

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 000773
Azonosító:	
Típusa:	Klinikai egészségügyi szakmai irányelv

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

2. Kiadás és elérhetőség

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

Megjelenés helye:

Nyomtatott verzió	Egészségügyi Közöny
Elektronikus elérhetőség:	https://kollegium.govmag.hu

3. Időbeli határok

Az irodalomkutatás lezárásának ideje:	2014. február
A megjelenés dátuma:	év, hónap, nap
A hatályba lépés dátuma:	Megjelenést követően 6 hónapi
Az érvényesség lejárati dátuma:	2018. február 28.

[61] megjelölést és szögletes dőlt betűt.

4. Hatókör

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

Az irányelv nem fogalmaz meg ajánlásokat speciális betegségeket mellőlt fellépő tbc-infekció esetére.

Az irányelv nem foglalkozik az egyes vizsgálóeljárások metodikájával, kivitelezési szabályjaival, 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 szempontjával kapcsolatban.

Az érintett ellátottak köre:

Féltőrtől és nemtől függetlenül az alábbi betegcsoportba tartozóktól érkező minták:

1. Mycobacterium-fertőzés és megbetegedés gyanúja;
2. tuberkulózisra fertőzötték;
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 (bc-diagnosztikát végez)
M2 és M3 (önálló vagy mikrobiológiai laboratórium részeként működő mycobacteriologiai laboratóriumok, amelyek a mikroszkópos vizsgálatokon kívül hagyományos és fejlettebb vagy nukleinsav alapú molekuláris diagnosztikát is végeznek)

5. Felhasznált célcsoport és a felhasználás célja

Felhasznált célcsoportok:

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

Mindazon szakterületen működő kezelőorvosok – kiemelten a tudógyógyászok –, akik *Mycobacterium tuberculosis*-t okozta, bármely lokalizációban megjelenő infekcióban szenvedő vagy arra gyanús betegeket 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 használatához, a társadalomtudományokhoz.
- Bármely szakmapolitikai vagy népegészségügyi program, amely a tbc felszámolását tűzi ki célul – mikrobiológiai tevékenység szabályozása.

6. A tartalomért felelősök köre

Társaszerző Szakmai Kollégiumi Tagozat:

Klinikai és Járványügyi Mikrobiológia Tagozat

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

Dr. Szabó Nóra, grógyógyász, szakmikrobiológus, a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium vezetője, társaszerző

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

Véleményező Szakmai Kollégiumi Tagozat:

Tudógyógyászati Tagozat

Dr. Bártfalvi Zoltán PhD., egyetemi magántanár, tudógyógyász szakorvos, klinikai onkológus, klinikai immunológus, allergológus, Soproni Erzsébet Oktató Könyvtár, Tudógyógyászati Osztály vezetője, 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 nyelve:

Nyomtatott verzió: Egészségügyi Közlöny 2009.21:3405-17.

Elektronikus elérhetőség: <https://kolegum.egemsz.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-euro-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-for-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/mm5906a1.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/0020/216850/Best-practices-in-prevention-control-and-care-for-drug-resistant-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/1B1topicalLaboratoryrapidmoleculartesting/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/mm6241a1.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/nczod/cd/diseases/tb/2008/080801.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)kkel:

Jelen irányelv bármely lokalizációban manifestálódó aktív és latens tbc témakörében érvényben lévő egészségügyi szakmai irányelvvel kapcsolatban áll. Kapcsolódás 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: - 2018. február 28.

III. ELŐSZÓ

A bizonyítékokon alapuló egészségügyi szakmai irányelvek az egészségügyi szakemberek és egyéb felhasználók döntését 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 szakorvosileg módon fogalmazza meg az ajánlásokat. Bár az egészségügyi szakmai irányelvek ajánlása 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

- Antituberkulotikumok szembeli 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 testfelületről származó viszkózus minták elkövetése abból a célból, hogy a kísérő flóra minél kevésbé zavarja a célorganizmus izolálását.
- Lamináris fülke: lamináris áramlású biztonsági fülke, amely a minták sterilizálásának, szennykezelésének fenntartása mellett védik a felhasználót és

- a környezetet a mintákból származó esetleges patogén mikroorganizmusok okozta fertőzésektől.
- **Labori tbc:** a *Mycobacterium* törzsa klinikai tünetek nélküli hordozása.
 - **Mycobacteriumok:** a *Mycobacterium* genusba tartozó azon speciemek (törzsek), amelyek humán vesztegkedésben szerepet játszanak.
Mycobacterium tuberculosis complex: A *Mycobacterium* nem genetikailag hasonló speciemek (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. bovis* ssp. *bovis*, *M. bovis* BCG, *M. caprae*, *M. canettii*, *M. mageritensis*), amelyek emberben tuberkulózist okoznak.
 - **Non-Tuberculous Mycobacterium:** nem tbc-t okozó mycobacteriumok.
 - **Nukleinsav-kimutatók:** alapuló módszerek, amelyek a tbc kórokozójának kimutatására, a törzsei azonosítására, az antimikrobiális szerekek szembeni rezisztenciáért felelős gének kimutatására és az izolált törzsek tipizálására használhatók.
 - **Direct nucleic acid amplification methods (DNAM):** nukleinsav-kimutatók alapuló olyan módszerek, amelyek a tbc vizsgálata során direkt a vizsgált anyagtól képesek a mycobacteriumok kimutatására és bizonyos kitek esetén a RMP/INH rezisztenciájának kimutatására.

2. Rövidítések

CDC: Center for Disease Control and Prevention
 CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
 CNAM: direkt nukleinsav-amplifikációs módszerek
 ECDC: European Centre for Disease Control and Prevention
 ERLN-tbc: European Reference Laboratory Network-TBC
 ETB: ethambutol
 EuroTB: European Tuberculosis Surveillance Kózpont
 FDA: Food and Drug Administration
 IGRA: Interferon-Gamma Release Assays
 INH: isonizid
 IUATLD: International Union against Tuberculosis and Lung Disease
 L.J.: Löwenstein-Jensen-típusú
 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 fertőzés
 VNTR-MIRU: Variable Numbers of Tandem Repeats of Mycobacterial Interspersed Repeats
 WHO: World Health Organization
 XDR: Extensively Drug Resistant Mycobacterium (rezisztens INH + RMP + fluorokinolon + iv. adható szerek egyike: amikacin, kanamycin, capreomycin)
 ZN: Ziehl-Neelsen-féle saválló festési eljárás

3. Bizonyítékok színjének 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 értékeltek, így a fejlesztőcsoport elfogadta az irányelveket kidolgozó nemzetközi szervezetek felméréseinek 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 előbbi hibák, hiányosságok lehetnek a forrástanulmányokban: - a vizsgált minta mérete, a tanulmány lefolytatásának minősége - nem eléggé egybehangzó eredmények; - az eredmények nem teljesen alkalmazhatók a hazai körülményekben. A jövőben folyó kutatások eredményeinek nagysága vagy iránya lehet eltérő és olyan mértékben, hogy az megváltoztathatja a konklúziót.
Nem vagy alig megbízható	A bizonyítékok elégtelenek ahhoz, hogy annak alapján következtetés levonható lenne. Okok: - a vizsgált minta mérete, a támogatott tanulmányok száma alacsony; - alapvető hiba a vizsgálati elrendezésben, módszertanban; - információhiány a forrástanulmányok között; - az eredmények nem általánosíthatók; - nincs információ forrás kimeneti eredményekre vonatkozóan; csak szakértői véleményeken alapul. További kutatások nagy eséllyel megváltoztatnák a bizonyítékokat.

4. Ajánlások rangsorolásának módja

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

Ajánlások	szint
Az ajánlást erősen megbízható bizonyítékok támasztják alá. (Számos olyan hiteles vizsgálat alapul, melyek klinikailag relevánsak, nem ellenmondásosak és hasonló hatásúak, mint a populációra, hazai környezetre alkalmazhatóságuk és valahányszor újabb kutatás nem módosítja.)	A

Az ajánlást elfogadhatóan megfigyelhetőségű bizonyítékok támasztják alá. (Hitelies vizsgálatokon alapul; azonban a vizsgálatok nagyságát, relevanciáját, az eredmények egyetemes megbízhatóságát és/vagy saját populációra, hazai környezetre alkalmazhatóságát illetően bizonytalanság merül fel, de végtelében újabb kutatás nem módosítja.)	B
Az ajánlást egyetemesen elfogadott nemzetközi szakértői vélemények támasztják alá. (Megbízható tudományos bizonyíték hiányában kiemelkedő nemzetközi szakértői konszenzuson alapul, amely a saját populációra, hazai környezetre alkalmazható, de kutatási eredmény módosíthatja.)	C
Az ajánlást hazai szakértői vélemények támasztják alá. (Megbízható tudományos bizonyíték vagy nemzetközi konszenzus hiányában, vagy ha ezek saját populációra, hazai környezetre nem alkalmazhatók, a hazai legjobb gyakorlatot meghatalmazza az irányelvet fejlesztő csoport tagjainak tapasztalatán vagy konzultációjával szerzett szakmai visszajelzéseken alapul; kutatási eredmény módosíthatja.)	D

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

V. BEVEZETÉS

1. A lémakör hazai helyzete, a témaválasztás indoklása

A tuberkulózis okozta morbiditás és mortalitás Európában és hazánkban is az egészségügyi kiemelt problémák egyike. A magyarországi tuberkulózishelyzetnek az 1950-es évek óta tartó kedvező tendenciája 1990-ben megfordult. Az addig folyamatosan csökkenő incidenciát 1990 és 1995 között újra 19%-kal emelkedett. A kedvezőtlen tendenciát visszafordítására, valamint a betegség visszaszorítására irányuló erőfeszítések optimalizálása céljából 1994-ben a Tudógyógyászati Szakmai Kollektum 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 bakteriológiaiallergiát igazolt tbc-s betegek arányát évek óta mindössze 50% körüli értéken tudtuk tartani [2]. Ennek oka között szerepel a jatszk, 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 bakteriológiai 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 jelenlévő nemzetközi (WHO, IUATLD, ERLN, ECDC, CDC, FDA) szervezetek ajánlásait és az érvényben levő 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 verzióhoz képest:

- A WHO ajánlása alapján a Class II típus A2 vákzatú lamináris fülke alkalmazása javasolt minden a mycobacteriologi laboratóriumban beérkező vizsgálati anyag feldolgozása során, mert ennél a típusnál az érkező és távozó levegő egy HEPA-szűrőn keresztül távozik és bekérhető a laboratóriumi helyiség cajtát elvezető rendszerbe (Ajánlás 5, 7).
- A tenyésztési idő lerövidítése érdekében minden mycobacteriologi tenyésztő laboratórium számára javasolt a szilárd táptalaj mellett a megfelelő folyékony tenyésztési eljárás használata is (Ajánlás 5, 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) módszerekkel 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 mycobacteriologi részlegeknek (M3 kompetenciázint), illetve a Nemzeti Mycobacteriologi Referencia Laboratóriumnak (Ajánlás 5, 8, 9, 10).
- Az utóbbi időben került a diagnosztikus palettára egy olyan real-time PCR módszer alapú assay, amely szintén, egy lépésben, néhány óra alatt képes detektálni a *M. tuberculosis* komplexet és a rifampin iránti rezisztenciát direkt a mintából vagy a tenyésztésből. Az assay egy zárt, endszert, keresztkontaminációra nem érzékeny teszt, amelynek magas a szenzitivitása (lásd lejjebb: I. TÁBLÁZAT). Használata a nagy anyagszámmal mycobacteriologi

laboratóriumok számára javasolt (Ajánlás5).

1. Meghatározó ajánlások

1. A minta előkezelése: homogenizálás, dekontaminálás

Ajánlás1

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

A nem steril testtájáról származó, kontamináltnak tekinthető vizsgálati anyagok esetében a tenyésztés előtt a mintát dekontaminálni kell, célszerűen N-acetyl-L-cystein-NaOH (NALC-NaOH)-nal történő előkezelés formájában, a tenyésztélek befertőződésének megakadályozása céljából. Ez az előkezelés a folyékony tenyésztési eljárások esetében is alkalmazható, míg az ellenjellel bíró klorhexidim-digluconates eljárás csak szilárd alapú tenyésztés esetén alkalmazható. Más előkezelési módszer alkalmazásakor valószínű 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 üledékből Ziehl-Neelsen (ZN) vagy auramin alapú fluoreszcenncel festett kenetből történik. Minden fluoreszcenln mikroszkópos vizsgálat alapján felvetett, új tbc-s beteg esetében az eredményt javasolt megerősíteni ZN-festéssel. A coccid bakteriumok mikroszkóppal történő kimutatása alapján előzetes eredmény adható ki (avvaló bakterium 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. Tenyésztési 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 hétes inkubációt követően adatai 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 (ha nem nitrát-reduktáz teszt) minden mycobacteriologiai tenyésztési 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 napainkban többféle nukleinsav-kimutatáson alapuló identifikáló teszt kapható a mycobacteriumok species szintű azonosítására (lásd 1. TÁBLÁZAT). A hagyományos identifikálást kiváló egyszerű immunológiai módszer bevezetése minden mycobacteriologiai laboratóriumban javasolt. A nagy anyagszámmal dolgozó mycobacteriologiai laboratóriumok vagy laboratórium 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 specierek azonosítására. Ezek előnye, hogy jelentősen lerövidítik az identifikálás idejét. Van olyan módszer, amely amplifikációt 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 Laboratóriumnak számára ajánlott [4, 9, 12, 20–22, 24, 26].

5. Rezisztencia meghatározása

Ajánlás 6

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

A Nemzeti Tuberkulózis Program elvárásának, valamint a nemzetközi ajánlásoknak megfelelően minden újonnan felfedezésre került, tuberkulózisban szenvedő beteg elsőként izolált tenyésztéséből 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 rezisztenciavizsgálatok céljából. A másodrendű szerek iránti rezisztenciavizsgálatokat csak a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium végzi. NTM törzsek esetében egyes kivételről eltekintve (*M. avium*, *M. kansasii*, gyorsan növő NTM-ek), a rutinszerű rezisztenciameghatározás a megfelelően standardizált módszer hiányában nem javasolt [3, 20-22, 25, 26, 28].

Ajánlás 7

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

Mivel az antituberkulotikumra érzékeny, mind az arra rezisztens kórokozó: hordozó betegek esetében az adekvát kezelés folytatásához, a beteg compliance-ének megtartásához és javításához kivant, hogy a rezisztenciavizsgálatok eredményei mihamarabb, de a mintavételről számított legkésőbb 8 héten belül rendelkezésre álljanak. Ehhez a folyékony úptípusban 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].

Ajánlás 8

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

Az NDR tuberkulózis fertőző mérlekedő globális terjedése miatt a rezisztenciaeredményekhez való gyors hozzáférés bevezetése alapvető célkitűzése vált. A WHO állásfoglalása szerint A reverz hibridizáción alapuló line probe assay-k alkalmazását a mikroszkóposan pozitív esetek RMP, illetve INH + RMP rezisztencia detektálására megfelelő számi evidencia alapján bizonyították.

- Ha a line probe assay érzékeny törzset detektál, az érzékeny *M. tuberculosis* okozta fertőzés 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 orvosi-gazdálkodási közegszervezetek intézkedések késedelem nélkül elindíthatók. A módszerek bevezetését a nemzetközi ajánlásokkal meggyőzően a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumban, illetve a technikailag jól felszerelt és képzett munkatársakkal rendelkező mycobacteriologiai laboratóriumokban ajánljuk [3, 4, 6-9, 29].

6. Molekuláris módszerek egyedi alkalmazása

Ajánlás 9

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 5-8 óra belül elvégezhető, ezért a kezelőorvos részéről elvárható, hogy az eredmények még a mintafeldolgozás napján, de legkésőbb 24 óra belül visszajelzésre kerüljenek.

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

Ajánlás 10

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

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

laboratóriumi kóroztérítések okozta toxus diagnózisát kizárására. Az ilyen helyzetekben szükséges prevenció lépések meghatározásához és megvalósításához 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 határozottabb specifikusabb módszerek az *in vitro* interferon-gamma gyors tesztek (IGRA), a latens tuberkulózis kimutatására szolgálóak. Biológiai terápia alkalmazása előtt, a latens tbc-fertőzés reaktiválódásának veszélye, továbbá az 5 év alatti gyermekek és immunszupprimáltak tbc-erősebb esetén választható diagnosztikus módszerek [3, 6, 31].

8. Eredmények és közlésük

Ajánlás12

A mintavétel időpontjától számítva, a tbc-izotípusa, azonosítása 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

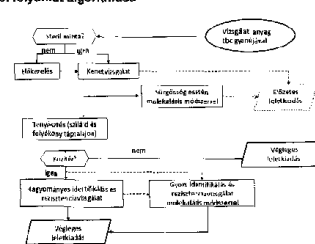
A mycobacteriologiai diagnosztikát végző laboratóriumok kötelesek az elvégzett vizsgálatok eredményéről a legrövidebb időn belül elektronikusan vagy postai úton értesíteni a beküldő orvost (C).

A különböző módszerekkel kapott eredmények értelmezése elengedhetetlen, beleértve az alkalmazott hagyományos vagy molekuláris módszerek szeritűzésének és specifikitásának 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 (izotíp, törzsek specifikus meghatározása, 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 szervetnek (D).

2. Az ellátási folyamat algoritmusa



VII. AJÁNLÁSOK SZAKMAI RÉSZLETEZÉSE

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

Ajánlás1

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

A mycobacteriumok oszlódási ideje meglehetősen hosszú (10-20 óra) ezért a nem steril testtájról származó minták (például köpet, vizelet, széklet) nem mycobacterialis, úgynevezett kontamináns baktériumai számottevően gyorsabb növekedési ütemüknek köszönhetően könnyen túlnőhetik az adott klinikai minta mycobacteriumait. Az átlagotv eredmények elkerülése céljából a mycobacteriologiai laboratóriumok ezeket a klinikai mintákat úgynevezett dekontaminációs eljárásnak vetik alá. A dekontamináció során testtájról származó minták esetében (például liquor cerebrospinalis, pleurális folyadék) nem szükséges. A dekontaminálás során alkalmazott vegyszerek a kontamináns baktériumok vagy gombák előlészén kívül segítenek a gyakran erősen pusztító minták homogenizálásában, valamint a centrifugálási lépések közbeiktatásával az esetlegesen jelenlévő mycobacteriumok koncentrációjában 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 klorhexidin-digluconát) alkalmazása esetén az 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 nyugati-európai mycobacteriológiai referenciaboratóriumok (F-CDC) is a NALC-NaOH eljárást ajánlják. A folyékony tenyésztőrendszerek rutinszerű alkalmazásának feltétele ezen előkezelés technika használata, ezért elengedhetetlen ennek az új módszernek a fokozatos hazai bevezetése.
- Klorhexidin-digluconátos eljárás [25]. Számos hazai mycobacteriológiai laboratórium használja ezt a módszert, elsősorban olcsósága miatt. A módszer nem túl munkahelyes, egyszerűen kivitelezhető, nem kell a vizsgálati anyagot centrifugálni, semlegesíteni, ezért tömeges minta feldolgozása is kiválóan alkalmas. A módszer hátránya, hogy jobban károsítja a mycobacteriumokat, mint a NALC-NaOH technika, és csak szűrés alapú tenyésztés esetén alkalmazható. A két eljárás összehasonlítható vizsgálata szerint a Löwenstein-Jensen-táptalajon történő tenyésztés pozitívatásának aránya közel duplája emelkedik, ha a NALC-NaOH előkezelést alkalmazzák. A klorhexidines módszerrel történő előkezelés a folyékony táptalajon való tenyésztésre alkalmazatlan (röcsölja a táptalajt), így napjainkban az újabb folyékony alapú táptalajok hazai elterjesztésének gátjává vált.
- Oxálsavas előkezelés [22]. Bizonyos betegcsoportok megkümböztetett figyelmet igényelhetnek a dekontaminálás vonatkozásában. Így például a cysticus fibrózisban szenvedő betegek légúli mintáiból egyre gyakrabban kerül izolálásra klinikai szignifikanciával (például transzplantációs kérdés) bíró NTM-csoportba tartozó törzs. Azonban az esetek 80%-ában a minta *Pseudomonas aeruginosa*-t is tartalmaz, amely könnyedén túlélheti a tenyésztés során a mintában jelenlévő NTM-et, és ártalmatlan tenyésztéshez vezet még a rutinszerűen alkalmazott dekontaminációs módszerek mellett is. Ezért az ilyen betegek esetében speciális 5% (v/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 szűrésű táptalajon a 3%-nál alacsonyabb, illetve folyékony táptalaj vizsgálata az 5-8%-nál alacsonyabb kontaminációs rata esetén a dekontaminálás túl erős, míg az ezen értékek feletti arány túl gyenge dekontaminációra utal.

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

Ajánlás

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 (H1 kompetenciájú 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 felhasználni sterili desztillált viz tartalmazhat elől saválló környezeti baktériumokat, amelyek álpozitívra tehetik a kenetet, ezért ilyenkor szűrt, steril desztillált viz használata ajánlott.

A kenetkészítést követően a festés a Ziehl-Neelsen-féle (ZN) vagy auramin alapú fluoreszcens eljárásokkal történhet. A Kinyun-féle festés alacsony érzékenysége miatt nem ajánlott módszer. A ZN-festést követően a mycobacteriumok vörös pálcáként észlelhetők a kék vagy zöld háttér kontrasztja mellett. Az auramin festést követően a mycobacteriumok sárgászöldön fluoreszkálnak fekete háttér mellett. A fluoreszcens mikroszkópia elősorban azon laboratóriumok számára ajánlható, amelyek nagy esetszámmal dolgoznak. A sötét háttér mellett ugyanis a mycobacteriumok környezetben észlelhetők, a fluoreszcens mikroszkóp látótere nagyobb, mindezek miatt egy-egy kenet értékelése gyorsabb. Ez a módszer azonban még a ZN-vizsgálathoz képest is nagyobb gyakorlati igényel, a kevésbé tapasztalt vizsgáló gyakran jelez vissza álpozitív eredményt, a fluoreszcens festékegységet nevezve baktériumnak. Emellett, a fluoreszcens festés a karbó-fukszinhoz képest sokkal jobb hatással bír képes megfesteni az antituberkulotikus kezelés miatt már károsodott saválló hárslamellákat, így a mikroszkópos pozitívítás a fluoreszcens festés mellett hosszabb ideig detektálható egy kezelt beteg esetében, ami nem feltétlenül jelenti azt, hogy a kezelés inaktív, 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 leggyorsabb hatánya, hogy nem kellően érzékeny és a negatív eredmény kiadásához minimum 100-300 látóter áttekintése szükséges, ami meglehetősen munkahelyes. A mikroszkópos vizsgálat érzékenysége az adott betegpopuláción belül függ a tuberkulózisban szenvedő betegek arányától, a vizsgált minta típusától (első légtől vs. mely légút), az mintagyűjtés minőségétől, a mycobacteriumok mintán belüli számától, az alkalmazott dekontaminációs és centrifugálási módszertől (cytocentrifugálás), a

centrifuga minőségű (legalább 3000g) és minősége 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 figyelemre igényelnek, hiszen az általuk ürített baktérium mennyiség miatt ezek a betegek a legfertőzőbbek. Eppen azért, hogy az ilyen esetekben szükséges izolációs lépések időben fogantozíthatók 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 negatívá válsát követő esetleges pozitívítása 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* komplex és az NTM-ek között. Azaz a kenet pozitívítása típusos *Mycobacterium* jelenlétének eredménye is lehet, amely nem biztos, hogy klinikai fontossággal bír. Emellett az aerob *Acidimycetaceae*, legfőképpen egyes fajtái is saválló-pozitívítást mutathatnak. Mindezek miatt a mikroszkópos vizsgálat eredményét saválló baktérium pozitív vagy negatív megjelöléssel kell visszajelyezni.

A mikroszkópos vizsgálatok értékelése (belső minőségbiztosítás):

Pozitív és negatív kontrollt kell alkalmazni minden új faeszközt használatánál. Minden kenet pozitív minit és a negatívak legalább 10%-át egy második vizsgálatnak ellenőrizni kell. Ugyancsak figyelemmel kell kísérni a mikroszkóposan pozitív és tenyésztéssel negatív betegek arányát is. Az ilyen betegek (első-sorban az újonnan nyilvántartásba vett betegek) arányának kevesebb, mint 1%-nak kell lennie. Az ennél magasabb arány dekontaminációs, tenyésztési (táptalajminőség, rövid inkubációs idő) hibát, nehezezen tenyészíthető NTM (például *M. haemophilum*, *M. goodii*) jelenlétét vagy laboratóriumi keresztferőzést jelezhet.

3. Tenyésztési eljárások [3, 20–26]

Általános

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

A mycobacteriológiai vizsgálatok következő lépése a dekontaminált minta tenyésztése, amely továbbra is nélkülözhetetlen a tbc-diagnosztikában a következők miatt.

A tenyésztés érzékenysége nagyságrendekkel nagyobb, mint a mikroszkópos vizsgálatoké.

A *M. tuberculosis* komplexen belüli specifikus diagnózishoz, a különböző NTM törzsek azonosításához, a molekuláris epidemiológiai vizsgálatok elvégzéséhez (DNS-ujjnyomat-vizsgálat) megfelelő mennyiségű biomaszára van szükség, amelyet a tenyésztés biztosít.

– A rezisztenciavizsgálatok elvégzéséhez elő körkörüzt ügyencsak 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 transzparensciájuk 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 izolációt követő identifikálás, majd rezisztencia meghatározása további 2-6 héttel növelheti ezt az amúgy is telemes tenyésztési időt. Mindemellett a vizsgálatok azt is igazolták, hogy csak szilárd táptalajon történő tenyésztéssel a klinikailag egyértelműen tuberkulózisban szenvedőnek diagnosztizált betegek mintájából minélgy 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 elvart eredményközlési időintervallumának (Ajánlás 12-13) teljesítéséhez nélkülözhetetlen a folyékony táptalaj alapú rendszerek rutinszerű alkalmazása. Folyékony táptalajon tenyésztve, a tenyésztési idő a minta *Mycobacterium* tartalmától függően 1-3 héttel rövidíthető. Emellett a folyékony táptalajok szennyeződése 90% feletti, valamint előnyök 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 feltétlenül alkalmas minden *Mycobacterium* specifikus optimális tenyésztésére. Így olyan helyeken, ahol bizonyos NTM okozta megbetegedések gyakoriak (például HIV-fertőzettek) vagy endemiák, szükség lehet egy savanyú pH-értékű LJ-re vagy a pH 6 értékű Ogawa- (Japánban elterjedt tojás alapú) táptalajra való áttérésre is. A szilárd táptalaj további előnye, hogy a növekedés kvantitatív formában is visszajelmezhető, a kolóniamorfológia és a pigment termelés vizsgálatát, illetve kelis mennyiségű biomaszra bízhatóan az identifikálást segítő biokémiai tesztekhez.

Összességben tehát sem a szilárd, sem a folyékony táptalaj érzékenysége nem ér el a 100%-ot, azaz mindkét táptalajtípus esetén 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 használnia kell végezni, a korábbi minél gyorsabb és érzékenyebb izolálása, valamint a rezisztenciavizsgálatok minél gyorsabb elvégzéséhez érdeklében. Amennyiben a beoltott folyékony vagy szilárd táptalajon növekedés nem észlelhető, úgy negatív tenyésztési eredmény 8 hetes inkubációt követően adható ki.

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

Általános:

- Az összes eszköz és berendezés szabályozott időközönkénti kontroll-vizsgálatát el kell végezni, különös tekintettel a lamináris flúkékre és a centrifugákra.

Naponként ellenőrizni kell:

- A reagensok lejárati 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 ismételten azonos szennyező baktérium lenyészik ki, ellenőrizni kell az összes felhasznált reagens sterilitását.
- A dekontaminálás kezdetén és végén egy-egy cső (5 ml) steril dezinfiliát vízzel, illetve fiziológias sóoldattal is el kell végezni a munkafolyamatot.
- Az előkezeléshez használt reagensokat a munkafolyamat előtt véres agarra kell oltani.
- Ellenőrizni kell a táplálajok és a reagensok lejárati idejét.
- Minden új, házihasználaton gyártott táplálóparazert miniatűr vizsgálatát *M. fortuitum*-mal (ATCC 6841), egy gyorsan növő NTM-mel ajánlott elvégezni.
- A kereskedelmi forgalomban kapható, minőségbiztosítási tanúsítvánnyal ellátott táplálókat nem szükséges ellenőrizni de a felhasznált táplálók gyártási számát fel kell jegyezni.

Hetente ellenőrizni kell:

- Meg kell határozni a szennyezett tenyészetek százalékos előfordulását. Szilárd táplálaj esetén az >5%, folyékony táplálaj esetén a >8-10% kontamináció inadokvát 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, az túl erős előkezelésre, nem megfelelő minőségű táplálókra, különleges igényű mycobacteriumokra, vagy antituberkulózis 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 tenyésztéssel rendelkező betegek számát.
- Monitorozni kell a kenetben és tenyésztéssel is pozitív esetek arányát. Az elvárt mérték 55%.
- Monitorozni kell a tenyészetek pozitívra válásának idejét külön a szilárd és folyékony táplálajok esetében mind kenet pozitív, mind a kenet negatív mintákra.

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

Átlagos pozitív tenyészetek előfordulása pozitív mintákkal történő kontamináció következtében:

A mycobacteriologiailag laboratóriumban az előkezelési és tenyésztési eljárások során a vizsgálati anyag kereszttenyésztése következtében átlagosan válhat. Az átlagos pozitív tenyészetek előfordulási aránya nemzetközi ajánlások alapján kb. 3%. A kereszttenyésztés létrejöttét 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 alacsony mycobacteriumokkal (*M. goodii*, *M. neoaurum*), ha a felhasználott víz nem volt steril. A vizsgálati anyagok átterítődésének esélyét csökkenteni, ha a lamináris flúkéban kisebb mennyiségű reagenst használunk, a manipulációk során alkatmanként csak egy minia csőre 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]**Ájánlás4**

A *M. tuberculosis complex* hagyományos módszerrel történő identifikálását minden mycobacteriologiailag tenyésztő laboratóriumnak el kell tudnia végezni [3]. A klinikailag releváns NTM törzseket a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumba kell küldeni identifikálásra vagy annak megerősítésére céljából [1].

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 enzimatikus vagy növekedésgátlás kimutatással célzó biokémiai tesztek elvégzése jelenti. Ezeknek a hagyományos identifikációs teszteknek a legnagyobb hátránya, hogy elvégzésük jelentős mennyiségű biológiai anyagot, amely szubkulturálásra való alkalatlansággal 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 identifikációs módszerek szerepe világszerte igen jelentősen visszahatalosult. A *M. tuberculosis complex* identifikálására és az ehhez szükséges alapvető hagyományos identifikációs módszerek elvégzésére inadin, nitrit-reduktáz (nrt) minden mycobacteriologiailag tenyésztést végző laboratóriumnak képesnek kell lennie. Az átlagos idő mérséklésére azonban hazai viszonylatban is meg kell teremteni a molekuláris vagy egyéb gyors identifikációs módszerekhez (Ajánlás5) való hozzáférést, legalább a magasabb kompetenciájú, nagy anyagszámmal dolgozó mycobacteriologiailag laboratóriumok számára. A klinikailag releváns NTM törzseket a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumba kell küldeni identifikálásra céljából [3, 20–22, 24–26].

A hagyományos identifikációs módszerek ellenőrzése (külső minőségbiztosítás)

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

Ájtánlás

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

A kereskedelmi forgalomban napjainkban többféle molekuláris módszerrel alapuló identifikáció teszt kapható, amelyek különböző immunkromatográfás, géntechnikai, folyadékkromatográfás vagy tömegspektrometria módszert alkalmaznak a *Mycobacterium* specíesek azonosítására. Hogy a laboratórium milyen módszerrel használ, függ a laboratórium költségvetése, a rendelkezésre álló felszereltségtől és szaktudástól.

Az egyszerű és gyorsan elvégezhető, immunkromatográfás módszer a *M. tuberculosis* komplexet különíti el az NTM törzsektől. A módszer a *M. tuberculosis* törzsekre specíus MPB64 protein és az ez ellen termelt monoklonális antitestek reakcióján alapszik. Pozítív 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 specífitása a vizsgálatok szerint 100%, és a szenzítívítása is 90% feletti. Minden mycobacteriologiai tenyésztőlaboratórium számára ajánlott a gyorsasága miatt a hagyományos identifikálás kiváltására.

A reverz hibridizáción alapuló identifikáló tesztek használata során egy specíális DNS-szakaszt sokszorozunk PCR segítségével, majd a DNS-terméket egy tesztcsíkon elhelyeztük, az egyes mycobacteriumokra specíus próbákkal hordoztattuk. Ezek a rendszerek egyes esetekben a *Mycobacterium* genus vagy a *M. tuberculosis* komplex elkülönítésére alkalmasak, vagy a *M. tuberculosis* komplexen kívül az összes jelenleg ismert klinikailag fontos NTM kimutatására is alkalmasak. Lehetőség van a *M. tuberculosis* komplex, valamint a *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. goodii*, *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* komplexet és a rifampicinrel szembeni rezisztenciát árték a minél többi vagy a tenyésztetből. Az assay egy zárt rendszerű, keresztkontaminációra nem érzékeny teszt, amelynek magas a szenzítívítása.

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 fajspecíus szekvenciáknak bázissorozattal határozhatók meg, amelyet ezután már ismert és jól karakterizált törzsek bázissorozattal vetnek össze. A referencia-bázissorozat adatbázisának összeállítása történeti „haztelegosan”, de kereskedelmi forgalomban árult adatbázisok is rendelkezésre állnak. A rutin alkalmazásban

minőség referencia módszereként legelterjedtebb DNS-szekvenálás a 16S rRNA hipervariábilis régiójának vizsgálatán alapszik. Automata DNS-szekvenáló műszer segítségével a vizsgálat 1-3 nap alatt elvégezhető. A DNS-szekvenálás lehetővé tette olyan NTM fajok lefedését is, amelyek nem vagy nagyon nehezen tenyészíthetők, potenciálisan patogének, vagy egyelőre még nem teljesen karakterizáltak, nem minden szempontból ismertek (patogénitás, rezisztencia, transzmisszió stb.). A módszer alkalmazása referencia laboratóriumokban indokolt.

A magas teljesítményű folyadékkromatográfia (high-performance/pressure liquid chromatography; HPLC) a *Mycobacterium* fajok specíus sejtfallal mycolav sav összetételének gyors és pontos vizsgálatát teszi lehetővé, amellyel számos ismert, jól ismert, korábban még nem azonosított *Mycobacterium* faj identifikálása válik lehetővé. A HPLC berendezés megléte esetén a mérés gyors és pontos, 2 órán belül elvégezhető. A módszer hátránya, hogy a szükséges műszer költséges és az eredmények értékelése gyakorlatilag nagy tapasztalatot igényel. A módszer alkalmazása referencia laboratóriumokban indokolt.

A tömegspektrometria módszer (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time of Flight Mass Spectrometry – MALDI-TOF MS) egy olyan eljárás, amely a lezáró ionizált sejtkomponensek tömegét méri, az eredményt egy detektoron regisztrálják, így megkapják az egyes specíesekre jellemző proteinspektrumot. Egy szoftver segítségével a spektrumprofil alapján a törzsek azonosíthatók. A módszer alkalmazása referencia laboratóriumokban indokolt.

Molekuláris módszerek alapuló identifikációs módszerek ellenőrzése (belső és külső minőségbiztosítás)

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

5. Rezisztenciameghatározás [3, 4-8, 20, 21, 22, 25, 26, 28, 29]

Ájtánlás

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

Ájtánlás7

A folyékony tenyésztetben végzett rezisztenciavizsgálat bevezetése ajánlott a nagy mintaszámmal dolgozó mycobacteriologiai laboratóriumokban (B).

Hagyományos rezisztenciavizsgálati módszerek *Mycobacterium* törzsek esetén:

A szilárd táptalajon végzett rezisztencia-meghatározás (proporciós módszer) bár pontos, de meglehetősen idő- és munkaigényes (az izolációt követő további 3-5 héten tenyésztésre van szükség). A vizsgálat biomassza igénye miatt szükség van az identifikált kórokozó LJ- vagy egyéb szubkulturán történő felzaporítására, vagy ha a *M. tuberculosis* NTM-mel együtt, úgynevezett kevert tenyészet formájában került izolálásra, akkor a tenyészetnek az átrazestenciához vezető NTM-től való megjelölésére, ami újabb többszörös kövesztéseket okozhat.

A folyékony táptalajon végzett rezisztenciavizsgálatokra a lehetőséget különböző folyékony tenyésztési rendszert gyártó cég teremtette meg. Az 4 első vonalbeli antituberkuláris kórokozó (INH, RMP, E/B, 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 Laboratórium-ban megcélzása szerint. 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 nőző NTM törzsek), a rutinszerű rezisztencia meghatározás a megfelelően standardizált módszerek hiányában nem javasolt.

Ajánlás

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

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

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

szekvenzálnak DNS-szekvenálással, vagy a PCR és reverz hibridizáció alapú line probe assay-k segítségével. A kereskedelmi forgalomban kapható tesztek az RMP-rezisztenciát felismerő *rrpB* génnek és az INH-rezisztenciát felismerő *inhA* és *inhB* géneknek a mutációját számolva is képesek kimutatni az izolált törzsből és közvetlenül a mikroszkopos vizsgálatokkal saválló pozitív betegnél bizonyított beteg mintájából is (lásd: 1. TÁBLÁZAT).

A MDR tuberkulózis fertőző mértékű globális terjedése miatt a rezisztencia-eredményekhez való gyors hozzájárulás érdekében a WHO új diagnosztikai algoritmus bevezetését javasolta, elsősorban a mikroszkopos vizsgálatokkal saválló pozitív betegeknél.

A WHOECDC állásfoglalása szerint:

- A reverz hibridizáció alapú line probe assay-k alkalmazását a mikroszkopos pozitív esetekben a RMP, illetve INH + RMP rezisztencia detektálására közvetlenül a vizsgálati anyagból, együtt a kórokozó kimutatásával, megfelelő számú evidencián alapuló vizsgálatot bizonyították.
- Ha line probe assay érzékeny törzsek detektálása megfelelő gyorsasággal biztosítható eredmény az érzékeny *M. tuberculosis* okozta fertőzés diagnózisának felállításához és a kezelés elsőrendű szerekei azonnali megkezdéséhez.
- Ha a line probe assay rezisztens törzsek detektálása közvetlenül a vizsgálati anyagból, az egy időben elindított tenyésztés során a kiterjesztett törzsből az első és másodrendű szerek iránti rezisztenciavizsgálatot is el kell végezni.

A módszerek bevezetését a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium-ban, illetve a technikailag jól felszerelt és képzett munkatársai rendelkezé-
sére a mikrobiológiai laboratóriumokban ajánljuk. A gyors eredményadási ké-
peség lehetőségeit biztosít a szükséges közegészségügyi intézkedéseket
készenléti állásba hozásához is.

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

A fenti módszerek csak olyan M3 szintű önálló vagy mikrobiológiai labora-
tórium részlegeként működő mycobacteriologiai laboratóriumokban lehet végezni,
amely személyzet és felszereltség és jártasság (az adott módszer követelménye,
legalább heteroként alkalmazása) alapján alkalmas molekuláris genetikai vizs-
gálatok végzésére, valamint alkalmazza a pozitív és negatív kontrollokat a fo-
lyamat végzése közben (belső minőségbiztosítás), és részt vesz külső szerve-
zet által szervezett minőség-ellenőrzési körkörösítokban.

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

Ajánlás

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

A direkt nukleinsav-amplifikációs módszereknek (DNAM) a mycobacteriologiában való alkalmazása a lassan tenyésző *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 kivételzésének lehetőségét teremtette meg. Bár a nemzetközi irányelv [18] minden elsőként diagnosztizálható *the-gyarus* beteg esetében legálább egy minta DNAM-mal történő vizsgálatát ajánlja, hazai körülmények között, ha a feltételek nem teljesülnek (például vizsgálati költségek felfutása) a módszer rutinszerű alkalmazása mellőzhető. Mikroszkópos vizsgálatnál pozitívnak bizonyuló mintából csak akkor javasolt a teszt elvégzése, ha olyan betegről van szó, akinél NTM kórköri szerepe valószínűsíthető (például HIV-fertőzött, transzplantált beteg, cysticus fibrózis). Ilyen esetekben a tesztek érzékenysége a mikroszkóposan pozitív minták esetében közel 100%. Mikroszkóposan negatív beteg esetében csak akkor végezzünk ilyen vizsgálatot, ha a tuberkulózis diagnosztikájának felállítása komoly differenciáldiagnosztikai problémát jelent a rendelkezésre álló egyéb klinikai adatok (közvetlen) a tesztek érzékenysége ezen betegcsoport esetében függ az alkalmazott módszertől és az irányítási adatok alapján minősítése 70-90% [12-18]. Az eredmények értékelése mindig individuálisan történjen. Előfordulhat, hogy a direkt nukleinsav-amplifikációs vizsgálatra kerülő mintából egy időben a mikroszkópos és tenyésztési vizsgálatok is elvégzése kerüljenek.

A módszerek legutóbb vizsgálati anyagokra vannak validálva, érzékenyséjük extrapulmonális minták esetében alacsonyabb. Extrapulmonális körkörülmények a módszer szenzitivitását jelentősen csökkentik a minta jellemzően alacsonyabb csíraszám, és az amplifikációt gátló inhibítorok esetleges jelenléte, amelyek aránya szignifikánsan magasabb, mint a légúti anyagokban.

A központi idegrendszer tuberkulózisa a humán gerincvelő legveszélyesebb formája, ezért ebben a körkörülményben a gyors diagnosztika felállítása kiemelt fontosságú. A publikált esetek alacsony száma és a módszerek elégtelen érzékenysége miatt a meningitisz bőséges diagnosztikájának gyors felállítására jelenleg nincs nemzetközileg ajánlott módszer. Metaanalízisek megállapítása szerint a DNAM technikák érzékenysége extrapulmonális esetekben a vizsgálati mintától, a vizsgálati helyektől és módszertől függően széles határok között (27-85%) mozog. Meningitiszben átlagosan 56% körül.

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

- Mikroszkóposan negatív, akut súlyos állapotú betegnél tuberkulózis gyorsan eseten (például lélegeztetést igénylő pneumonia).
- Bármilyen rendkívül sürgősséget igénylő esetben (például nem tudógöngyöszaki intenzív ártal ellátásra szoruló tb-s beteg esetében).
- Mikroszkóposan saválló-pozitív, immunosupprimált betegek esetében az NTM fertőzés fokozottabb veszélye miatt.
- Szervtranszplantált betegknél.
- Fertőzésveszély kizárása érdekében, fokozottan veszélyeztetettek védelmében, mint például biológiai létesítményben részesülő infekcióveszélyes (mikroszkópos negatív) 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 specifikus identifikációt és rezisztencia kimutatást is lehetővé tesznek. Ugyanúgy a minta előkezeléséből, a nukleinsav izolálásából, amplifikációjából és detektálásából állnak, és minden egyes lépésenként más-más módszert alkalmaznak. Egyes tesztek csak a *M. tuberculosis* komplexet detektálják, mások a *M. tuberculosis* komplexei és az *INH*- és *RMP*-rezisztenciához társuló mutációkat is, és megint mások a *M. tuberculosis* komplexen belüli specifikusokat is elkülönítik, illetve a gyakran és klinikailag releváns NTM-specieseket is képesek kimutatni. A módszerek szenzitivitása alapvetően a kenet pozitívitásának függvénye, de az alkalmazott tesztneként is változó. A módszerek alkalmazása javasolt nagy mintaszámmal dolgozó mycobacteriologiai laboratóriumokban, ahol a módszerek kivételzésére alkalmas laboratóriumi körülmények és személyzet rendelkezésre állnak, a költségviselési lehetőségektől függően.

A DNAM alkalmazásának ellenőrzése (minőségbiztosítás)

A fenti módszerekkel csak olyan M3 szintű, önálló vagy mikrobiológiai laboratórium részlegként működő mycobacteriologiai laboratóriumban lehet végezni, amely személyzet és felszerelés vonatkozásában megfelel a nukleinsav alapú módszerek alkalmazására, valamint alkalmazza a pozitív és negatív kontrollokat a folyamatos végzése közben (első minőségbiztosítás), és részt vesz közös szervezett által szervezett minőség-ellenőrzési körkörösítésben.

Ajánlás10

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

A molekuláris epidemiológia egyik arany standard módszere, a DNS-ujlenyomat- (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP) vizsgálat a mycobacteriumok tipizálására is alkalmazható módszer. Az enzimikus emésztés során nyert DNS-fragmentumok molekuláris mérete oly módon változik, hogy két nem azonos *M. tuberculosis* törzs egymástól eltérő mintázatot mutat a jelölt IS6110 próbával való hibridizációt követően. A DNS-ujlenyomat-vizsgálatot sikeresen alkalmazzák különböző járványok vizsgálatára, a tuberkulózis aktív transzmisszióját befolyásoló riskófaktorok vizsgálatára (például antituberkulotikum-misztencia), a konvenzionális módszerekkel azonosítottak kontaktok kizárására és ezáltal a országos időre tekintetűre. Használják továbbá a különböző veszélyeztetett szubpopulációkon belül a tuberkulózis transzmissziójának vizsgálatára, és a laboratóriumi keresztfertőzések okozta téves diagnózisok észlelésére. Továbbá, a mycobacteriumok tipizálására alkalmas módszerek a PCR alapú spoligotyping és VNTR-MIRU (Variable Numbers of Tandem Repeats of Mycobacterial Interspersed Repetitive Units), valamint a tömegspektrometria módszerek. Az ilyen helyzetekben szükséges prevenció lépések meghatározásához és

megjelenéséhez hatástan is szükséges a molekuláris epidemiológiai vizsgálatot 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 végzés, amely személyzet és felszerelés tekintetében alkalmas tbc-típusozásra, nukleinsav alapú módszerek végzésére, és rendelkezik az ehhez szükséges szakutózással, valamint részt vesz nemzetközi szervezetek körkörös ellenőrzésében.

7. Egyéb ajánlások

Ajánlás11

Latens tuberkulózisfertőzés kimutatására immunszerológiai módszereket alkalmazása javasolt (C).

A *M. tuberculosis* specifikus antigénjei által aktivált immunsejtek (T sejtek) fokozott jelenlétét, illetve a sejtek által termelt gamma-interferon kimutatására tesztelt lehetőségek, illetve a tesztelés a Mantoux-próbát nem helyettesítik, de annak határozottan specifikusabb módszerek, fajlagosságúak a BCG-vakcináció, és az atipikus 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 leírt kimutatására, amikor a tuberkulózis 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 6 hét elteltével adható ki [3, 6, 28].

Ajánlás13

A mycobacteriologiai diagnosztikát végző laboratóriumok kötelesek az elvégzett vizsgálatok eredményéről a legkorábbi időponttól elektronikus vagy postai úton értesíteni a beküldő orvost (C).

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

orvosokat az általuk használt módszerek szenzitivitásáról és specifitásáról, valamint a vizsgálatok vártató átfutási idejéről. A különözö időben rendelkezésre álló részeredményekről, valamint a végleges eredményről a legkorábbi időponttól elektronikus vagy postai úton kell értesíteni a beküldő orvost [3].

Ajánlás14

Minden Mycobacterium-diagnosztikát végző laboratórium köteles a végzett vizsgálatok eredményéről (izolált törzsek specifikus 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 laboratórium részleg kompetenciaszintje szerint személyi feltételeknek kell megfelelni. Konzultádóra alkalmas diplomás orvosi mikrobiológus szakorvos, klinikai mikrobiológus szakbiológus, mikrobiológus szakgyógyász (szak) 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-festéssel alapuló direkt mycobacterium kimutatást M1 kompetenciaszintű laboratórium is végezhet, ha megfelelő gyakorlati rendelkezéssel, azaz folyamatosan használja az egyéb festési eljárások mellett a ZN-festést és mikroszkópia értékelést.
- A mycobacteriologiai diagnosztika koordináló laboratóriuma a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium.

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

- A mikrobiológiai laboratóriumok számára meghatározott minimumkövetelményekben külön meghatározásra kerültek a mycobacteriologiai részlegek minimumkövetelményei is. A WHO/ECDC ajánlások [5, 26] szerint mycobacterium diagnosztikát végző laboratóriumoknak rendelkezniük kell a minta kontaminációjának elkerülését és a környezet és a laboratóriumi személyzet kontaminációjának elkerülését biztosító bevezetőeszközökkel, mint például az újabban ajánlott a Class II típus A2 lamináris fűke, amely típus esetén az érkező és távozó levegő egy HEPA-szűrőn keresztül távozik, és beáramlik a laboratórium helyiség saját elszívó rendszerébe.
- Fontos, hogy a nukleinsav kimutatásán alapuló módszereket használó mycobacteriologiai M3-as laboratóriumok megfelelő, a módszerek kivételére alkalmas eszközökkel és megfelelő szakutalással és gyakorlattal rendelkezzenek, valamint részt vegyenek külső minőségi ellenőrzési programokban.
- A mycobacteriologiai laboratóriumnak vagy laboratóriumi részlegnek rendelkeznie kell az adatok kezelésére, tárolására és a kapott ténylestípusú és rezisztencia adatok továbbítására alkalmas informatikai rendszerrel (laboratóriumi surveillance alapfeladatai).
- Fontos elvárás, hogy a különböző kompetenciaszintű mikrobiológiai laboratóriumok megfelelő mycobacteriologiai részlegei egymásra építve 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 valamilyen lépését a diagnosztikának nem végzik (identifikálás, rezisztencia meghatározás) kötelesek a magasabb szintű M3 mycobacteriologiai diagnosztikát végző laboratóriumba továbbítani a mintát vagy az izolátumot. A Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium feladata a mycobacteriologiai laboratóriumi hálózat minőségi munkáját ellenőrizni, illetve az M1 és M2-es laboratóriumok által nem végzett vizsgálatokat elvégezni. Előnyös vizsgálatokat a mycobacterium diagnosztika területén csak a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium végez (lásd egyes ajánlások).

1.3. Az ellátottak együttműködését befolyásoló tényezők

A helyi együttműködésének megteremtéséhez és javításához kívánatos, hogy a vizsgálati eredmények mihamarabb, de a mintavételétől számított legkésőbb 3 napon belül rendelkezésre álljanak.

1.4. Egyéb feltételek

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

2. Alkalmazást segítő dokumentumok listája

- 2.1. Mycobacteriologiai (tbc-tenyésztő) laboratóriumokban rendszeresen zajló minőségügyi ellenőrzés jegyzőkönyve.
- 2.2. Gyógyszer vizsgálati eljárás lap.
- 2.3. A hazai laboratóriumok által elérhető, a mycobacterium 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 vizsgálati országos vagy regionális megfelelőségnek indikátorai:

- A minta-előkezelési módszer (dekonamináció) értékelése a tenyésztetek fertőzőképességének 1%-os előfordulása alapján.
- A direkt mikroszkópos, a tenyésztéses, valamint nukleinsav alapú kimutatási módszerekkel kapott eredmények összehasonlított bejegyzései esetében (szennyezés, pozitív és negatív prediktív érték vizsgálataival, illetve az irodalomban megtalálható értékekkel).
- A bakteriologiai igazolt tbc-s esetek aránya a regisztrált esetekhez viszonyítva.
- A tenyésztéssel pozitív esetekben az elvégzett rezisztenciavizsgálatok aránya.
- A MDR és XDR mycobacteriumok aránya a bakteriologiai 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 közlekedő és ajánlott továbbképzések keretében szervezett, a témával foglalkozó előadásoknak.
- A mikrobiológiai laboratóriumok részeként vagy önállóan működő mycobacteriologiai diagnosztikai laboratóriumok működési feltételeinek meghatározása során figyelembe kell venni ezen irányelv elvárásait.
- A társadalombiztosítás keretében zajló ellátás során a mycobacterium okozta infekciók diagnosztikáját biztosító mikrobiológiai vizsgálatok finanszírozási eljárásrendjének, szabályainak és díjgyűjteményének meghatározásánál figyelembe kell venni ezen irányelv elvárásait.

IX. A DOKUMENTUM FELÜLVIZSGÁLATÁNAK TERVE

Az Egészségügyi Szakmai Kollégium Klinikai és Járványügyi Mikrobiológiai Tagozatától jeleli ki felülként, 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 azt a hazai bc-incidencia adatai vagy a laboratóriumok helyzete igényli.

Alapvetően a CDC, ECDC és a WHO ajánlásainak folyamatos követését végzi a fejlesztőcsoport. Ezen felül az érintett témakörökben a szisztematikus áttekintések jelentenek megfelelő bizonyítékokat. Jelenleg nem kapható olyan, nagy multicentrikus kutatás a témában, amelynek a közeljövőben várható eredmény befolyásolhatná az ajánlások aktualitását.

X. IRODALOM

1. Az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja a tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról. Egészségügyi Közlöny 2008; 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. IATLD-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 Multi-drug- 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/1101pic/Laboratory/rapidmoleculartesting/default.htm>, 2012
10. Availability of an Assay for Detecting Mycobacterium tuberculosis, Including Rifampin Resistant Strains, and Considerations for Its Use - United States, MMWR 2013; 62(41):321-4.
11. National plan for reliable tuberculosis laboratory services using a systems approach. Morb Mortal Wkly Rep 2005; 54: No. 3R-6.
12. Report of an Expert Consultation on the Uses of Nucleic Acid Amplification Tests for the Diagnosis of Tuberculosis, 2003 http://www.cdc.gov/hiv/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. NZCCG. Management of Early Colorectal Cancer, 2011., App. 1. pp.102 <http://www.health.govt.nz/assets/publications/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 Tudógyógyászati 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 JF, 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 C, Brown-Elliott BA, Wallace Jr RJ. Mycobacterium. In: Vosselovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warrack 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 hatásfoka különböző előkezelési eljárások és tenyésztési módszerek függvényében. Medicina Thoracalis 2003; 56:168-62.
25. Somoskövi A, Mosler J, Hale YM, Parsons LM, Salfinger M. Laboratory diagnosis of nontuberculous mycobacteria. Clin Chest Med 2002; 23:585-97.
26. Fodor T, Lőrincz I, Szikra L. A Mycobacterium tuberculosis és egyéb típusos mycobacterium fertőzések bakteriologia vizsgálatának módszerei. In: Czifok É. (szerk.) Klinikai és járványügyi bakteriologia kézikönyv. Budapest: Medicina; 1999. p. 565-7.
27. WHO. Tuberculosis Laboratory Diagnostics Manual http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77949/1/9785241504638_eng.pdf, 2012
28. Somoskövi A, Kodmon C, Lantos A, Bartai Z, Tanasi L, Fuzay J, Magyar P. Comparison of recoveries of Mycobacterium tuberculosis using the automated

- 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, Bátfai Z, Ködmön C, Somoskői Á. A Mycobacterium tuberculosis antituberkulotikum-rezisztenciájának molekuláris alapjai. Medicina (Boracis) 2002; 55:30-8.
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, Petersen 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 H-L, 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
Dolgozás a fejlesztőcsoportban	Igen
Fejlesztőcsoport felkérése	Igen
Egyéni összehelyeztetési nyilatkozatok	Igen
Egyéni összehelyeztetési nyilatkozatok	Igen
Csoportos nyilatkozata fejlesztés során igénybe vett	Igen
Külső támogatásról, a szponzori függetlenségéről	Igen
és az elfoglaltságról	Igen
Konzultációs lejegyzések	Igen
Módszertani szűrőértékelés	Igen
Részletes módszertani értékelés(ek)	Igen
Tagozatvezetői nyilatkozatok az egészségügyi szakmai	Igen
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 megerősített és a csoport koordinátorának (Dr. Nagy Erzsébet) megválaszolója megerősítette.

2.2. Irodalomkiesés, szelekció

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

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

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

<http://www.cdc.gov>

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

A kézikönyvek és irányelvek legfrissebb megjelenési időpontja 2013., ezért PubMed-keresést folytattunk az általi keresztszavak alkalmazásával 2013 és 2014. évre, a szisztematikus összefoglalók, nagy esetszámú tanulmányok tanulmánytípus-

sáira 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 diagnózis

Non-tuberculous 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, IJATLD, 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 besorolásokról eltérően, ahol legmagasabb szintet csak a randomizált kontrollált tanulmányok kaphatnak, ez nem függ a bizonyítékok szolgáltató tanulmány vizsgálati elrendezésétől, mely például prevenció témakörben, ahol a követéssel vizsgálatok szükségletnek csak megbízható eredményt eredményezhetnek. Két szempontból módosítottuk a USPSTF rendszert. Egyrészt a megnevezésben a magyar nyelvben ányagtaltabb kifejezéseket alkalmazunk 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 feltételek rendszer, az ellátási útvonalak, a meglévő hazai, különböző kompetenciájú szintű mycobacterium-tenyésztő laboratóriumok tevékenységének ismeretében került sor a surveillance-és monitoring-adatok alapján.

A fejlesztők hangsúlyt helyeztek arra, hogy a témakört érintő más hazai irányelvekkel (tbc-s betegek klinikai ellátását tárgyaló irányelv) ne foglalkozzanak 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 – egyévesig – a besorolás jelölését – a „D” jel helyett „D” betűt alkalmaztuk, amely a hazánkban korábban használtban lévő besorolási rendszerrel harmonizában van). A kiegészítés során valamennyi kategóriára vonatkozóan meghatározásra került az adott szint esetén az ajánlás tudományos bizonyítékaihoz, a hazai alkalmazhatósághoz valamint későbbi kutatások lehetséges hatásához való viszonya.

Az ajánlások gyakorlati megvalósításának kötelezettség szintjét az ajánlások széleskörű alkalmazásával fejeztük ki, amely a nemzetközi gyakorlatban egyre hangsúlyosabb tendenciát követi.

A fejlesztőcsoport vezetője a nemzetközi ajánlások hazai átvételének módjára vonatkozóan elkészített leírást a fejlesztőcsoport tagjainak megküldte, akik ajánlásokként elfogadják 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 tudágyógyászati ellátási tárgyú irányelvei áll kapcsolatban, a két szakterület közös ellátási felelősséggel rendelkezik. Jelen irányelv fejlesztőcsoportjában tudágyógyász is részt vett, így külön véleményezésre nem került sor. A két irányelvben a párhuzamos-ságok megszüntetése és a kapcsolódási pontok harmonizációs 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.agreerust.org/resource-centre/agree-ii/>) értékelési rendszert alkalmazták a módszertani szakértők, amely a szakmai irányelvek bizonyítékokon alapuló módszertanának megtekintésénél vizsgálgja. A módszertani szempontoknak való megfelelést alapvetően a fejlesztési folyamat leírásának pótlásával teljesíthető 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. Jelenlegi módon 2013. évtől történt a legújabb 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 irányelvfejlesztési módszertanának alkalmazása, illetve az elvart szerkezetben az egyértelmű ajánlások megfogalmazása volt.

A megújítás ugyanakkor nem módosította az irányelv hatókörét, ennek megfelelően a címet sem, azonban hangsúlyt helyeztünk arra, hogy a témakört érintő más irányelvekkel ne foglalkozzon 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 működési ideje – fenntartója – tulajdonosa:
A laboratórium vezetőjének neve, szakképzettsége:
A látogató(c) neve:
A látogatás időpontja:
Általános tudnivalók:
A helyszíni konzultáció a) az előzőekben kikötött minőség-ellenőrzési elvárások része. A látogatást a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium vezeti, illetve az általa megbízott mikobakteriológus végzi. Az újabb jegyzőkönyv kitöltendő az ellenőrzés alkalmával a laboratórium minőségszabályozási kézikönyvének (MK) és rögzített dokumentumok (tárgyi és személyi feladatlap, azonosítókinyomató), valamint a helyszíni szemlén tapasztaltak alapján, figyelembe véve a szakmai minimumfeltételekről szóló 60/2005. (X. 26.) ESzCsM rendeletben foglaltakat. Kérjük, hogy a látogatás előtt a jegyzőkönyvet töltse ki!
A laboratórium jellemzői:
Önálló mikrobiológiai laboratórium/észtápegként működő mikrobiológiai laboratórium
Ha részlegként működik, a részleg vezető neve, szakképzettsége
Milyen vizsgálatokat végez? (a megfelelő rész aláhúzendő vagy bejelölendő)
Zinn-Neelsen (ZN), fluorochrom kénét
berendezés:
Szárdó közeg: Löwenstein-Jensen (LJ), Ogawa, Sonobrink, más:
Folyékony közegben:
- automata: MGIT, BacT/ALERT
- manuális: MGIT, BioFM, MB Redox
Identifikálás: nacin, nitát
Reakcióséma:
- proporciós módszer
- folyékony automata BACTEC 460, BACTEC MGIT, BacT/Alert

Molekuláris biológiai vizsgálatok:	
Direkt nukleinsav amplifikációs módszerek: Amplifor, TMA, LCR, TMA	
Identifikációs technikák: Accuprobe, RFLP, inno-LiPA, DNS szekvenálás, HAIN	
Rezisztencia meghatározás: inno-LiPA-RII, HAIN	
A minőségbiztosítási kézikönyv elkészült-e?	Igen/nem
A minőségbiztosítási kézikönyvet legalább évente átnézik-e, aktualizálják-e, a változtatásokat minden érintett közzé teszi-e?	Igen/nem
Van-e kijelölt minőségbiztosítási felelős?	Igen/nem
A laboratórium akkreditálása megfontolt-e?	Igen/nem
Az akkreditáció folyamatban van?	Igen/nem
Vizsgálati anyagok megosztása az elmúlt évben	
a. Csak direkt nukleinsav vizsgálati minták száma:	
b. Törzsszámosítási vizsgálati minták száma: kópel, bronchoezópus, liquor, szövet, genny, pusztátum, széklet, egyéb, nemzeti anyag	
A laboratórium vezetése kidoigazított-e eljárás a minták vételére, gyűjtésére, tárolására és szállítására vonatkozóan?	Igen/nem
A belső, felhasználók részére hozzáférhető-e az?	Igen/nem
Honnan és hogyan szállítják a vizsgálati anyagot?	
Kidoigazított-e a minták átvételének rendjét?	Igen/nem
A minták szétválogatás, szorosan lezárva tartályokban érzékeny-e?	
Minimumstandardnak való megfelelés	
Az alapvető és a helyi előírások száma megfelel-e a minimumstandardnak (60/2005. (X. 26.) ESzCsM rendelet)	
- Anyagkezelés	
- Folyékony laboratórium	
- Türelmesítő	
- Mosogató	
- Iróda	
- Orvosi szoba	
- Öltöző, védőruha tárolására szolgáló helyiség	
- Elkészítő	
- Zuhanyzó, toalett	
A műszerezettség megfelelése a minimumstandardban előírtaknak: igen/nem	
Ha nem felel meg, milyen műszer hiányzik?	
Melyek azok a műszerek, amelyek elhasználatát, elavultak, cseréjük feladatai szükségesek?	
Számlitógépes program:	Igen/nem

ha igen, nevezze meg	
Vagyi elszivóval	igen/nem
Termosztát szoba:	igen/nem
Lamináris fülkék száma: gyártmányuk:	
Oszkifügők száma: gyártmányuk:	
Mikroszkópok száma:	
Autoklavok száma:	
Száraz sterilizáló:	igen/nem
Ahvasztók száma:	
Fertőző anyagok megsemmisítésének módja: autoklav ágtűs:	
Dokumentáció (műszemléltető, karbantartás stb. műszertanúgy alapján)	
Van-e használati utasítás mellékelve minden eszközhöz?	igen/nem
A termosztátok hőmérséklet elvannak-e látva?	igen/nem
A termosztátok hőmérőjele:	
A hőmérőek hőmérséklet elvannak-e látva?	igen/nem
A hőmérőek hőmérőjele:	
Dokumentálják-e a termosztátok és a hőmérőek hőmérőjeleit? ha igen, milyen gyakorisággal? Naponta, hetente, havonta?	igen/nem
A személyi kiegészítők minimumstandárjának való megfelelése (60/2003. (X. 26.) ESZCSV rendelet)	
Az előírásoknak megfelel-e?	igen/nem
Szakképzettség F5 (teljes munkaidő) F5 (részmunkaidő órában)	
Mikrobiológiai szaktudás	
Orvos	
Egyéb diplomás	
Szakasszisztens	
Asszisztens	
Egyéb	
Amennyiben nem felel meg, megmagyarázza:	
Rendelkezik-e a személyzet munkaköri elvárásai?	igen/nem
A személyzet minden tagjának van-e lehetősége az általa elvégzett szolgáltatás szükségleteinek megfelelő további képzésre?	igen/nem

Biztonsági előírásoknak való megfelelés:	
A laborban történő be- és kilépés csak szilipen keresztül történik-e, ahol köpenycsere és kézmosás lehetséges?	igen/nem
Biológiai biztonsági boxokban végzik-e az aeroszol lépeződéssel járó munkafolyamatokat?	igen/nem
A felületek résmentesek, vagyazereknek, "erődenitőszereknek" ellenállóak-e?	igen/nem
Védőruha, maszk használata?	igen/nem
A kontrollgázhoz (száraz (csavars) fedő) csöveket és olyan biztonsági kontrollgázhoz használják-e, melyeknek a szűrőn keresztül rendelkezik, hogy az aeroszolkezelés veszélye a minimumra csökkenthető?	igen/nem
A kontrollgázok egyenlően a tartályban történik-e, anélkül a szűrő szűrőitől?	igen/nem
A laborból előző évben lezárult statisztikai adatok alapján	
Vitákakok száma:	
M. Ibc complex izoláltakok száma és százaléka:	
M. Ibc esetek száma:	
Részletes vizsgálatok száma:	
Személyzet tesztelésének száma és százaléka:	
Alapos tesztelés száma:	
Alapos tesztelés száma:	

Ziehl-Neelsen-kennetek kontrollja:

Festés minősége:

Egyedi festés/kéreg festés:

Igen/nem

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

Igen/nem

A ZN-festési kenetek direkt a mikroszkóp készülnek?

Igen/nem

A mikroszkópos kenet a minta centrifugált üledékéből készül?

Igen/nem

A direkt mikroszkópos keneteket felhasználják-e a fertőzőképesség eredményi kiértékeléshez?

Igen/nem

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

Igen/nem

Felülvizsgálják-e, hogy ki készítette a kenetet?

Igen/nem

Ellenőrzik-e a vezető a pozitív mikroszkópos kenetek minőségét és a negatív kenetek 10%-át a lelektárolás előtt?

Igen/nem

Táptalaj- és tenyésztéskontroll:

Kész táptalajt használnak:

Igen/nem

Alkalmazott táptalajok: LJ, más:

Házi készítésű LJ sterilizáció, színe, állaga, szilárdsága, felületi nagysága, kondenzátum?

Megfűl?

Igen/nem

Vezető-e szigorúként az ellenőrző vizsgálatokat? H37RV kontroll:

Igen/nem

Az ellenőrző a rapid a vezető rendszeresen látta-e?

Igen/nem

LJ-táptalaj esetén egy anyagot hány csőre osztott?

LJ = folyékony táptalaj esetén egy anyagot hány csőre osztott?

A tenyésztések lezárása a lelektári számlákra hányadik, hány törtönként?

Plauzibilitási kontroll: Az elmúlt év összes olyan mintájából, amelyből 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 használnak a M. tuberculosis azonosításához? NaOH, Accuprobe, Hain?

Nacin vizsgálatot a laboratórium végzi-e?

Igen/nem

Nacin- és/vagy Accuprobe-próbához alkalmaz-e pozitív és negatív kontrollt?

Igen/nem

Az eredményeket jegyzőkönyvbe rögzítik-e?

Igen/nem

A nacin negatív törzseket továbbítja-e a referenciaboratóriumba?

Igen/nem

Rezisztenciavizsgálatok

Rezisztenciavizsgálatot a laboratórium végzi-e?

Igen/nem

Ha igen, bichazard-botszabán történik-e a vizsgálat?

Ha nem végzik ilyen vizsgálatot, az izolátumot elküldi-e a referenciaboratóriumba?

Rezisztenciavizsgálatok végzése esetén kárjuk a mellékelt etajszakkal lap kitöltését (t. sz. melléklet).

Milyen módszerrel végzi a vizsgálatokat: proporciós, abszolút koncentráció, BACTEC 460, BACTEC MGIT, BacT/ALERT, más:

Milyen antituberkulotikumok identifikációs vizsgálat (SIRE, PZA, egyéb)?

MDR-izolátumok esetén másodrendű szerekre vizsgálat (OFL, Cyclo, PAS, Amikacin, Rifabutin, más)?

Készít-e a laboratórium statisztikai felmérést a betegnek név szerinti rezisztenciaeredményéről és a káros dőlésszóról?

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 kezelt rezisztenciavizsgálatokat?

Igen/nem

Ismeret vizsgálatokat hány havonta végzik?

Az MDR-izolátumok felmérése?

Igen/nem

Külső minőségbiztosítás

Rózt vesz-e a laboratórium évente legalább egyszer körvizsgálatban, (Qualicon)?

Igen/nem

A körvizsgálat kiterjed-e a direkt kenetek, a tenyésztés, azonosítás és a rezisztencia kontrolljára?

Igen/nem

Rózt vesz-e a laboratórium a „referenciaboratórium” által küldött törzsek rezisztenciájának kontrollvizsgálataiban?

Igen/nem

A múltból származó rezisztencia törzsekkel felkölts-e a „referenciaboratórium” utánvizsgálata?

Igen/nem

Lelektár

A mikroszkópos eredmények lelektárolása a beküldéstől számítva

24-48 órában beküldött minta?	igen/nem
Tenyészési időfeladás gyakorisága: hetente, naponta?	
Radiációs eredményt a minta beküldéséhez viszonyítva átlagosan hány nap múlva ad ki?	
Előzetes eredményt (cord) küld-e a laboratórium?	igen/nem
A diplomán írta alá a leletet?	igen/nem

3.2. Egységes vizsgálókérdő lap mycobacteriologiai vizsgálatokhoz

MYCOBACTERIOLOGIAI VIZSGÁLKÉRDŐ LAP	
Beküldő munkahely neve:	
címe:	
száma:	
Haplészám/örzsőszám:	
Térítési kategória:	járóbeteg ☐ fekvőbeteg ☐ fizető ☐ egyéni ☐
Beteg TAJ száma:	
Beteg neve:	
Anyja neve:	
Levelezési cím:	
Nem:	férfi ☐ nő ☐
Születési hely, időpont:	
Nemzetiség:	magyar ☐ egyéb:
Mintavételi időpontja:	
Minta:	köpet ☐ hirtelenhalál ☐ pleura ☐ gyomortartalom ☐ vizelet ☐ széklet ☐ egyéb ☐
Orvos neve:	
procedúra:	procedúra
moderátor:	
E-mail cím:	
Vizsgálat célja: diagnózis megállapítása ☐	kezelés eredményességének megállapítása ☐
BNO kód:	
Diagnózis:	
Vizsgálótechnika:	PCR ☐ mikroszkópia ☐ tenyésztés ☐ Quantiferon ☐ molekuláris biológia ☐ hagyományos vizsgálat ☐
Korábban kezelte-e tb-csatt?	nem ☐ igen ☐
Biológiai kórtólkapcsolat	nem ☐ igen ☐
Egyéb megjegyzés:	

A köpet mintavételének szabályai:

1. Törökújnyá a reggel, a későbbi utáni köpi begyűjtéséről A beteg ne jgyen, és ne is oltogtásán a mltábol: elől kápoláztól.
2. A tőbbször erőteljes elhúzávétel után, minél előkiből: vádlek a legkisekisebb nyirokcsomók: toronyzástól.
3. Az oltásnál oltóban 5-10 ml tőbbször köpvel a tőb-úszványt rendszerrel minávoa nyirokcsomók: kltt.
4. A csevek megfelelő cmezése és a klttőlő pontos klttése után a mltá a laboratóriumba klttőbe.
5. A vésztőlő utny 1-2 ml ml szobahőmőseket, nagyból nyklt mltósból 24-72 órá 2-8 °C-on bűbőn tartás.

Amennyiben a mintavételől a feldolgozásig letehető idő a 72 órát meghaladja, a minta vizsgálatra alkalmatlan.

Egészségügyi szakmai irányelv a tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról: 000773 és az Egészségügyi szakmai irányelv a tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról: 000773 és az Egészségügyi szakmai irányelv a tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról: 000773 és az

Ritkább mintafélesetek vételeivel és beküldésével kapcsolatban vagy egyéb kérdés esetén érdeklődni lehet a telefonszámon

1.3. Tablázat

A létesítmény	Általánosított módszer	Diagnosztikai technológia	Gyártó/tervezésműhely	Jelentés az alkalmazásban
„Jászai” Tűzoltó Jászai Tűzoltó	Általánosított módszer Jászai Tűzoltó	Diagnosztikai technológia Jászai Tűzoltó	Gyártó/tervezésműhely Jászai Tűzoltó	Jelentés az alkalmazásban Jászai Tűzoltó

[illegible]

