
Módszertani szűrőértékelés	Igen
Részletes módszertani értékelés(ek)	Igen
Tagozatvezetői nyilatkozatok az egészségügyi szakmai irányelvben foglaltakkal való	Igen

2. A fejlesztés módszerének leírása és a kapcsolódó dokumentumok

2.1. A fejlesztőcsoport megalakulása, a folyamat és feladatok dokumentálása

A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikája című irányelv a 2009. évi Egészségügyi Közlöny 21. számában, azonos címmel megjelent diagnosztikai irányelv átdolgozott változata. A fejlesztőcsoport két tagja Dr. Nagy Erzsébet és Dr. Szabó Nóra már az előző változat kidolgozásában is részt vett, Dr. Kónya József a fejlesztőcsoport harmadik tagja jelen ciklusban kapott felkérést a Szakmai Kollégium Klinikai és járványügyi tagozatától a munkában való részvételre. A fejlesztőcsoport megalakulására 2013. március 18. után került sor, amikor is a GYEMSZI Minőségügyi Főosztályának felkérő levele megérkezett és a csoport koordinátorának (Dr. Nagy Erzsébet) megválasztása megtörtént.

2.2. Irodalomkeresés, szelekció

Alapvetően a témakör meghatározó nemzetközi szervezeteinek előző irányelvünk óta megjelent vagy frissítésre került kézikönyveit vettük alapul. Ezek forráshelyei az alábbi honlapok:

<http://www.euro.who.int/>

<http://www.ecdc.europa.eu/en/publications>

<http://www.cdc.gov>

Valamennyi, a tbc témakörében megjelent dokumentum feldolgozásra került, szelekciót csak az azokon belül lévő ajánlásokban végeztünk, az irányelv hatókörének megfelelően [3–9, 11, 12, 18, 21, 22, 29].

A kézikönyvek és irányelvek legfrissebb megjelenési időpontja 2013., ezért Pubmed-keresést folytattunk az alábbi keresőszavak alkalmazásával 2013 és 2014. évre, a szisztematikus összefoglalók, nagy esetszámú tanulmányok tanulmánytípu-

saira vonatkozóan, amelyek lefedik az irányelv hatókörébe tartozó ellátottak teljes körét. A fellelt tanulmányokból azokat választottuk ki, amelyek a kézikönyvek ajánlásaihoz mérten kiegészítő információval szolgáltak, és angol nyelven jelentek meg.

Keresőszavak:

M. tuberculosis diagnosis

Non-tuberculosis mycobacteria diagnosis

Molecular methods

MRD tuberculosis

XDR tuberculosis

Diagnosis of latent tuberculosis

Resistance to INH

2.3. A felhasznált bizonyítékok erősségének, hiányosságainak leírása (kritikus értékelés, „bizonyíték vagy ajánlás mátrix”)

Az adaptálásra felhasznált nemzetközi szervezetek által kiadott dokumentumok (WHO, IUATLD, ERLN, ECDC, CDC, FDA irányelvek, technológiai leírások és kézikönyvek) a szakterületen általánosan elfogadottak. Az általuk felhasznált eredeti tanulmányokat kritikusan értékelték, így a fejlesztőcsoport elfogadta az irányelveket kiadó nemzetközi szervezetek feldolgozásának eredményét, a szakértők véleményét. Ezeket a bizonyítékokat a U. S. Preventive Services Task Force módszertanának adaptált rendszerével soroltuk be [14], amely a bizonyítékok megbízhatóságának mértékét határozza meg.

A választást támogatja az a tény, hogy a korábbi gyakorlatban használt besorolásoktól eltérően, ahol legmagasabb szintet csak a randomizált kontrollált tanulmányok kaphatnak, ez nem függ a bizonyítékot szolgáltató tanulmány vizsgálati elrendezésétől, mely például prevenciók témakörben, ahol a követéses vizsgálatok szolgáltatnak csak megbízható eredményt, elengedhetetlen. Két szempontból módosítottuk a USPSTF rendszerét. Egyrészt a megnevezésben a magyar nyelvben árnyaltabb kifejezéseket alkalmaztunk a kategóriák megfogalmazására, amelyek könnyebben vihetők át az ajánlások besorolásának választott rendszerébe, másrészt az alig megbízható kategóriába bekerült a szakértői vélemény.

2.4. Az ajánlások kialakításának módszere

A fejlesztőcsoport a releváns nemzetközi szervezetek irányelveinek ajánlásait és direktíváinak megállapításait alapvetően iránymutatónak tartja a hazai ellátási gyakorlatra.

A nemzetközi ajánlások hazai adaptációjára a hazai ellátási feltételrendszer, az ellátási útvonalak, a meglévő hazai, különböző kompetenciaszintű mycobacterium-tenyésztő laboratóriumok tevékenységének ismeretében került sor a surveillance- és rezisztenciaadatok alapján.

A fejlesztők hangsúlyt helyeztek arra, hogy a témakört érintő más hazai irányelvekkel (tbc-s betegek klinikai ellátását tárgyaló irányelv) ne fogalmazzanak meg párhuzamos ajánlásokat.

Az adaptálásra felhasznált dokumentumok az ajánlások besorolását nem alkalmazták. A fent bemutatott bizonyíték-besorolásra alapozva, a New Zealand

Guidelines Group (NZGG) által alkalmazott módszer alapján került kialakításra az egészségügyi szakmai irányelvben használt ajánlás rangsorolási rendszer [15].

A módosítás során egyrészt a 4. szint esetében – egységesítve a besorolás jelölését – a „□” jel helyett „D” betűt alkalmaztak, amely a hazánkban korábban használatban lévő besorolási rendszerrel harmóniában van). A kiegészítés során valamennyi kategóriára vonatkozóan meghatározásra került az adott szint esetén az ajánlás tudományos bizonyítékokhoz, a hazai alkalmazhatósághoz valamint későbbi kutatások lehetséges hatásához való viszonya.

Az ajánlások gyakorlati megvalósításának kötelezettségi szintjét az ajánlások szóhasználatával fejeztük ki, amely a nemzetközi gyakorlatban egyre hangsúlyosabb tendenciát követi.

A fejlesztőcsoport vezetője a nemzetközi ajánlások hazai átvételének módjára vonatkozóan elkészített kéziratot a fejlesztőcsoport tagjainak megküldte, akik ajánlásonként elfogadták a tervezetet. Az ellátás feltételeire vonatkozó ajánlások esetében szóbeli egyeztetés történt, amelynek alapján az érintett ajánlások alkalmazási feltételei pontosításra kerültek.

2.5. A véleményezés módszere és dokumentációja

Az irányelv az azonos témakörben felülvizsgálat alatt álló, a tüdőgyógyászati ellátást tárgyaló irányelvvel áll kapcsolatban, a két szakterület közös ellátási felelősséggel rendelkezik. Jelen irányelv fejlesztőcsoportjában tüdőgyógyász is részt vett, így külön véleményezésre nem került sor. A két irányelvben a párhuzamosságok megszüntetése és a kapcsolódási pontok harmonizációja tulajdonképpen kölcsönös véleményezés keretében zajlott.

2.6. Független szakértői véleményezés módszere és dokumentációja

Független szakmai szakértő nem véleményezte az irányelvet.

Módszertani értékelésre a nemzetközi gyakorlatban elfogadott AGREE II (<http://www.agreetrust.org/resource-centre/agree-ii/>) értékelési rendszert alkalmazták a módszertani szakértők, amely a szakmai irányelvek bizonyítékokon alapuló módszertanának megfelelését vizsgálja. A módszertani szempontoknak való megfelelést alapvetően a fejlesztési folyamat leírásának pótlásával teljesítette a fejlesztőcsoport.

2.7. A felülvizsgálat módszertana

Az irányelv korábbi, lejárt verziójának megújításához szükséges friss bizonyítékok felkutatása a releváns nemzetközi szervezetek aktuális irányelveinek és direktíváinak áttekintésével kezdődött. Jellemző módon 2013. évben történt a legtöbb frissítés, azonban meg kell jegyezni, hogy számottevő újdonság a mikrobiológiai vizsgálatok terén egyik szervezet ajánlásaiban sem történt a korábbi évekhez képest.

A korábbi verzióhoz képest a legjelentősebb változás az irányelvfejlesztés módszertanának alkalmazása, illetve az elvárt szerkezetben az egyértelmű ajánlások megfogalmazása volt.

A megújítás ugyanakkor nem módosította az irányelv hatókörét, ennek megfelelően a címét sem, azonban hangsúlyt helyezett arra, hogy a témakörét érintő más irányelvekkel ne fogalmazzon meg párhuzamos ajánlásokat.

3. Az alkalmazást segítő dokumentumok

3.1. Mycobacteriologiai (tbc-tenyésztő) laboratóriumokban tartandó minőségügyi ellenőrzés jegyzőkönyve

Mycobacteriologiai (tbc-tenyésztő) laboratóriumokban tartandó minőségügyi ellenőrzés jegyzőkönyve

A laboratórium neve (kódszáma):

A laboratórium működtetője – fenntartója – tulajdonosa:

A laboratórium vezetőjének neve, szakképzettsége:

A látogató(k) neve:

A látogatás időpontja:

Általános tudnivalók

A helyszíni konzultáció a laboratórium külső minőség-ellenőrzésének része. A látogatást a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium vezetője, illetve az általa megbízott mikobakteriológus végzi. Az alábbi jegyzőkönyv kitöltendő az ellenőrzés alkalmával a laboratórium minőség-szabályozási kézikönyvében (MK) is rögzített dokumentumok (tárgyi és személyi feltételek, szakmai környezet), valamint a helyszíni szemlén tapasztaltak alapján, figyelembe véve a szakmai minimumfeltételekről szóló 60/2003. (X. 20.) ESzCsM rendeletben foglaltakat. Kérjük, hogy a látogatás előtt a jegyzőkönyvet töltsse ki!

A laboratórium jellemzői

Önálló mikrobiológiai laboratórium/részlegként működő mikrobiológiai laboratórium:

Ha részlegként működik, a részlegvezető neve, szakképzettsége:

Milyen vizsgálatokat végez? (a megfelelő rész aláhúzendó vagy kiegészítendő)

Ziehl-Neelsen (ZN), fluro-rochrom kenet

Tenyésztés:

Szilárd közegben: Löwenstein-Jensen (LJ), Ogawa, Stonebrink, más:

Folyékony közegben:

- automata: MGIT, Bact/ALERT
- manuális: MGIT, BioFM, MB Redox

Identifikálás: niacin, nitrát

Rezisztencia:

- proporciós módszer
- folyékony automata BACTEC 460, BACTEC MGIT, Bact/Alert

Egészségügyi szakmai irányelv - A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról

Molekuláris biológiai vizsgálatok:

Direkt nukleinsav amplifikációs módszerek: Amplicor, TMA, LCx, TMA

Identifikálási technikák: Accuprobe, RFLP, Inno-LiPA, DNS sequenálás, HAIN

Rezisztencia meghatározás: Inno-LiPA-Rif, HAIN

A minőségbiztosítási kézikönyv elkészült-e? igen/nem

A minőségbiztosítási kézikönyvet legalább évente átnézik-e, aktualizálják-e, a változtatásokat minden érintett féllel közlik-e? igen/nem

Van-e kijelölt minőségbiztosítási felelős? igen/nem

A laboratórium akkreditálása megtörtént-e? igen/nem

Az akkreditálás folyamatban van? igen/nem

Vizsgálati anyagok megoszlása az elmúlt évben

a. Csak direkt mikroszkóposan vizsgált minták száma:

b. Tenyésztéssel is vizsgált minták száma: köpet, bronchoszkópos, liquor, vizelet, genny, punkttátum, széklet, egyéb emberi anyag

A laboratórium vezetése kidolgozott-e eljárást a minták vételére, gyűjtésére, tárolására és szállítására vonatkozóan? igen/nem

A beküldők, felhasználók részére hozzáférhető-e ez? igen/nem

Honnan és hogyan szállítják a vizsgálati anyagot?

Kidolgozták-e a minták átvételének rendjét? igen/nem

A minták szivárgásmentes, szorosan lezárt tartályokban érkeznek-e?

Minimumstandardnak való megfelelés

Az alapterület és a helyiségek száma megfelel-e a minimumstandardnak (60/2003. (X. 20.) ESzCsM rendelet)

- Anyagátvevő
- Feldolgozó laboratórium
- Táptalajkonyha
- Mosogató
- Iroda
- Orvosi szoba
- Öltöző, védőruha tárolására szolgáló helyiség
- Étkező
- Zuhanyozó, toalett

A műszerezettség megfelel-e a minimumstandardban előírtaknak: igen/nem

Ha nem felel meg, milyen műszer hiányzik?

Melyek azok a műszerek, amelyek elhasználódtak, elavultak, cseréjük feltétlenül szükséges?

Számítógépes program: igen/nem

Egészségügyi szakmai irányelv - A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról

ha igen, nevezze meg:		
Vegyiszeledőszek:		igen/nem
Termosztát szoba:		igen/nem
Lamináris fülkék száma: gyártmányuk:		
Centrifugák száma: ... gyártmányuk:		
Mikroszkópok száma:		
Autoklávok száma:		
Száraz sterilizáló:		igen/nem
Alvasztók száma:		
Fertőző anyagok megsemmisítésének módja:	autokláv: ...	égetés: ...
Dokumentáció (műszernapló, karbantartás stb. műszerkönyv alapján)		
Van-e használati utasítás mellékelve minden eszközhöz?		igen/nem
A termosztátok hőmértelvel el vannak-e látva?		igen/nem
A termosztátok hőmértelkete:		
A hűtőgépek hőmértelvel el vannak-e látva?		igen/nem
A hűtőgépek hőmértelkete:		
Dokumentálják-e a termosztátok és a hűtőgépek hőmértelkét? ha igen, milyen gyakorisággal? Naponta, hetente, havonta?		igen/nem,
A személyi létszám minimumstandardnak való megfelelése (60/2003. (X. 20.) ESzCsM rendelet)		
Az előírásoknak megfelel-e?		igen/nem
Szakképzettség	... Fő (teljes munkaidő)	... Fő (részmunkaidő órában)
Mikrobiológiai szakorvos		
Orvos		
Egyéb diplomás		
Szakasszisztens		
Asszisztens		
Egyéb		
Amennyiben nem felel meg, megjegyzés:		
Rendelkezik-e a személyzet munkaköri leírással?		igen/nem
A személyzet minden tagjának van-e lehetősége az általa ellátott szolgáltatás szükségleteinek megfelelő további képzésre?		igen/nem

Biztonsági előírásoknak való megfelelés:

A laborba történő be- és kilépés csak zsilipen keresztül történik-e, ahol köpenycsere és kézmosás lehetséges?	igen/nem
Biohazard biztonsági boksokban végzik-e az aerosol képződéssel járó munkafolyamatokat?	igen/nem
A felületek réstmentesek, vegyszereknek, fertőtlenítőszereknek ellenállók-e?	igen/nem
Védőruha, maszk használat?	igen/nem
A centrifugáláshoz lezárt (csavaros fedelű) csöveket és olyan biztonsági centrifugákat használnak-e, melyeknél a rotor külön fedéllel rendelkezik, hogy az aeroszolképződés veszélyét a minimumra csökkentsék?	igen/nem
A centrifugálás ugyanabban a tartályban történik-e, amibe a mintát beszállították?	igen/nem
A niacinpróbát elszívófülkében végzi-e?	igen/nem

Vizsgálati eredmények az előző évben leadott statisztikai adatok alapján

Vizsgálatok száma:

M. tbc complex izolátumok száma és százaléka:

M. tbc esetszám:

Rezisztencia vizsgálatok száma:

Szennyezett tenyészetek száma és százaléka:

Atípusos tenyészetek száma:

Atípusos esetek száma:

Ziehl–Neelsen-kenetek kontrollja:

Festés minősége:

Egyedi festés/tömeg festés: igen/nem

Pozitív/negatív kontrollokat alkalmaznak-e, az eredményeket dokumentálják-e? igen/nem

A ZN-festett kenetek direkt a mintából készülnek? igen/nem

A mikroszkópos kenet a minta centrifugált üledékéből készül? igen/nem

A direkt mikroszkópos keneteket elteszik-e a tenyésztés eredményei kiadásának időpontjáig? igen/nem

Pozitív tenyésztési eredmény esetén ismét kontrollálható-e a negatív mikroszkópos kenet, és kontrollálják-e? Dokumentálják-e? igen/nem

Feltüntetik-e, hogy ki nézte a kenetet? igen/nem

Ellenőrzi-e a vezető a pozitív mikroszkópos kenetek mindegyikét és a negatív kenetek 10%-át a leletkiadás előtt? igen/nem

Táptalaj- és tenyésztéskontroll:

Kész táptalajt használnak: igen/nem

Alkalmazott táptalajok: LJ, más:

Házi készítésű LJ sterilitása, színe, állaga, szilárdsága, felület nagysága, kondenzvíz?

Megfelel? igen/nem

Vezetik-e sarzsónként az ellenőrző vizsgálatokat? H37RV kontroll: igen/nem

Az ellenőrző naplót a vezető rendszeresen láttamozza-e? igen/nem

LJ-táptalaj esetén egy anyagot hány csőre olt le?

LJ + folyékony táptalaj esetén egy anyagot hány csőre olt le?

A tenyészetek leolvasása a leoltástól számítva hányadik héten történik?

Plauzibilitási kontroll: Az elmúlt év összes olyan mintáiból, amelyekből mikroszkópos kenet és tenyésztés is készült, a tenyésztéssel negatív vizsgálatoknak hány %-a volt direkt kenetben pozitív?

Előkezelés

Milyen előkezelést (dekontaminálás, homogenizálás) alkalmaz a nem steril minták feldolgozása során? (klórhexidin-digluconát, N-acetyl-L-cystein, más:)

Identifikálás

Milyen tesztet használ a M. tuberculosis azonosításához? Niacin, Accoprobe, Hain?

Egészségügyi szakmai irányelv - A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról

Niacinvizsgálatot a laboratórium végzi-e?	igen/nem
Niacin- és/vagy Accuprobe-próbához alkalmaz-e pozitív és negatív kontrollt?	igen/nem
Az eredményeket jegyzőkönyvezi-e?	igen/nem
A niacin negatív törzseket továbbítja-e a „referencialaboratóriumba”?	igen/nem
Rezisztenciavizsgálatok	
Rezisztenciavizsgálatot a laboratórium végez-e?	igen/nem
Ha igen, biohazard boksban történik-e a vizsgálat?	
Ha nem végez ilyen vizsgálatot, az izolátumot elküldi a referencialaboratóriumba?	
Rezisztenciavizsgálatok végzése esetén kérjük a mellékelt statisztikai lap kitöltését (1. sz. melléklet)	
Milyen módszerrel végzi a vizsgálatokat: proporciós, abszolút koncentráció, BACTEC 460, BACTEC MGIT, Bact/ALERT, más:	
Milyen antituberkulotikumok iránti rezisztenciát vizsgál (SIRE, PZA, egyéb)?	
MDR-izolátumok esetén másodrendű szerekre vizsgál-e (OFL, Cyclo, PAS, Amikacin, Rifabutin, más)?	
Készít-e a laboratórium statisztikai felmérést a betegek név szerinti rezisztenciaeredményeiről és a kiadás dátumáról?	igen/nem
A klinikus kérésére végzi a vizsgálatokat, vagy külön kérés nélkül is, ha a saját statisztikája alapján a betegnek még nincs rezisztenciaeredménye?	
Elvégzi-e a laboratórium minden esetben a kezdeti rezisztenciavizsgálatokat?	igen/nem
Ismételt vizsgálatokat hány havonta végez?	
Az MDR törzseket fenntartja-e?	igen/nem
Külső minőségbiztosítás	
Részt vesz-e a laboratórium évente legalább egyszer körvizsgálatban, (Qualicont)	igen/nem
A körvizsgálat kiterjed-e a direkt kenetek, a tenyésztés, identifikálás és a rezisztencia kontrolljára?	igen/nem
Részt vesz-e a laboratórium a „referencialaboratórium” által kiküldött törzsek rezisztenciájának kontrollvizsgálatában?	igen/nem
A rutinból származó rezisztens törzseket felküldi-e a „referencialaboratóriumba” utánvizsgálatra?	igen/nem
Leletkiadás	
A mikroszkópos eredmények leletkiadása a beküldéstől számítva	

Egészségügyi szakmai irányelv - A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról

24-48 órán belül megtörténik-e?	igen/nem
Tenyésztési leletkiadás gyakorisága: hetente, naponta?	
Rezisztenciaeredményt a minta beküldéséhez viszonyítva átlagosan hány nap múlva ad ki?	
Előzetes eredményt (cord) kiad-e a laboratórium?	igen/nem
A diplomás írja alá a leleteket?	igen/nem

3.2. Egységes vizsgálatkérő lap mycobacteriológiai vizsgálatokhoz

MYCOBACTERIOLOGIAI VIZSGÁLATKÉRŐ LAP	
Beküldő munkahely neve:	
címe:	
kódja:	
Naplószám/törzsszám:	
Térítési kategória:	járóbeteg <input type="checkbox"/> fekvőbeteg <input type="checkbox"/> fizető <input type="checkbox"/> egyéb <input type="checkbox"/>
Beteg TAJ száma:	
Beteg neve:	
Anyja neve:	
Lakcím: □□□□	
Nem: férfi <input type="checkbox"/> nő <input type="checkbox"/>	
Születési hely, időpont:	
Nemzetiség: magyar <input type="checkbox"/> egyéb:.....	
Mintavétel időpontja:	
Minta: köpet <input type="checkbox"/> bronchusváladék <input type="checkbox"/> pleura <input type="checkbox"/> gyomormosó <input type="checkbox"/> vizelet <input type="checkbox"/> izolált törzs <input type="checkbox"/> egyéb	
Orvos neve:	
pecsétszám:	pecsét
mobilszám:	
E-mail cím:
	aláírás
Vizsgálat célja: diagnózis megállapítása <input type="checkbox"/> kezelés eredményességének megállapítása <input type="checkbox"/>	
BNO kód:	
Diagnózis:	
Vizsgálatkérés: PCR <input type="checkbox"/> mikroszkópos kenet <input type="checkbox"/> tenyésztés <input type="checkbox"/> Quantiferon <input type="checkbox"/> törzsidentifikálás <input type="checkbox"/> rezisztencia vizsgálat <input type="checkbox"/>	
Korábban kezelték-e tbc miatt?	nem <input type="checkbox"/> igen <input type="checkbox"/>
Biológiai terápiát kapott-e?	nem <input type="checkbox"/> igen <input type="checkbox"/>
Egyéb megjegyzés:	

A köpet mintavételének szabályai:

1. Törekedjünk a reggeli, ébredés utáni köpet begyűjtésére! A beteg ne igyon, és ne is öblögtessen a mintavétel előtt csapvízzel!
2. A többszöri erőltetett lélegzetvétel után, mélyről felköhögött váladék a legalkalmasabb mycobacteriológiai tenyésztésre.
3. Az optimális esetben 5–10 ml térfogatú köpetet a tbc-vizsgálatra rendszeresített műanyag centrifugacsőbe ürítse a beteg.
1. A csövek megfelelő címkézése és a kísérőlap pontos kitöltése után a minta a laboratóriumba küldhető.
5. A vizsgálati anyag 1–2 órán át szobahőmérsékleten, nagyobb nyári melegben 24–72 órát 2–8 °C-on hűtőben tárolható.

Amennyiben a mintavételtől a feldolgozásig terjedő idő a 72 órát meghaladja, a minta vizsgálatra alkalmatlan.

Egészségügyi szakmai irányelv a tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról: 000773 és az Egészségügyi szakmai irányelv a tuberkulózis klinikai diagnosztikájáról és terápiájáról: 000989 alapján

Ritkább mintaféleségek vételével és beküldésével kapcsolatban vagy egyéb kérdés esetén érdeklődni lehet a : telefonszámon.

3.3. Táblázat

1. TÁBLÁZAT. A hazai ellátás számára elérhető, nem hagyományos módszereken alapuló (nukleinsav és fehérje alapú molekuláris módszerek) tbc-diagnosztikai kitek az ECDC Tbc Referencia Laboratóriumi Hálózat (ERLN-TBC) javaslata és a hazai gyakorlat alapján, 2014 első negyedévében értékelve [3, 4].

A kit neve	Alkalmazott módszer	Diagnosztikai lehetőség	Gyártó/forgalmazó cég	Javaslat az alkalmazásra
Capilia TB-neo vagy BD MGIT TBcID	Immunkromatográfia	Kromatográfiás immunoassay a <i>M. tuberculosis</i> complex antigén alapú kvalitatív kimutatására tenyészetből	Tanus Laboratories Inc., Japan, Becton Dickinson, USA.	Minden tbc-tenyésztő laboratórium
ProbeTec	DNS-extrakció, RT PCR	<i>M. tuberculosis</i> complex kimutatása direkt mintából	Becton Dickinson USA	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium
AccuProbe	Nukleinsav-hibridizáció	<i>M. tuberculosis</i> complex identifikálása tenyészetből	Gen-Probe Inc., USA.	Minden tbc-tenyésztő laboratórium
INNO-LiPA Mycobacteria v2 (line probe assay)	DNS-extrakció, PCR, reverz hibridizáció	<i>Mycobacterium</i> genus és 16 species identifikálása tenyészetből	Innogenetics, Belgium	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium
INNO-LiPA Rif.TB kit (line probe assay)	DNS-extrakció, nested PCR, reverz hibridizáció	Rifampicinrezisztens <i>M. tuberculosis</i> kimutatása vizsgálati anyagból és tenyészetből	Innogenetics, Belgium	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium
GenoType Mycobacteria Direct	RNS-extrakció, NASBA, reverz hibridizáció	Identifikálás közvetlenül klinikai mintából, <i>M. tuberculosis</i> complex, <i>M. avium</i> , <i>M. intracellulare</i> , <i>M. kansasii</i> , <i>M. malmoense</i>	Hain Lifescience GmbH, Németország	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium

Egészségügyi szakmai irányelv - A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról

A kit neve	Alkalmazott módszer	Diagnosztikai lehetőség	Gyártó/forgalmazó cég	Javaslat az alkalmazásra
GenoType CM, AS és MTBC tesztek	DNS-extrakció, multiplex PCR, reverz hibridizáció	Mycobacteriumok (<i>M. tuberculosis</i> complex tagjai – CM, MTBC – és további 40 NTM species – AS) identifikálása tenyészetből	Hain Lifescience GmbH, Németország	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium
GenoType MTBDRplus és MTBDRsl tesztek	DNS-extrakció, multiplex PCR, reverz hibridizáció	<i>M. tuberculosis</i> identifikálás és RIF-, INH- és kinolonrezisztencia kimutatása tenyészetből vagy alsó légúti mintából	Hain Lifescience GmbH, Németország	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium (MTBDRplus) illetve a Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium a (MTBDRsl)
VirCell Speed-oligo Direct M. tuberculosis	DNS-extrakció multiplex PCR, reverz hibridizáció	<i>M. tuberculosis</i> complex / <i>Mycobacterium</i> genus identifikálása klinikai mintákból	VirCell, Spanyolország	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium
Amplicor Respiratory specimen Preparation Kit + Cobas Amplicor TaqMan MTB Test	DNS-extrakció + TaqMan RT-PCR	<i>M. tuberculosis</i> complex kimutatása légúti mintából	Roche GmbH, Németország	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium
Xpert MTB/RIF kit	Automatizált DNS-extrakció, PCR és amplikon detekció	<i>M. tuberculosis</i> és RIF-rezisztencia kimutatása közvetlenül a mintából	Cepheid GeneXpert System, USA	M3, mycobacteriologiai részleggel rendelkező laboratórium