

Belügyminisztérium – Egészségügyi Államtitkárság
EGÉSZSÉGÜGYI SZAKMAI KOLLÉGIUM

Egészségügyi szakmai irányelv
A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról

Típusa:	Klinikai egészségügyi szakmai irányelv
Azonosító:	002205
Megjelenés dátuma:	2024. május 3.
Érvényesség időtartama:	megjelenést követő 3 év
Kiadja:	Belügyminisztérium
Megjelenés helye	
Nyomtatott verzió:	Egészségügyi Közlöny
Elektronikus elérhetőség:	https://kollegium.aek.hu

TARTALOMJEGYZÉK

I. IRÁNYELVFEJLESZTÉSBEN RÉSZTVEVŐK	3
II. ELŐSZÓ	3
III. HATÓKÖR	3
IV. MEGHATÁROZÁSOK	4
1. Fogalmak	4
2. Rövidítések	4
3. Bizonyítékok szintje	7
4. Ajánlások rangsorolása	8
V. BEVEZETÉS	8
1. A témakör hazai helyzete, a témaválasztás indoklása	8
2. Felhasználói célcsoport	9
3. Kapcsolat a hivatalos hazai és külföldi szakmai irányelvekkel	10
VI. AJÁNLÁSOK SZAKMAI RÉSZLETEZÉSE	11
VII. JAVASLATOK AZ AJÁNLÁSOK ALKALMAZÁSÁHOZ	34
1. Az alkalmazás feltételei a hazai gyakorlatban	34
2. Alkalmazást segítő dokumentumok listája	35
3. A gyakorlati alkalmazás mutatói, audit kritériumok	36
VIII. IRÁNYELV FELÜLVIZSGÁLATÁNAK TERVE	37
IX. IRODALOM	37
X. FEJLESZTÉS MÓDSZERE	41
1. Fejlesztőcsoport megalakulása, a fejlesztési folyamat és a feladatok dokumentálásának módja	41
2. Irodalomkeresés, szelekció	41
3. Felhasznált bizonyítékok erősségének, hiányosságainak leírása (kritikus értékelés, „bizonyíték vagy ajánlás mátrix”), bizonyítékok szintjének meghatározási módja	41
4. Ajánlások kialakításának módszere	41
5. Véleményezés módszere	41
6. Független szakértői véleményezés módszere	42
XI. MELLÉKLET	42
1. Alkalmazást segítő dokumentumok	42

I. IRÁNYELVFEJLESZTÉSBEN RÉSZTVEVŐK

Társszerző Egészségügyi Szakmai Kollégiumi Tagozat(ok):

1. Klinikai és járványügyi mikrobiológia Tagozat

Prof. Dr. Kónya József, egyetemi tanár, PhD, DSc, orvosi mikrobiológia, molekuláris genetikai diagnosztika, klinikai laboratóriumi vizsgálatok szakorvosa, elnök, társszerző

Fejlesztő munkacsoport tagjai:

Dr. Lőrinczi Lilla Katalin, PhD, orvosi mikrobiológia szakorvosa, társszerző

Véleményező Egészségügyi Szakmai Kollégiumi Tagozat(ok):

1. Tüdőgyógyászat Tagozat

Dr. Bogos Krisztina PhD, belgyógyászat, tüdőgyógyászat, klinikai onkológia szakorvosa, elnök, véleményező

2. Infektológia Tagozat

Dr. Szilávik János, belgyógyászat, fertőző betegségek, trópusi betegségek szakorvosa, elnök, véleményező

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

„Az egészségügyi szakmai irányelvben foglaltakkal a fent felsorolt tagozatok dokumentáltan egyetértenek.”

Az irányelvfejlesztés egyéb szereplői

Betegszervezet(ek) tanácskozási joggal:

Nem kerültek bevonásra.

Egyéb szervezet(ek) tanácskozási joggal:

Nem kerültek bevonásra.

Szakmai társaság(ok) tanácskozási joggal:

Nem kerültek bevonásra.

Független szakértő(k):

Nem kerültek bevonásra.

II. ELŐSZÓ

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

III. HATÓKÖR

Egészségügyi kérdéskör:

Mycobacteriumok okozta fertőzések

Ellátási folyamat szakasza(i):

Mycobacteriumok okozta fertőzések mikrobiológiai laboratóriumi diagnosztikájának döntési folyamata a minta mikrobiológiai laboratóriumba történő beérkezésétől a lelet kiadásáig, illetve a klinikum által esetlegesen kért konzílium adásáig.

Az egészségügyi szakmai irányelv nem fogalmaz meg ajánlásokat speciális betegségek mellett fellépő tuberkulózis eseteire.

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

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

Érintett ellátottak köre:

Életkortól és nemtől függetlenül az alábbi betegcsoportba tartozóktól érkező minták:

Mycobacterium fertőzés és megbetegedés gyanúja; tuberkulózis betegségben szenvedők; tuberkulózis betegségre veszélyeztetettek.

Érintett ellátók köre

Szakterület:

5003: mikrobiológiai laboratóriumi diagnosztika

5013: járványügyi mikrobiológiai diagnosztika

Ellátási forma:

D1: diagnosztika, diagnosztika

E3: egyéb szolgáltatás, önálló „megelőző egészségügyi ellátások”

Progresszivitási szint: M1 (mikrobiológiai laboratórium mikroszkópos vizsgálatokat végez és a tuberkulózis diagnosztikában használt zárt rendszerű (mintából közvetlen eredményt szolgáló), alacsony komplexitású molekuláris eljárásokat végezhet), M2 és M3 (önálló vagy mikrobiológiai laboratórium részlegként működő mycobacteriológiai laboratóriumok, amelyek a mikroszkópos vizsgálatokon kívül hagyományos (mikroszkópos vizsgálaton és tenyésztésen alapuló) és nukleinsav alapú molekuláris diagnosztikát is végeznek)

Egyéb specifikáció: Nincs.

IV. MEGHATÁROZÁSOK

1. Fogalmak

Antituberkulotikumokkal szembeni rezisztencia: a tuberkulózis kezelésére használt antibiotikumokkal szembeni rezisztencia.

Bakteriológiai igazoltság: a WHO meghatározás szerint molekuláris módszerrel és/vagy tenyésztéssel bizonyított *Mycobacterium tuberculosis complex* fertőzés, a „saválló pozitív” mikroszkópos eredmény nem felel meg ennek a kritériumnak.

Dekontamináció: a nem steril testtájékról származó vizsgálati minta előkezelése abból a célból, hogy a kísérő flóra minél kevésbé zavarja a célorganizmus izolálását.

Direkt nukleinsav-amplifikációs módszerek (DNAM): nukleinsav-kimutatáson alapuló olyan módszerek, amelyek a tuberkulózis diagnosztika során közvetlenül a vizsgálati anyagból képesek a mycobacteriumok kimutatására és bizonyos rezisztenciáéknak kimutatására.

Indító mycobacteriológiai vizsgálat(ok): újonnan felismerésre kerülő tuberkulózis vagy annak gyanúja esetén a fertőzés lokalizációjának megfelelő klinikai mintá(k)ból első alkalommal, bakteriológiai igazolás céljából végzendő alapvizsgálat(ok) a mikrobiológiai algoritmusban.

Klinikai breakpoint: Adott szernek az a koncentrációja, amely mellett a legjobban meg lehet különböztetni, hogy a vizsgált izolátummal szemben az adott szer klinikailag hatékony lesz-e vagy sem. A mycobacteriumok kezelésére használt legtöbb szerrel még nem állapítottak meg klinikai breakpoint koncentrációkat.

Követéses mycobacteriológiai vizsgálatok: Kezelés vagy gondozás során a fertőzés követésére, ellenőrzésére végzett mikrobiológiai vizsgálatok.

Kritikus koncentráció (CC): az a legkisebb antituberkulotikum koncentráció, amely az érzékeny MTBC törzs populáció legalább 99%-ának növekedését gátolja (PZA esetén 90%).

Multi Drug Resistant *Mycobacterium tuberculosis* (MDR *Mycobacterium tuberculosis*): INH és RIF antibiotikumokkal szemben rezisztens mycobacteriumok.

Mycobacteriosis: nem tuberkulotikus mycobacteriumok (NTM) által létrehozott fertőzés.

***Mycobacterium tuberculosis complex*:** A mycobacteriumok genetikailag hasonló speciességei (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. bovis spp. bovis*, *M. bovis BCG*, *M. caprae*, *M. canetti*, *M. pinnipedii*), amelyek emberben tuberkulózist okoznak.

Non-Tuberculous Mycobacterium (NTM): nem tuberkulózist okozó mycobacteriumok.

Nukleinsav-kimutatáson alapuló módszerek: amelyek a tuberkulózis kórokozójának kimutatására, a törzsek azonosítására, az antimikrobás szerekekkel szembeni rezisztenciáért felelős gének kimutatására és az izolált törzsek tipizálására használhatók.

Pre-XDR TB: *Mycobacterium tuberculosis* törzsek által okozott TB, amely MDR/RR-TB definíciójának megfelelő és ezen kívül bármely FQ-val szemben is rezisztens.

Ráépített mycobacteriológiai vizsgálatok: a mikrobiológiai algoritmus korábbi lépésében keletkezett eredményektől függően végzendő vizsgálatok.

Tuberkulózis: *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) által okozott fertőzés.

XDR TB: *M. tuberculosis* törzsek által okozott TB, amely MDR/RR-TB definíciójának megfelelő és ezen kívül bármely FQ-val és legalább egy további A csoportú gyógyszerrel (pl. BDQ vagy LZD) szemben rezisztens.

2. Rövidítések

AB: antibiotikum

AMK: amikacin

AMST: anti-mycobacterial drug susceptibility testing mycobacterium ellenes szerekekkel szembeni érzékenységi vizsgálat

ATS: American Thoracic Society

BAL: broncho alveolaris lavage

BDQ: bedaquilin

BK: Koch-féle bacillus

BPAL séma: BDQ, Pa, LZD

BPALM séma: BDQ, Pa, LZD, MOX

BTS: British Thoracic Society

CAP: capreomicin

CC: Critical Concentration - Kritikus koncentráció

CF: cisztás fibrózis

CFU: Colony Forming Unit – telepképző egység

CIP: ciprofloxacín

CFZ: clofazimin

COVID: Coronavirus Disease

CT: computer tomografia

DLM: delamanid

DNAM: Direkt nukleinsav amplifikációs módszer

DNS: dezoxiribonukleinsav

DOX: doxycyclin

DST: Drug Sensitivity Testing

ECDC: European Center of Disease Control - Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ

ECOFF: Epidemiological cut-off value - epidemiológiai értékhatár

EMB: ethambutol

EPTB: extrapulmonalis tuberkulózis

ERLTB-Net: European Reference Laboratory Network for Tuberculosis

ETH: ethionamid

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FL: First Line – első vonalbeli antituberkulotikumokEpidemiológiai értékhatár
FL-LPA: First Line LPA
FQ: fluorokinolon
FOX: cefoxitin
gDST: genotípusos rezisztencia meghatározás
HIV-fertőzés: Humán Immunodeficiencia Vírus okozta fertőzés
HPF: High Power Field
HR TB: INH Resistant TB Isoniazid rezisztens tuberkulózis
IGRA: Interferon Gamma Release Assay
IMI: imipenem
INH: isoniazid
INH-R (HR): INH resistant – INH rezisztens
IV: intravénás
IVD: in vitro diagnosztikai eszköz
KAN: kanamicin
LED: Light Emitting Diode
LF- LAM: Lateral Flow- Lipid Arabino-Mannan-vizelet lipo-arabino mannán kimutatás immunkromatográfias módszerrel
LJ: Löwenstein Jensen
LoD: Limit of Detection
LPA: Line Probe Assay – nukleinsav ampifikáción és reverz hibridizáción alapuló módszer
LZD: linezolid
MA: makrolid
MAC: *Mycobacterium avium – intracellulare* complex
MALDI-TOF: Matrix Assisted Laser Desorption/ionisation – time of flight
MDR: Multi Drug Resistant – multi drog rezisztens
ME: Minőség ellenőrzés
MGIT: Mycobacteria Growth Indicator Tube
MIC: Minimal Inhibitory Concentration – minimális gátló koncentráció
MINO: minocyclin
MOX: moxifloxacin
MTB: *Mycobacterium tuberculosis*
MTBC: *Mycobacterium tuberculosis complex*
MTBDR: Mycobacterium tuberculosis Drug Resistance
MUT: mutáció
NAAT: Nukleinsav amplifikációs teszt
NGS: Next Generation Sequencing
NMRL: Nemzeti Mycobacteriológiai Referencia Laboratórium
NRL: National Reference Laboratory – Nemzeti Referencia Laboratórium
NTM: nem tuberkulózist okozó mycobacteriumok
NTM-PD: NTM pulmonary disease
OKPI: Országos Korányi Pulmonológiai Intézet
PCR: Polimeráz láncreakció
pDST: fenotípusos rezisztencia meghatározás
Pre-XDR: MDR/RR-TB definíciójának megfelelő és ezen kívül bármely FQ-al szemben is rezisztens
PT: Proficiency Testing
PZA: pirazinamid
RGM: Rapid Growing Mycobacteria
RIF: rifampicin
RIF-R (RR): RIF resistant – RIF rezisztens
SGM: Slow Growing Mycobacteria
SIRE: STR, INH, RIF, EMB rezisztencia meghatározásra használt kit MGIT rendszerben

SLID: Second Line Injectable Drugs – második vonalbeli antituberkulotikumok

SL-LPA: Second Line LPA

SRL: Supra National Reference Laboratory

STR: streptomycin

SXT: trimethoprim szulfametoxazol

TB: tuberkulózis

TB- LAMP: Loop Mediated Isothermal Amplification

TIG: tigecyclin

tNGS: target Next Generation Sequencing

WGS: Whole Genome Sequencing - teljes genom szekvenálás

WHO: World Health Organisation - Egészségügyi Világszervezet

WRD: WHO recommended Rapid Diagnostic test

WT: Wild Type vad típus

XDR: Extensively Drug Resistant Mycobacterium

ZN: Ziehl-Neelsen

3. Bizonyítékok szintje

A bizonyítékok megbízhatóságának GRADE beosztása [1] (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation)	
GRADE fokozat	Magyarázat
Magas szinten megbízható – erős bizonyíték	A bizonyítékok összessége a kérdésre választ adó, jó minőségű tanulmányokból származik, nem valószínű, hogy a jövőben végzett kutatás megváltoztatja.
Mérsékeltlen erős – elfogadható bizonyíték	A kérdésre választ adó tanulmányok eredményei, következtetései valószínűleg jó becslést adnak a valós helyzetre, de akár el is térhetnek a valóságtól, jövőben folyó kutatások alapján akár változhatnak is a következtetések vagy azok orvosi jelentősége.
Alacsony szinten megbízható – gyenge bizonyíték	A kérdésre született válaszok a szakterületen, de a következtetések a valóságtól eltérhetnek, a jövőben folyó kutatások akár következtetéseket, akár azok orvosi jelentőségét megváltoztathatják.
Nagyon alacsony szinten – alig – megbízható bizonyíték	A jövőben folyó kutatások valószínűleg módosítani a fogják a jelenleg ismeretes következtetéseket vagy azok orvosi jelentőségét.

A GRADE rendszer a rendelkezésre álló célzott tanulmány/megfigyelés módszeréből adódó megbízhatóságon túl bizonyítékot erősítő tényezőként figyelembe veszi, ha nagy léptékű hatásra utal a bizonyíték, ha eredményt/következtést lényegesen befolyásoló (confounding) tényezőt figyelembe vettek és ha dózis-hatás jelenség figyelhető meg. Viszont bizonyítékot gyengítő tényezőként veszi figyelembe, ha a fellelhető eredmények inkonzisztensek, valamint gyenge voltak vagy negatív eredmény miatt feltehetően több, a kérdésre irányuló megfigyelés sem került közlésre (publication bias), vagy a bizonyíték célpopulációja eltér a megfigyelésétől (indirectness). [1]

4. Ajánlások rangsorolása [1]

Ajánlások	
A	Az ajánlást erősen megbízható bizonyítékok támasztják alá (Számos olyan hiteles vizsgálaton alapul, amelyek klinikailag relevánsak, nem ellentmondóak és hasonló hatást mutatnak, saját populációra, hazai környezetre alkalmazhatók. Várhatóan újabb kutatás nem módosítja.)
B	Az ajánlást elfogadhatóan megbízható bizonyítékok támasztják alá (Hiteles vizsgálatokon alapul, azonban a vizsgálatok nagyságát, relevanciáját, az eredmények egybehangzóságát és/vagy saját populációra, hazai környezetre alkalmazhatóságát illetően bizonytalanság merül fel, de várhatóan újabb kutatás nem módosítja.)
C	Az ajánlást egységesen elfogadott nemzetközi szakértői vélemények támasztják alá <ul style="list-style-type: none">- (Legalább elfogadhatóan megbízható tudományos bizonyíték hiányában kiemelkedő nemzetközi szakértők konszenzusán alapul, amely a saját populációra, hazai környezetre alkalmazható, de kutatási eredmény módosíthatja.)- vagy magasabb szintű ajánlás extrapolációjával került megfogalmazásra
D	Az ajánlást hazai szakértői vélemények támasztják alá <ul style="list-style-type: none">- (Legalább elfogadhatóan megbízható tudományos bizonyíték vagy nemzetközi konszenzus hiányában, vagy ha ezek saját populációra, hazai környezetre nem alkalmazhatók, a hazai „legjobb gyakorlat” meghatározása az irányelvfejlesztő csoport tagjainak tapasztalatán vagy konzultációval szerzett szakmai visszajelzéseken alapul. Kutatási eredmény módosíthatja.)- vagy magasabb szintű ajánlás extrapolációjával került megfogalmazásra

A jobb rangsorolás azt valószínűsíti, hogy az ajánlás tartós, időálló lesz. A rangsorolás nem feltétlenül határozza meg az ajánlás erősségét, gyengébb bizonyítékokon alapuló ajánlás betartása is fontos lehet a szakma jelenlegi állása alapján. Az ajánlás erőssége (pl. szükséges, célszerű, alkalmazható) minden egyes ajánlás megfogalmazásában megjelenik.

V. BEVEZETÉS

1. A témakör hazai helyzete, a témaválasztás indoklása

Tuberkulózis

A 2022-es évben Magyarországon a tuberkulózis incidenciája addigi csökkenő trendje változott és jelentős esetszám növekedés következett be, valamint kiugró számban és arányban diagnosztizáltak MDR eseteket. A surveillance adatok alapján a tuberkulózis incidenciája emelkedő tendenciája 2023-ban is folytatódik [2, 3, 4, 5].

A tuberkulózis bakteriológiai igazoltságának kritériumai változtak, már nemcsak a pozitív tenyésztési eredmény fogadható el, hanem a WHO által javasolt direkt molekuláris biológiai vizsgálatok pozitív eredménye is alátámasztja a tuberkulózis diagnózisát [6, 7, 8, 9]. A bakteriológiai igazoltság aránya emelkedett az elmúlt években 2023-ra vonatkozóan 67,9%, ami közelíti a 75%-os célértéket. Ezen az arányon lehet javítani, amennyiben a tuberkulózis gyanú felmerülésekor a fertőzés lokalizációjának megfelelően direkt mintát küldenek a laboratóriumba, illetve az érzékeny molekuláris diagnosztikai eljárások alkalmazásának gyakoriságát növelve. Gyakorlatilag minden esetben, amikor felmerül a tuberkulózis gyanúja, ajánlott a PCR vizsgálat elvégzése a mintából [6].

A WHO adatai szerint világviszonylatban 2021-ben a bakteriológiai igazoltság 63% volt [10]. Figyelembe kell venni, hogy HIV-fertőzötteknél és gyermekeknél a fertőzés stádiumától és súlyosságától függően változó illetve alacsony lehet a csíraszám, ez a kimutathatóság valószínűségét csökkenti [3]. Magyarországon 2023-ban a bakteriológiai igazoltság 60%-os.

Minden bakteriológiailag igazolt esetben kötelező az érzékenységi vizsgálat [9]. A RIF rezisztencia esetén meg kell határozni az FQ rezisztenciát. Pre-XDR törzs azonosítása esetén az LZD és BDQ rezisztencia vizsgálata ajánlott [9]. Ez az OKPI NMRL-ban maradéktalanul betartásra kerül.

A WHO adatai szerint 2021-ben világszerte a TB gyanús esetek 38%-ánál végeztek WHO által javasolt gyors molekuláris diagnosztikai tesztet (WRD). 2025-re mindenkinél el kell végezni a WRD-t, akinél a TB gyanú felmerül, nemcsak a kockázati csoportoknál [10].

Magyarországon az összes beküldött mintából végzett PCR vizsgálatok aránya: 2022-ben 13% (0-100% az egyes mycobacteriológiai laboratóriumokban), OKPI: 2022: 22%, 2023: 40%, tuberkulózis diagnózissal bejelentett pácienseknél a PCR arány: 48% [2].

WRD pozitivitási arány világviszonylatban: 17%, Európa: 18 %, OKPI: 12%. Az alacsony pozitivitási arány háttérében az esetfelderítés pontatlansága állhat [6, 10].

Az utóbbi években a mikobakteriológiai diagnosztika szerepe jelentősen felértéklődött.

A 2020-2021-es években zajló COVID járvány idején a Mycobacteriológiai laboratóriumokba beérkező vizsgálati minták száma csökkent az előző évekhez képest, 2022 óta azonban ismét mintaszám emelkedés tapasztalható [2].

NTM fertőzések

A hazai surveillance adatok alapján emelkedett az NTM fertőzések száma is, ez összhangban van a nemzetközi adatokkal. Ennek okaként szerepelhet, hogy az NTM fertőzésekre hajlamosító tényezők illetve alapbetegségek gyakoribbá váltak (immunhiányos állapotok, biológiai terápia, transzplantált betegek, cystás fibrosis), másrészt pedig érzékenyebb és pontosabb diagnosztikai eljárások váltak elérhetővé [2].

Az NTM fertőzések diagnózisa klinikai, radiológiai és mikrobiológiai kritériumokon alapul. Tekintettel arra, hogy az NTM fajok környezetben is előfordulnak, ismételt tenyésztéses vizsgálatok szükségesek annak eldöntésére, hogy kontamináció, kolonizáció vagy fertőzés áll fenn [11].

Az egészségügyi szakmai irányelv előző kiadásában nem szerepeltek ajánlások az NTM fertőzések mycobacteriológiai diagnosztikájára vonatkozóan.

A mikobakteriológiai laboratóriumi hálózatban a tuberkulózis és atípusos Mycobacteriumok által okozott fertőzések laboratóriumi kórjelzése során a minták több mint felét a Nemzeti Mycobacteriológiai Referencia Laboratórium (NMRL) dolgozza fel [2]. (leírás, kompetenciák a XI. MELLÉKLET a „*A mycobacteriológiai laboratóriumok feladatai és felelősségei*” 10. számú táblázatban található). Felhasználói célcsoport

Klinikai és járványügyi mikrobiológiai laboratóriumok mycobacteriológiai részlegei.

Önálló mycobacteriológiai laboratóriumok.

A Nemzeti Mycobacteriológiai Referencia Laboratórium.

Az egészségügyi szakmai irányelv célja az egységes hazai mycobacteriológiai (tuberkulózis és NTM fertőzések) diagnosztikai gyakorlat kialakítása, figyelembe véve a témában meghatározó jelentőségű nemzetközi (WHO, ECDC, ERLTB-Net, STOP-TB) szervezetek ajánlásait és az érvényben lévő hazai rendelkezéseket.

A jelenlegi egészségügyi szakmai irányelv ajánlásainak alkalmazásával elérhető eredmények:

- A bakteriológiai igazoltság arányának növelése (WHO ajánlott érték: 75%)
- Mikrobiológiai eredmény biztosítása a minél előbbi célzott terápia megindításához, a WHO által javasolt molekuláris gyorsdiagnosztikai eljárások alkalmazása, a mintából végzett PCR vizsgálat *M. tuberculosis* DNS és RIF és INH rezisztenciára utaló mutációk kimutatására, majd SLID szerekkel szembeni rezisztenciára utaló mutációk jelenlétének vizsgálata.
- A multirezisztens Mycobacterium törzsek terjedésének megakadályozása (surveillance-adatokkal mérhető).
- Epidemiológiai adatok nyerése a multirezisztens (MDR és XDR) Mycobacterium törzsek terjedésével kapcsolatban (surveillance-adatokkal mérhető).
- NTM fertőzések pontos mikrobiológiai diagnosztikája.

2. Kapcsolat a hivatalos hazai és külföldi szakmai irányelvekkel

Egészségügyi szakmai irányelv előzménye:

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

Azonosító:	000773
Cím:	EMMI. Egészségügyi Államtitkárság. Egészségügyi Szakmai Kollégium. Egészségügyi szakmai irányelv - A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájáról. érvényes 2018-2021 február
Nyomatott verzió:	Egészségügyi Közlöny, 2018. év, 4. szám
Elektronikus elérhetőség:	https://kollegium.aEEK.hu/Iranyelvek/Index

Kapcsolat külföldi szakmai irányelv(ek)kel:

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

Szerző(k)/Tudományos szervezet: Cím: Megjelenés adatai: Elérhetőség:	WHO Practical manual on tuberculosis laboratory strengthening 2022 update 2022. https://www.who.int/publications/i/item/9789240061507
Szerző(k)/Tudományos szervezet: Cím: Megjelenés adatai: Elérhetőség:	WHO Operational handbook on tuberculosis Module 3: Diagnosis 2021 update https://www.who.int/publications/i/item/9789240030589
Szerző(k)/Tudományos szervezet: Cím: Megjelenés adatai: Elérhetőség:	WHO Consolidated guidelines on tuberculosis Module 3: Diagnosis Rapid diagnostics for tuberculosis detection 2021 update https://www.who.int/publications/i/item/9789240029415
Szerző(k)/Tudományos szervezet: Cím: Megjelenés adatai: Elérhetőség:	WHO Implementing the End TB Strategy: The Essentials 2022 https://www.who.int/publications/i/item/9789240065093
Szerző(k)/Tudományos szervezet: Cím: Megjelenés adatai: Elérhetőség:	WHO WHO Standard Universal access to rapid tuberculosis diagnosis 2023 https://www.who.int/publications/i/item/9789240071315
Szerző(k)/Tudományos szervezet: Cím: Megjelenés adatai: Elérhetőség:	WHO WHO eTB Guidelines 2023 https://tbksp.org/en/recommendation/page-1
Szerző(k)/Tudományos szervezet: Cím: Megjelenés adatai: Elérhetőség:	ECDC ECDC Technical Report Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union Updated 2022 2023 https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/handbook-tuberculosis-laboratory-diagnostic-methods-european-union-updated-2023

Kapcsolat hazai egészségügyi szakmai irányelv(ek)kel:

Jelen irányelv az alábbi, a közzététel időpontjában megjelenés alatt álló hazai egészségügyi szakmai irányelvvel áll kapcsolatban.

Azonosító:	002206
Cím:	A tuberkulózis prevenciójáról, diagnosztikájáról, kezeléséről

VI. AJÁNLÁSOK SZAKMAI RÉSZLETEZÉSE

A mycobacteriologiai laboratóriumokban használt módszerek:

- direkt molekuláris módszer - PCR
 - a *Mycobacterium tuberculosis complex* DNS és rezisztenciagének kimutatására, közvetlenül a mintából
 - NTM DNS kimutatása
- Ziehl-Neelsen szerint festett kenet mikroszkópos vizsgálata, a saválló pálcák kimutatására
- tenyésztés folyékony (MGIT) és szilárd (Löwenstein-Jensen) táptalajon
 - azonosítás, rezisztencia meghatározása tenyésztésen alapuló, fenotípusos és molekuláris módszerekkel.

Ajánlás1

A tuberkulózis (TB) gyanú felmerülésekor a fertőzés lokalizációjának megfelelően kell mintát küldeni a laboratóriumba, a klinikai diagnózis bakteriológiai igazolása céljából. (A) [7, 12, 13, 14]

A tuberkulózis pozitív diagnózisa a kóroktanilag releváns kórokozó, a *Mycobacterium tuberculosis* („Koch-féle bacillus”, „BK”) mikrobiológiai igazolásával történik. Tehát, kórisme során, mind egy már ismert TB folyamat követése, mind egy de novo TB klinikai vagy epidemiológiai gyanúja esetén a mikrobiológiai vizsgálat kötelező. Bakteriológiai megerősítés hiányában nem adható ki szakmai és adminisztratív szempontból helytálló, végleges TB diagnózis. Mindazonáltal, sem egy elhúzódozó, sem egy negatív eredményű, sem egy eredménytelen mikrobiológiai eljárás nem zárja ki egy aktív TB folyamat létét. Egy pozitív mikrobiológiai eredmény megérkezéséig a TB gyanús eset ellátása – további vizsgálatok, ex juvantibus kezelés, közegészségügyi intézkedések, adminisztratív lépések – a páciens kezelőorvosára, mint az esetet menedzselő szakemberre tartozik. A mikrobiológiai diagnózis értékelésében, az eset megítélésében, a kórfejlődés követésében a klinikus orvos és a mikrobiológus orvos egymásra támaszkodnak, egymás számára kölcsönösen konziliáriusok.

Ajánlás2

Az aktív tuberkulózis bakteriológiai igazolására direkt diagnosztikai eljárásokat ajánlott alkalmazni, amelyek a fertőzés lokalizációjának megfelelő mintából mutatják ki a kórokozót vagy annak DNS-ét. (A) [7, 12, 13, 14]

A mikrobiológiai kórisme-folyamat a páciensből származó kórosnak tekintett vagy gyanított anyagok, váladékok felhasználásával történik, amelyeket fejlett laboratóriumi eljárásoknak vetnek alá. Ezek direkt (közvetlen) műveletek, amelyek magát a kórokozó mikroorganizmust, és annak tulajdonságait mérik és azonosítják. Az egyes mikrobiológiai-mycobacteriologiai laboratóriumok különböznek felszereltségük és személyzetük szakmai kompetenciájának viszonylatában, ezért eltérő szakmai besorolási szinteken vannak és különféle, jól rögzített és ismert standardok szerint dolgoznak. A mikrobiológiai vizsgálati folyamatok komplexitásától, mennyiségétől és egyéb sajátosságaitól függően a teljesítendő diagnosztikai feladatok is eloszlanak az egyes laboratóriumok között, ezért a kompetenciaszintet meghaladó vizsgálandó anyagokat (mintákat), eseteket az első sorban fogadó laboratórium magasabb szintre referálja.

Ajánlás3

Klinikai döntésnél figyelembe kell venni, hogy az IGRA vizsgálat nem megfelelő az aktív tuberkulózis (TB) diagnózis felállításához, mivel nem tesz különbséget az aktív és a látens fertőzés között. (A) [7, 12, 13, 14]

Szem előtt tartandó, hogy a közvetett (indirekt) eljárások, amelyek a szervezet és a kórokozó kölcsönhatását követik (pl. IGRA), nem alkalmasak, és ezért nem használandók aktív TB folyamatok paraklinikai kórisméjére.

Ajánlás4

A mintavétel ellenőrzött módon kell történnjen, megfelelő, steril, jól záródó mintavételi tartályba, majd csomagolás, szállítás az érvényes szabályok betartásával. (B) [12, 13, 15, 16, 17]

A minták a páciensekből származó, a TB folyamat kórokozóját klinikai alapon gyaníthatóan tartalmazó anyagok. Annak érdekében, hogy minta gyanánt a laboratóriumba a mikrobiológiai kórisme szempontjából a legjobb minőségű, szükséges mennyiségű és megfelelő közegészségtani biztonságú anyag jusson, a mintavételnek ellenőrzött módon kell történnie, orvosi, adminisztratív, stb. szempontból egyaránt.

A potenciálisan MTBC-t tartalmazó mintákat a B kategóriájú fertőző ágensekre vonatkozó csomagolási és szállítási feltételeknek megfelelően kell a vizsgálatot végző laboratóriumba eljuttatni. Az előírások szerint hármascsomagolás (P650 előírásoknak megfelelően) szükséges, tárolás 2-8°C-n, szállítás hűtőládában, elkerülendő a minta túlmelegedését és vagy a fagypont alatti hőmérsékletre való lehülését.

Elsődleges mintavételi tartály steril, csavaros fedelű, szivárgásmentes 50 ml-es cső, szorosan bezárva, felcímkézve vagy feliratozva (nem a kupak) a beteg azonosító adataival (név, TAJ szám) mintavétel időpontjával. A másodlagos csomagolás szivárgásmentes műanyag doboz vagy simítózáras tasak, amelyben elegendő nedvszívó kendő van, arra az esetre, ha a tartály eltörne. Végül pedig a külső védő csomagolás, amelyen fel kell tüntetni, hogy „B” kategóriájú biológiai mintát tartalmaz. A külső csomagoláson kell szerepeljenek a laboratórium és a beküldő adatai. A csomaghoz társítva kell szállítani a megfelelő módon kitöltött vizsgálatkérő lapokat minden egyes mintára vonatkozóan, ezen kívül pedig egy szállítólevelet, amelyen minták azonosítója szerepel, amit átvételkor ellenőriznie és alá kell írnia a laboratóriumi dolgozónak, ezzel igazolva, hogy a szállítás megtörtént és a minta beérkezett a laboratóriumba.

Két típusú vizsgálatkérő lap van forgalomban: minták illetve törzsek beküldésére (letölthető az OKPI honlapról, pdf formátum, elektronikusan kitölthető). A vizsgálatkérő lap NEM érintkezhet a mintavételi csővel, a mintát és a vizsgálatkérő lapot külön kell csomagolni, kötelező a csövek megfelelő, precíz feliratozása.

Ajánlás5

Tüdőtuberkulózis gyanúja esetén légúti minták (köpet, BAL) vizsgálata szükséges. Köpet esetén két mintából álló sorozat javasolt egy vizsgálatra. A mintákat egymást követően, 1 héten belül külön napokon kell venni. Extrapulmonális formák esetén a fertőzés lokalizációjának megfelelően kell történnjen a mintavétel. (A) [7, 12, 13, 14]

A mycobacteriologiai diagnosztikában korszerű és érzékeny módszerek állnak rendelkezésre, ezek hatékonysága nem a mintaszám növelésével, hanem az ellenőrzött módon vett, jó minőségű minta beküldésével biztosítható. Tüdőtuberkulózis gyanúja esetén mély légúti mintákat (köpet, BAL) kell mikrobiológiai vizsgálatra küldeni, 2 mintából álló sorozat javasolt. A minták minőségét célszerű beküldés előtt ellenőrizni, a nem megfelelő minőségű minták feldolgozásra nem alkalmasak: nyál, gyűjtött köpet, ezekből nem állítható fel pontos és megbízható mikrobiológiai diagnózis.

Ajánlás6

A laboratóriumba érkezéskor kötelező a minta azonosítása (milyen típusú a minta), ellenőrzés, hogy a tartályon és a vizsgálatkérő lapon egyeznek az adatok. A laboratóriumnak biztosítani kell a minta azonosíthatóságát (pl. belső sorszám alapján) és követhetőségét végig a feldolgozás során. A mintavételi tartályok kibontása csak biológiai biztonsági fülkében történhet. (A) [7, 12]

A minta vétele, tárolása, jelölése, csomagolása, megőrzése, szállítása, átadása, ellenőrzése, átvétele, folyamatba állítása, feldolgozása, mérése, követése, eredményének észlelése, értékelése, kiadása pontos szakmai, technikai és adminisztratív körülmények és feltételek között valósulnak meg, ellenkező esetben a megbízhatóság, a mikrobiológiai kórisme, a környezetbiztonság sérülhet.

A mikrobiológiai kórisme fázisainak dokumentálnak, követhetőnek és ellenőrizhetőnek kell lenniük, valós időben és visszamenőleg egyaránt, ezért minden részfolyamatának minőségbiztosítási és minőségellenőrzési rendszerekben kell működnie. A mintát tartalmazó recipiens átvételekor a laboratórium személyzete ellenőrzi a dokumentációt és a minta létét, állapotát, körülményeit. Az átadás - átvétel aláírások (informatizált nyilvántartó rendszer esetében elektronikus szignó) ellenében történik. Minden minta átvételét egy átvételi nyilvántartóban rögzítik a dátum szerint és beérkezési sorrendben, abból folyószámot kap, és ez a folyószám a mintát és annak minden osztását végigkíséri az összes munkameneten, eljáráson, a mikrobiológiai diagnózis kiadásáig. Megjegyzendő, hogy egy, laboratóriumi eljárás során használt készülék által kijelzett mérési eredmény nem

tekinthető sem leletnek, sem kórismének, és hasonlóképpen, egy leolvasásos, kiértékeléses (mikroszkópia, baktériumtenyészet) lelet sem azonos a mikrobiológiai diagnózissal. Mindezek az adatok, amelyek a feldolgozott mintával kapcsolatosan a laboratóriumi eljárások során halmozódnak fel, mikrobiológiai differenciáldiagnosztikai elemzés tárgyát képezik. A végleges mikrobiológiai diagnózisnak klinikailag értelmezhetőnek és hasznosíthatónak kell lennie, ezt az erre képezített és ezért erre jogosuló személy bocsátja ki („validálás”), az alkalmazott laboratóriumi eljárásokkal kapott mérési eredmények („results”), leletek („findings”), a klinikustól kapott információk egybevetésével és a saját szakmai kompetenciájának az alapján.

A kifejezett fertőzésveszély és a potenciálisan jelenlevő kórokozó ellenálló képessége és fertőzőképessége miatt a mintát tartalmazó recipiens felnyitása és a biológiai anyag kezelése csak biztonsági fülkében történhet, megfelelő védőöltözék használatával.

Ajánlás7

Tuberkulózis klinikai jeleit és tüneteit mutató személy indító mycobacteriológiai vizsgálatát a klinikai mintán közvetlenül alkalmazott, direkt nukleinsav amplifikációs módszerrel (DNAM) - közismert néven PCR módszerrel – ajánlott megalapozni. A mintautat úgy kell szervezni, hogy a DNAM vizsgálat lehetőleg az antituberkulotikus terápia indítása előtt megtörténjen. A WHO által általánosan ajánlott kereskedelmi forgalmú PCR tesztek egyes antituberculoitikumok tipikus rezisztencia mutációinak meglétét vagy hiányát is detektálják, amennyiben a vizsgált mintában ehhez elegendő mennyiségben van jelen MTBC baktérium. Egyéb CE-IVD minősítésű MTBC DNAM teszt is alkalmazható, amennyiben analitikai teljesítménye eléri bármelyik WHO által indító mycobacteriológiai vizsgálatra ajánlott PCR teszt analitikai teljesítményét (ideértve a rezisztencia mutációk kimutatását is). (A) [6, 7, 8, 9, 13, 14, 18-21]

Az alább felsorolt közvetlen evidenciák hiányában is, a fent említett kereskedelmi forgalmú tesztek a gyártói utasításban feltüntetett mintatípusok **indító mycobacteriológiai** vizsgálatára alkalmazhatók.

WHO által indító mycobacteriológiai vizsgálatra ajánlott kereskedelmi forgalmú DNAM tesztek:

- Xpert MTB/RIF, Xpert MTB/RIF Ultra
- TrueNat MTB, TrueNat MTB Plus, TrueNat MTB/RIF
- közepes komplexitású, automatizálható nukleinsavfeltáráshoz kapcsolódó DNAM tesztek
- Abbott RealTime MTB
- BD MAX™ MDR-TB
- Hain FluoroType® MTBDR
- Roche cobas® MTB

egyéb

- TB-LAMP (loop mediated isothermal amplification)
- LF-LAM (lateral flow, vizelet lipo-arabinomannán antigén detektálás)

Közvetlen evidenciákon alapuló ajánlások:

Ajánlás7.1.

Tüdő TB klinikai jeleit és tüneteit mutató felnőttek köpet mintájában Xpert MTB/RIF vizsgálatot indító mycobacteriológiai vizsgálat céljából ajánlott elvégezni. (A)

(erős ajánlás, a köpet minta esetén erős bizonyítékokkal, a teljes betegellátás folyamat egészségnyeresége szintjén elfogadható bizonyítékokkal)

Ajánlás7.2.

Tüdő TB klinikai jeleit és tüneteit mutató felnőttek köpet mintájában Xpert MTB/RIF Ultra vizsgálatot indító mycobacteriológiai vizsgálat céljából akkor is ajánlott elvégezni, ha régmúltban (>5 év korábban) TB kezelésben részesült, de az elmúlt 5 évben a jelenlegi tünetek kezdete előtti időszak anamnézisében nem azonosítható TB megbetegedés. (A)

(erős ajánlás, a köpet minta esetén erős bizonyítékokkal)

Ajánlás7.3.

Tüdő TB klinikai jeleit és tüneteit mutató gyermekektől származó köpet, gyomormosó folyadék, orrgarat aspirátum vagy széklet mintákban XPert MTB/RIF vizsgálatot indító mycobacteriológiai vizsgálat céljából ajánlott elvégezni. (B)

(erős ajánlás, köpet minta esetén elfogadható bizonyítékokkal, míg gyomormosó folyadék, orrgarat aspirátum vagy széklet esetén gyenge bizonyítékokkal)

Ajánlás7.4.

Tüdő TB klinikai jeleit és tüneteit mutató gyermekektől származó köpet vagy orrgarat aspirátum mintákban XPert MTB/RIF Ultra vizsgálatot indító mycobacteriológiai vizsgálat céljából ajánlott elvégezni. (B)

(erős ajánlás, köpet minta esetén gyenge bizonyítékokkal, míg orrgarat aspirátum esetén alig megbízható bizonyítékokkal)

Ajánlás7.5.

Tüdő TB klinikai jeleit és tüneteit mutató olyan felnőttek köpet mintájában, akiknél az elmúlt 5 év alatt fejeződött be a sikeres antituberkulotikus kezelés, XPert MTB/RIF Ultra vizsgálatot indító mycobacteriológiai vizsgálat céljából kezelőorvos mérlegelése alapján el lehet végezni. (C)

(feltételes ajánlás, a köpet minta esetén gyenge bizonyítékokkal)

Ajánlás7.6.

TB meningitis (*menigitis tuberculosa*) klinikai jeleit és tüneteit mutató gyermektől vagy felnőttől agygerincvelői folyadék (likvor) mintában XPert MTB/RIF vagy XPert MTB/RIF Ultra vizsgálatot indító mycobacteriológiai vizsgálat céljából ajánlott elvégezni. (B)

(erős ajánlás, gyenge bizonyítékokkal)

Ajánlás7.7.

TB meningitis (*menigitis tuberculosa*) vagy disszeminált TB klinikai jeleit és tüneteit mutató gyermekek vagy felnőttek vér mintájában XPert MTB/RIF vizsgálatot indító mycobacteriológiai vizsgálat céljából kezelőorvos mérlegelése alapján el lehet végezni. (C)

(feltételes ajánlás, alig megbízható bizonyítékokkal)

Ajánlás7.8.

Extrapulmonalis TB (EPTB) klinikai jeleit és tüneteit mutató felnőttektől vagy gyermekektől származó, a feltételezett infekció lokalizációjának megfelelő nyirokcsomó aspirátum vagy nyirokcsomó biopszia vagy pleurális folyadék, peritonealis folyadék, pericardialis folyadék vagy synovialis folyadék vagy vizelet mintában XPert MTB/RIF vizsgálatot indító mycobacteriológiai vizsgálat céljából kezelőorvos mérlegelése alapján el lehet végezni. (C)

(feltételes ajánlás, pleurális folyadék minta esetén elfogadható bizonyítékokkal, míg az egyéb felsorolt minták esetén gyenge bizonyítékokkal. XPert MTB/RIF Ultra alkalmazása esetén a nyirokcsomó aspirátum vagy nyirokcsomó biopszia mintákra van közvetlen bizonyítéka, mely szintén gyenge szintű)

Ajánlás7.9.

Extrapulmonalis TB (EPTB) klinikai jeleit és tüneteit mutató felnőttek vagy gyermekek megfelelő mintáján az XPert MTB/RIF vagy XPert MTB/RIF Ultra vizsgálat hatékonyabban detektálja a rifampicin rezisztenciát, mint az alacsony sikerességű tenyésztésen alapuló fenotípusos vizsgálat. (B)

(erős ajánlás, XPert MTB/RIF esetén erős bizonyítékokkal, XPert MTB/RIF Ultra esetén gyenge bizonyítékokkal)

Ajánlás7.10.

Tüdő TB klinikai jeleit és tüneteit mutató felnőttek és gyermekek köpet mintájában Truenat MTB vagy Truenat MTB Plus alkalmazható indító mycobacteriológiai vizsgálat céljára, pozitív eredmény esetén TrueNat MTB/RIF vizsgálattal kiegészítve. (B)

(feltételes ajánlás, elfogadható bizonyítékokkal)

Ajánlás7.11.

Tüdő TB klinikai jeleit és tüneteit mutató felnőttek és gyermekek légúti mintájában Abbott RealTime MTB vagy BD MAX™ MDR-TB vagy Hain FluoroType® MTBDR vagy Roche cobas® MTB alkalmazható indító mycobacteriológiai vizsgálat céljára. Ezen rendszerek előnye, hogy a rifampicin mellett további antituberkulotikum rezisztenciát is vizsgálnak. (C)

(feltételes ajánlás, elfogadható bizonyítékokkal)

Ajánlás7.12.

TB-LAMP módszer a mikroszkópos vizsgálatnál hatékonyabb, de rifampicin vagy egyéb rezisztenciát nem detektál és csak egyértelműen tüdő TB jeleit mutató felnőttek esetében alkalmazható és akkor is inkább követéses, mint indító mycobacteriológiai vizsgálatra. (D)

(feltételes ajánlás, alig megbízható bizonyítékokkal)

Ajánlás7.13.

HIV-pozitív személyek vizsgálata vizelet laterál-flow lipoarabinomannán (LF-LAM) módszerrel.

- hospitalizációt igénylő állapotban tüdő- és/vagy extrapulmonalis TB klinikai jeleit és tüneteit mutató vagy előrehaladott fertőzéstől szenvedő vagy súlyosan beteg vagy <200 CD4/mm³ T-sejt számmal rendelkező HIV-pozitív személyek esetében ajánlott. (B)

(erős ajánlás, elfogadható bizonyítékokkal)

Ajánlás7.14.

HIV-pozitív személyek vizsgálata vizelet laterál-flow lipoarabinomannán (LF-LAM) módszerrel.

- járóbeteg státuszban csak tüdő- és/vagy extrapulmonalis TB klinikai jeleit és tüneteit mutató, vagy súlyosan beteg vagy <100 CD4/mm³ T-sejt számmal rendelkező HIV-pozitív személyek esetében ajánlható. (C)

(feltételes ajánlás, gyenge bizonyítékokkal)

Indító mycobacteriológiai vizsgálatban DNAM teszt ismétlése

Ajánlás7.15.

Tüdő tuberkulózis klinikai jeleit és tüneteit mutató felnőtt indító mycobacteriológiai vizsgálatához 1 héten belül 2 különböző napon vett köpetminta szükséges. Az 1. köpetminta DNAM negativitása esetén a 2. mintából is szükséges DNAM típusú vizsgálatot végezni. (A)

(erős ajánlás, elfogadható bizonyítékokkal)

Ajánlás7.16.

Tüdő TB klinikai jeleit és tüneteit mutató gyermekektől származó köpet, gyomormosó folyadék, orrgarat aspirátum vagy széklet mintákban indító mycobacteriológiai DNAM vizsgálat negatív eredménye esetén a WHO javaslata alapján akkor javasolható másik mintából is DNAM típusú teszt elvégzése, ha az eset epidemiológiai és klinikai paraméterei alapján már az első tesztből is >5%-ra (pretest probability >5%) becsültünk volna pozitív eredményt. (D)

(feltételes ajánlás, köpet minta esetén gyenge bizonyítékokkal, míg gyomormosó folyadék, orrgarat aspirátum vagy széklet esetén alig megbízható bizonyítékokkal)

A WHO által ajánlott gyors molekuláris diagnosztikai eljárások (WRD) elengedhetetlenek a tuberkulózis (TB) kezdeti aluldiagnosztizáltságának megszüntetéséhez.

A WHO standardok célja

- javítani a gyors molekuláris diagnosztika elérhetőségét a TB gyanú esetén
- bakteriológiai igazoltság arányát növelni
- rezisztens TB-t igazolni
- a bakteriológiai kórisme felállításához szükséges időt lerövidíteni

A tuberkulózis gyors diagnózisát biztosító molekuláris vizsgálatok (WRD) általános elérhetősége több lépésben valósítható meg:

1. A tuberkulózis gyanús esetek azonosítása
 - a. a kockázati csoportokba tartozó személyek rendszeres szűrése
 - b. mellkasröntgen alkalmazása tuberkulózis szűrésre
2. A molekuláris vizsgálatok elérhetőségének javítása
 - a. naprakész diagnosztikai algoritmusok
 - b. eljárások elérhetőségének biztosítása az elsődleges egészségügyi ellátásban
 - c. minden esetben legyen elérhető a vizsgálat
 - d. tesztelési kapacitás az igényeknek megfelelően
3. Tesztelés
 - a. minden tuberkulózisra gyanús esetben végezzenek WRD molekuláris tesztet
 - b. érzékenységi vizsgálatok minden esetben
 - c. a vizsgálatok minőségének biztosítása és követése (hiba 5% alatt)
4. A kórisme felállítása
 - a. minden tüdőtuberkulózisos betegnek legyen molekuláris vizsgálati eredménye
 - b. követni a pozitivitási arányt
 - c. leletátfordulási idő
 - i. mintavételtől számítva 48 órán belül legalább az esetek 80%-ában (attól függően, hogy a laboratórium milyen távolságra van a mintavételi helytől)
 - ii. a laboratóriumba érkezést követően 24 órán belül

WRD nem foglalja magába a kenet vizsgálatát, mint kezdeti TB diagnosztikai eljárást, de a Ziehl-Neelsen szerint festett kenet mikroszkópos vizsgálatát használják a követésre, hogy a baktériumok ürülésének mértékét lehessen meghatározni.

Az Xpert MTB/RIF teszt egy teljesen automatizált, szemikvantitatív, real-time PCR módszer, amely a *Mycobacterium tuberculosis* komplexbe tartozó fajok és azok rpoB génjének direkt kimutatására szolgál. Az rpoB gén mutációja rifampicin rezisztenciára utalhat.

A FluoroType MTB és MTBDR közepes komplexitású, nukleinsav amplifikáción alapuló eljárások, és WHO ajánlással rendelkeznek a TB kezdeti diagnosztikájára. Közvetlenül a mintából történik az MTBC vagy MTBC és RIF valamint INH rezisztencia meghatározás. A WHO feltételes ajánlása szerint tüdő TB jeleivel és tüneteivel rendelkező pácienseknél lehet alkalmazni a közepes komplexitású NAAT eljárásokat a tüdő TB valamint a RIF és INH rezisztencia meghatározására, inkább, mint a tenyésztést és a fenotípusos rezisztencia meghatározást. Az eljárás nem váltja ki a hagyományos tenyésztést és rezisztencia vizsgálatot, viszont a kezdeti diagnózis során gyors eredményt ad. Az említett ajánlás több pácienscsoportra is vonatkozik. Használható felnőtteknél TB diagnosztikára, légúti mintákból, TB-re utaló tünetek megléte esetén, HIV-fertőzött egyéneknél, viszont a kenet negatív mintáknál figyelembe kell venni azt, hogy csak az MTBC kimutatásra használható, RIF és INH rezisztencia meghatározásra nem. Gyermekeknél szem előtt kell tartani, hogy az értékelhetetlen eredmények valószínűsége magasabb, mert a gyermekeknél kisebb mennyiségben ürül a kórokozó. Következésképpen megállapítható, hogy a FluoroType MTB és MTBDR megfelelő a TB diagnosztikára, megbízható eredményekkel, ha összehasonlítjuk a tenyésztéssel és a pDST eredményekkel. A detekciós küszöb a FluoroType MTB-re 15 CFU/ml, a FluoroType MTBDR-re pedig 20 CFU/ml.

A DNAM legfontosabb előnye, hogy 2 órán belül elvégezhető, ezért a kezelőorvos részéről elvárható, hogy az eredmények még a mintafeldolgozás napján, de legkésőbb 24 órán belül visszajelzésre kerüljenek.

MTBC PCR negatív, de mikroszkópos vizsgálattal pozitívnak bizonyuló mintából csak akkor javasolt a DNAM direkt CM (GenoType – LPA módszerrel) elvégzése, ha olyan betegről van szó, akinél NTM kóroktani szerepe vetődik fel (pl. HIV-fertőzött, transzplantált beteg, cysticus fibrosis).

Akár negatív, akár pozitív a mikroszkópos vizsgálat eredménye a DNAM – (PCR) vizsgálat elvégzendő, mivel érzékenysége és fajlagossága sokkal magasabb, mint a mikroszkópos vizsgálaté.

A direkt nukleinsav-amplifikációs vizsgálatra kerülő mintákból – függetlenül az eredménytől – a mikroszkópos és tenyésztéses vizsgálatokat is el kell végezni.

Ajánlás8

A mintautat úgy szükséges szervezni, hogy a TB bakteriológiai igazolása (pozitív NAAT vagy tenyésztési eredmény) után a rezisztencia viszonyok további tisztázására ajánlott molekuláris vizsgálatok (WRD) elvégzése megtörténhessen. A genotípusosan érzékenynek azonosított törzsek esetén a tenyésztésen alapuló fenotípusos rezisztencia vizsgálatot is el kell végezni. Abban az esetben, ha a rezisztencia csak valószínűsíthető, de nem igazolható (pl. nincs vad típusú gén jelen) szintén szükséges a tenyésztésen alapuló fenotípusos érzékenységi vizsgálat is. (C) [6, 7, 8, 9, 13, 14, 18-20]

WHO által ajánlott gyorsdiagnosztikai tesztek (WRD) –konfirmált TB diagnózis után

- LPA (FL, SL)
 - **GenoType MTBDRplus, Bruker/Hain Lifescience**
 - NTM+MDRTB Detection Kit, *NIPRO Corporation*
 - GenoType MTBDRsl (FQ és a SLID szembeni rezisztencia)
- alacsony komplexitású automatizált NAAT
 - az INH, az FQ-k, az ETH és az AMK rezisztencia kimutatására (az első ebben az osztályban: **Xpert MTB/XDR**)
- magas komplexitású reverz hibridizációs NAAT a PZA-rezisztencia kimutatására
 - Genoscholar PZA-TB II (*NIPRO Corporation*)

FL-LPA

Ajánlás8.1

Pozitív, köpetből saválló pálcát kimutató kenet-eredményt vagy MTBC pozitív tenyésztési eredményt követően, rifampicin- és isoniazid-rezisztencia indító diagnózisa végett – fenotípusos érzékenységi vizsgálat helyett – lehet kereskedelmi forgalomban levő, molekuláris LPA vizsgálatot végezni. (B)

(feltételes ajánlás, elfogadható bizonyítékokkal)

SL-LPA

Ajánlás8.2

Igazolt MDR/RR-TB esetében a fluorokinolon 2-rezisztencia indító diagnózisára – fenotípusos érzékenységi vizsgálat helyett – lehet használni SL-LPA eljárást. (B)

(feltételes ajánlás, elfogadható bizonyítékokkal)

Ajánlás8.3

Igazolt MDR/RR-TB esetében a SLID-rezisztencia indító diagnózisára – fenotípusos érzékenységi vizsgálat helyett – lehet használni SL-LPA eljárást. (B)

(feltételes ajánlás, elfogadható bizonyítékokkal)

ALACSONY KOMPLEXITÁSÚ AUTOMATIZÁLT NAAT (Xpert XDR)

Ajánlás8.4

Bakteriológiailag igazolt pulmonális TB esetében isoniazid és fluorokinolon rezisztencia indító diagnózisára – fenotípusos érzékenységi vizsgálat helyett – köpetmintára lehet használni alacsony komplexitású automata NAAT eljárást. (B)

(feltételes ajánlás, elfogadható bizonyítékokkal)

Ajánlás8.5

Bakteriológiailag igazolt rifampicin-rezisztens pulmonális TB esetében az ethionamid-rezisztencia indító diagnózisára – a DNS *inhA* promóter szekvenálási vizsgálata helyett – köpetmintára lehet használni alacsony komplexitású automata NAAT eljárást. (D)

(feltételes ajánlás, alig megbízható bizonyítékokkal)

Ajánlás8.6

Bakteriológiailag igazolt rifampicin-rezisztens pulmonális TB esetében az amikacin-rezisztencia indító diagnózisára – fenotípusos érzékenységi vizsgálat helyett – köpetmintára lehet használni alacsony komplexitású automata NAAT eljárást. (C)

(feltételes ajánlás, gyenge bizonyítékokkal)

Ajánlás8.7

Bakteriológiailag igazolt tüdő-TB-s személyeknél izoniazid és fluorokinolon rezisztencia indító kimutatására alacsony komplexitású automatizált NAAT vizsgálatokat lehet használni, köpetből, semmint tenyésztést és fenotípusos érzékenységi vizsgálatot. (B)
(feltételes ajánlás, elfogadható bizonyítékokkal)

Ajánlás8.8

Bakteriológiailag igazolt rifampicin-rezisztens tüdő-TB-s személyeknél etionamid rezisztencia indító kimutatására alacsony komplexitású automatizált NAAT vizsgálatokat lehet használni, köpetből, inkább, mint inhA promoter DNS szekvenálási vizsgálatot. (D)
(feltételes ajánlás, alig megbízható bizonyítékokkal)

Ajánlás8.9

Bakteriológiailag igazolt rifampicin-rezisztens tüdő-TB-s személyeknél amikacin rezisztencia indító kimutatására alacsony komplexitású automatizált NAAT vizsgálatokat lehet használni, köpetből, inkább, mint tenyésztést és fenotípusos érzékenységi vizsgálatot. (C)
(feltételes ajánlás, gyenge bizonyítékokkal)

Magas komplexitású PZA rezisztencia meghatározás

Ajánlás8.10

Bakteriológiailag igazolt TB esetében a pyrazinamid-rezisztencia indító diagnózisára – fenotípusos érzékenységi vizsgálat helyett – MTBC tenyészetekből készített izolátumokra lehet használni magas komplexitású, reverz-hibridizáció alapú NAAT eljárást (D)
(feltételes ajánlás, alig megbízható bizonyítékokkal)

Ajánlás8.11

Bakteriológiailag igazolt TB-s személyeknél pirazinamid rezisztencia indító kimutatására magas komplexitású reverz hibridizációs alapú NAAT vizsgálatokat lehet használni, MCTB tenyészetekre, inkább, mint tenyésztést és fenotípusos érzékenységi vizsgálatot. (C)
(feltételes ajánlás, gyenge bizonyítékokkal)

A kezdeti TB PCR diagnosztika pozitív eredménye esetén nem elegendő a RIF rezisztencia meghatározása. RIF érzékenység esetén az INH rezisztencia vizsgálata is szükséges. RIF rezisztencia esetén FQ érzékenységi vizsgálat elvégzése ajánlott.

Az Xpert XDR cartridge alkalmazásával egyidőben az INH, FQ és SLID szerekkel szembeni rezisztenciáéknak meghatározhatók.

2023 novemberében jelent meg a FluoroType XDR kit, ami az FQ, AMK rezisztencia meghatározása mellett az LZD rezisztencia azonosítását is lehetővé teszi, első IVD minősítésű tesztként biztosítja az LZD rezisztencia kimutatását.

Az eredmény kiadásánál nem fogalmazunk úgy, hogy egy adott törzs érzékeny vagy rezisztens, hanem azt jegyezzük meg, hogy rezisztenciára utaló mutációkat kimutattunk, vagy nem mutattunk ki. Az esetek döntő többségében a rezisztenciára vonatkozó eredmények egyeznek a későbbiekben tenyészetből végzett, genotípusos és fenotípusos rezisztencia meghatározás eredményeivel. Ritka esetben lehetnek eltérések az egyes genotípusos és fenotípusos eljárások eredményei között. Okokat és a jelenség magyarázatát magába foglaló táblázat a „XI. MELLÉKLET” fejezet 9. táblázatában található.

Ajánlás9

A nem steril testtájrról származó, kontamináltnak tekinthető vizsgálati anyagok esetében a tenyésztés előtt a minta előkezelését el kell végezni. (A) [7, 12, 13]

A nem steril testtájrról származó, kontamináltnak tekinthető vizsgálati anyagok esetében a tenyésztés előtt a mintát dekontaminálni kell, célszerűen N-acetil-L-cisztein-NaOH-val (NALC-NaOH) történő előkezelés formájában, a tenyészetek befertőződésének megakadályozása céljából. Ez az előkezelés a folyékony tenyésztési eljárások esetében is alkalmazható, ECDC, ERLTB-Net által ajánlott.

A mycobacteriumok generációs ideje meglehetősen hosszú (16-20 óra), ezért a nem steril testtájékokról származó minták (például köpet, vizelet, széklet) nem mycobacterialis, úgynevezett kontamináns baktériumai számottevően gyorsabb növekedési ütemüknek köszönhetően könnyen túlnőhetnek az adott klinikai minta mycobacteriumait. A

tenyészetek beszennyeződése miatti esetleges álnegatív eredmények elkerülése céljából a mycobacteriologiai laboratóriumok ezeket a klinikai mintákat úgynevezett dekontaminációs eljárásnak vetik alá. A dekontamináció steril testtájékról származó minták esetében (például liquor cerebrospinalis, pleuralis folyadék) nem szükséges. A dekontaminálás során alkalmazott vegyszerek a kontamináns baktériumok vagy gombák előlésén kívül segítenek a gyakran erősen purulens minták homogenizálásában, valamint a centrifugálási lépések közbeiktatásával az esetlegesen jelenlévő mycobacteriumok koncentrálásában is. A dekontaminálás hatékonyságát befolyásolja az alkalmazott reagens toxicitása, expozíciós ideje, és a centrifugálási lépés során keletkező hő károsító hatása, ezért fontos a hűtést biztosító centrifugák használata. Mindezeketől függően még a legenyhébbnek számító dekontaminálási módszer az N-acetyl-L-cisztein-NaOH (NALC-NaOH) is elpusztítja a minta mycobacterium tartalmának legalább 33%-át, ami jelentősen csökkentheti a különböző tenyésztési eljárások érzékenységét. Tenyészetek szennyeződésének aránya: 4% körüli érték, ez alatt túl erélyes a dekontaminálás, magasabb érték esetén túl gyenge.

Éppen ezért fontos követni a tenyészetek beszennyeződésének arányát, havonta kimutatást végezni.

Ajánlás10

Mycobacteriologiai diagnosztikára érkezett minta mikroszkópos vizsgálatát minden esetben el kell végezni. (A) [7, 12, 13]

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

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

A mikroszkópos vizsgálatok érzékenysége, specifitása:

A mikroszkópos vizsgálat legnagyobb hátránya, hogy nem kellően érzékeny és a negatív eredmény kiadásához minimum 100-300 látótér áttekintése szükséges, ami meglehetősen munkaigényes. A mikroszkópos vizsgálat érzékenysége az adott betegpopuláción belül függ a tuberkulózisban szenvedő betegek arányától, a vizsgált minta típusától (felső légúti vs. mély légúti), a mintagyűjtés minőségétől, a mycobacteriumok mintán belüli számától, az alkalmazott dekontaminálási és centrifugálási módszertől (cytocentrifugálás), a centrifuga minőségétől (legalább 3000 g) és mindössze 50-75%. Legalább 104 Mycobacterium/ml jelenléte szükséges ahhoz, hogy egy kenet teljes átvizsgálását követően néhány saválló pálcát találjunk.

A mikroszkóposan pozitív betegek tehát megkülönböztetett figyelmet igényelnek, hiszen az általuk ürített baktériummennyiség miatt ezek a betegek a legfertőzőbbek. Éppen azért, hogy az ilyen esetben szükséges izolációs lépések időben foganatosíthatók legyenek, a pozitív mikroszkópos vizsgálati eredményt (különös hangsúllyal a saválló pozitív eredményt) a laboratórium 24 órán belül vissza kell, hogy jelezze a vizsgálatkérő számára. Nem szabad elfeledkeznünk azonban arról a tényről sem, hogy a mikroszkópia nem képes különbséget tenni az élő és élettelen mycobacteriumok között. Így egy megfelelően kezelt és ellenőrzött beteg esetében a mikroszkópos vizsgálat negatívvá válást követő esetleges pozitivitása nem feltétlenül a klinikai romlás jele. Ugyancsak fontos szem előtt tartani azt a tény is, hogy a mikroszkópos vizsgálat nem tud különbséget tenni a *M. tuberculosis* complex és az NTM-ek között. Azaz a kenet pozitivitása atípusos Mycobacterium jelenlétének eredménye is lehet, amely nem biztos, hogy klinikai fontossággal bír. Mindezek miatt a mikroszkópos vizsgálat eredményét saválló baktérium pozitív vagy negatív megjelöléssel kell visszajelezni. Az előzőleg elvégzett molekuláris vizsgálat pozitív vagy negatív eredményével együtt értékelve már csak a fertőzőképesség megítélése a tét.

1. táblázat: A mikroszkópos vizsgálatok értékelése [12 adaptálva]

Mikroszkópos vizsgálat értékelése	
lelet	Mikroszkópos vizsgálat (1000x nagyítás)
Negatív	0 saválló pálca/kenet
Pozitív 1-9	1-9 saválló pálca/100 látómező
Pozitív 1+	10-100 saválló pálca/100 látómező
Pozitív 2+	1-10 saválló pálca/1 látómező
Pozitív 3+	10+ saválló pálca/1 látómező

látómező (HPF: High Power Field, immerziós objektív látómező)

A mikroszkópos vizsgálat során 1 kenethossz (2 cm) vagy 100 látómező átnézése szükséges, 1000x nagyítást használva. Ha kevesebb, mint 10 saválló pálca látható 100 látómezőben, a saválló pálcák számát kell megadni. Az erősebben pozitív kenetek esetén elégséges 20-30 látómező átnézése.

Bár a kenet mikroszkópos vizsgálata nem szerepel az INDÍTÓ WRD módszerek között, ajánlott az elvégzése kezdeti diagnózis és követés esetén is, mert ugyan az eljárás alkalmazása nem biztosít bakteriológiai igazoltságot (azaz nem alkalmas az MTBC és NTM elkülönítésére), fontos a beteg fertőzőképességének felmérése szempontjából. A mikroszkópos vizsgálat készülhet a direkt mintából (előkezeletlen), azonban javasolt az előkezelt minta centrifugált üledékéből a kenet készítése, mert ily módon növelhető a módszer érzékenysége, tüdőtuberkulózis esetén 50-70%, gyermekeknél és HIV-fertőzötteknél 20%, detekciós küszöbe (LoD): 5000-10000 bacillus/ml. A mikroszkópos vizsgálat Ziehl-Neelsen (ZN) vagy auramin alapú fluoreszcenncel festett kenetből történik. Minden fluoreszcenncel mikroszkópos vizsgálat alapján felvetett, új tbc-s beteg esetében az eredményt javasolt megerősíteni ZN- festéssel. A saválló baktériumok mikroszkóppal történő kimutatása alapján előzetes eredmény adható ki (saválló baktérium pozitív vagy negatív), viszont a módszer nem alkalmas az MTBC és NTM elkülönítésére. A mikroszkópos vizsgálat nem helyettesíti a tenyésztést. A mikroszkópos vizsgálat eredményközlése a beérkezést követő munkanap végéig meg kell, hogy történjen.

Ajánlás11

A mycobacteriologiai vizsgálatra érkezett minta tenyésztését párhuzamosan folyékony és szilárd táptalajon is el kell végezni. (A) [7, 12, 13]

A mycobacteriologiai diagnosztikában alkalmazott klasszikus módszer a tenyésztés a TB bakteriológiai igazoltságának másik kritériuma a molekuláris kimutatás mellett. A tenyésztéses vizsgálat folyékony MGIT és szilárd Löwenstein-Jensen táptalajokon történhet. Előnye, hogy érzékenyebb, mint a mikroszkópos vizsgálat, már 10-100 bacillus/ml kimutatható, illetve lehetővé teszi a genotípusos és fenotípusos érzékenységi vizsgálatok elvégzését. Hátránya, hogy időigényes, csak M2 és M3-as szintű laboratóriumokban kivitelezhető az előírt biológiai biztonság (biosafety) megvalósítása mellett, valamint képzett és tapasztalt szakemberek szükségesek a megvalósításához.

Tenyésztés jelentősége az etiológiai kórisme felállításában: TB vagy mycobacteriosis (NTM okozza), biomassza előállítás az érzékenységi vizsgálatokhoz vagy genetikai módszerek alkalmazásához. A tenyésztés alkalmas a kezelés hatékonyságának a felmérésére.

Negatív tenyésztési eredmény 8 hetes inkubálást követően adható ki.

A mycobacteriumok izolálására használt legismertebb táptalaj a tojás alapú, szilárd Löwenstein-Jensen (LJ) táptalaj. Az agar alapú táptalajok, mint amilyen a Middlebrook 7H10 vagy 7H11 agar, az LJ táptalajhoz képest a némileg gyorsabb tenyésztési idő és a transzparenciájuk folytán megvalósítható egyszerűbb telep morfológia-vizsgálat lehetősége miatt kedveltek. Mindazonáltal, ezeken a hagyományos szilárd táptalajokon a *M. tuberculosis* complex telepei általában 3-6 hét elteltével jelennek csak meg. A tenyésztési eredmények javítása érdekében ajánlott a leoltott szilárd LJ táptalajok „fektetése” az inkubálás első két napjára, meglazított kupakkal, ezáltal az inoculum jobban rátapad a táptalajra és optimálisabb a növekedés, mint abban az esetben, ha rögtön leoltás után függőleges helyzetbe állítjuk a táptalajokat tartalmazó csöveket. A tenyészet pozitívvá válása után kenetet kell készíteni, ZN festést alkalmazni, amennyiben saválló pálcák láthatók a mikroszkópos vizsgálat során, elvégzendő az MPT teszt és ki lehet adni az MTB complex eredményt, nem feltétlenül kell szubkultúra, niacin teszt helyett molekuláris azonosítással lényegesen hamarabb lehet informatív eredményt közölni.

A csak szilárd táptalajon történő tenyésztéssel a klinikailag egyértelműen tuberkulózisban szenvedőnek diagnosztizált betegek mintáiból mintegy 20-30%-ban nem sikerült a *M. tuberculosis* complex törzset izolálni. Ez az adat világosan jelzi, hogy a szilárd táptalajon való tenyésztés érzékenysége, bár lényegesen jobb, mint a mikroszkópos vizsgálaté, mégsem haladja meg a 70- 80%-ot.

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

A tenyésztési módszerek érzékenysége:

Bár a folyékony táptalajok alkalmazása jelentősen csökkenteni képes a tenyésztési időt, szilárd táptalajra azért továbbra is szükség van, mivel bizonyos törzsek nem növekednek jól a folyékony táptalajokban. A tenyésztés érzékenységét jelentősen befolyásolja a szilárd táptalaj pH-értéke is. A szilárd táptalaj további előnye, hogy a növekedés kvantitatív formában is visszajelenthető, a telep morfológia és a pigment termelés is vizsgálható, illetve kellő mennyiségű biomassza biztosítható az identifikálást segítő biokémiai tesztekhez.

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

Álpozitív tenyészetek előfordulása pozitív mintákkal történő kontamináció következtében:

A mycobacteriologiai laboratóriumokban az előkezelési és tenyésztési eljárások során a vizsgálati anyag keresztfertőzése következtében álpozitívvá válhat. Az álpozitív tenyészetek elfogadható aránya nemzetközi ajánlások alapján kb. 3% [12]. A keresztfertőzés létrejöhet az előkezelő szer adagolása vagy a semlegesítés során az aeroszolképződés miatt, esetleg a reagens csövek vagy oldatok kontaminálódhatnak saválló baktériummal. Ez utóbbiak könnyen szennyeződhetnek a vízben gyakran előforduló atípusos Mycobacteriumokkal (*M. gordonae*, *M. xenopi*), ha a felhasznált víz nem volt steril. A vizsgálati anyagok átfertőződésének esélyét csökkenti, ha a laminális fülkében kisebb mennyiségű reagenst használunk, a manipulációk során alkalmanként csak egy minta csöve van nyitva, és a centrifugacsövek zárókupakját lassan nyitjuk ki az aeroszolképződés csökkentése érdekében.

Ajánlás12

Az *M. tuberculosis* complex hagyományos módszerrel történő azonosítását minden mycobacteriologiai laboratóriumnak el kell tudnia végezni. (A) [7, 12, 13]

Első lépésben igazolni kell, hogy a tenyészet MTBC vagy NTM. Ebből a célból MPT64 immunkromatográfias teszt használható, amely lehetővé teszi az MTBC és NTM elkülönítését. MTBC pozitív, NTM negatív eredményt mutat.

Amennyiben az immunkromatográfias teszt pozitív eredménye MTBC-t igazol, szükséges az MTB vagy a complexhez tartozó más fajok azonosítása. Ez lehetséges molekuláris módszerrel (GenoTypeMTBC) vagy niacin teszt elvégzésével. A molekuláris eljárás előnye a módszer gyorsasága és pontossága, kevesebb biomassza szükségessége a niacin teszthez viszonyítva.

Az amplifikáción és reverz hibridizáción alapuló tesztek LPA használata során egy speciális DNS-szakaszt sokszorozunk PCR segítségével, majd a DNS-terméket egy tesztcsíkon elhelyezett, az egyes mycobacteriumokra specifikus próbákkal hibridizáltatjuk. Ezek a rendszerek egyes esetekben a Mycobacterium genus vagy az *M. tuberculosis complex* elkülönítésére alkalmasak, vagy az *M. tuberculosis complex*en kívül az összes jelenleg ismert klinikailag fontos NTM kimutatására is alkalmasak. (GenoType MTBC, CM, AS, NTM-DR.)

A mycobacteriologiai laboratóriumoknak a szakterületen szervezett hazai körvizsgálatokban, jártassági vizsgálatokban való részvétellel és megfelelő eredménnyel kell igazolni a jártasságukat *M. tuberculosis complex*be tartozó törzsek identifikálásában (QualiCont, INSTAND).

Ajánlás13

Tuberkulózisban szenvedő beteg elsőként izolált *Mycobacterium tuberculosis* complex tenyészetéből kötelező elvégezni az antituberkulotikumokkal szembeni rezisztenciameghatározást molekuláris és/vagy fenotípusos módszerekkel. (A) [7, 12, 13, 22-41]

A Nemzeti Tuberkulózis Program elvárásának, valamint a nemzetközi ajánlásoknak megfelelően minden újonnan felismerésre került, tuberkulózisban szenvedő beteg elsőként izolált tenyészetéből kötelezően antituberkulotikumokkal szembeni rezisztenciameghatározást kell végezni. Amennyiben a laboratórium nem végez rezisztenciavizsgálatot, vagy multirezisztens (MDR) MTB törzset talál, a törzset a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumba kell továbbítani kontrollvizsgálat, illetve a második vonalbeli szerek iránti rezisztenciameghatározás céljából. A második vonalbeli szerek iránti rezisztenciavizsgálatokat csak a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium végzi.

Első lépésben a rezisztencia meghatározására gyors molekuláris WRD módszerek ajánlottak (lásd ajánlás).

Ezzel párhuzamosan kell indítani a fenotípusos rezisztencia vizsgálatokat is.

A gDST elvégzése során INH és /RIF rezisztenciára utaló mutációk hiánya esetén első vonalbeli szerekkel szembeni pDST fenotípusos rezisztencia meghatározást kell elvégezni.

INH és/vagy RIF rezisztencia esetén második vonalbeli szerekkel szembeni rezisztencia meghatározás (AMK, FQ, BDQ, LZD, DLM, CFZ) kötelező.

Mind az antituberkulotikumra érzékeny, mind az arra rezisztens kórokozót hordozó betegek esetében az adekvát kezelés folytatásához, a beteg compliance-ének megtartásához és javításához kívánatos, hogy a rezisztenciavizsgálatok eredményei mihamarabb, de a mintavételtől számított legkésőbb 8 héten belül rendelkezésre álljanak. Ehhez a folyékony táptalajban végzett rezisztenciavizsgálatok adnak lehetőséget, mert a 4 első vonalbeli antituberkulotikumon (INH, RMP, EMB, PZA) kívül a második vonalbeli szerekkel (AMK, FQ, BDQ, LZD, DLM, CFZ) szembeni rezisztenciavizsgálatok is 4-6 nap alatt elvégezhetők.

A mycobacteriologiai laboratóriumokban ajánlott a megbízható rezisztenciavizsgálatok elvégzése a WHO által javasolt szerekkel és kritikus koncentrációkkal. A vizsgálatokat képzett szakembereknek kell végezniük. Az érzékenységi vizsgálatok esetén kiemelten fontos az időszakos belső és külső minőségellenőrzés. A DST eljárások célja nemcsak a rezisztencia azonosítása, hanem az érzékenység felmérése is. Az ajánlott eljárások magas szenzitivitással (alacsony ál-érzékenységi ráta), illetve magas specificitással (alacsony ál-rezisztencia ráta) rendelkeznek a rezisztencia azonosítására. Ezen kívül a használt DST eljárások magas szenzitivitással (alacsony ál-rezisztencia ráta) és magas specificitással (alacsony ál-érzékenységi ráta) bírnak az érzékenység kimutatására is.

MTBC rezisztencia meghatározása

- **genotípusos vizsgálat gDST**
 - **direkt mintából**
 - **tenyészetből**
 - DNS kivonás, amplifikáció
 - mutációk kimutatása – MUT – rezisztencia
 - mutáció jelenléte valószínűsíthető – WT
 - semleges mutációk, amelyek nem okoznak rezisztenciát – akadályozhatják a WT kötődést → álrezisztencia
- **fenotípusos vizsgálat pDST – tenyészetből** első és második vonalbeli szerekkel szemben
 - folyékony táptalajon (MGIT vagy VersaTREK)
 - 5-7 nap alatt eredmény
 - szilárd táptalajon Löwenstein Jensen
 - 3-4 hét alatt eredmény
 - MIC meghatározása – mikrolevess-hígítási módszerrel
 - MIC>CC (kritikus koncentráció) – rezisztencia

Direkt mintából is végezhető rezisztencia meghatározások

- **Xpert**
 - **MTB/RIF Ultra** MTBC complex és RIF rezisztenciára utaló mutációk kimutatása
 - **MTB/XDR** gyors és pontos INH, ETH, FQ, AMK, KAN, CAP rezisztencia meghatározás (90 perc alatt eredmény)
 - bakteriológiailag igazolt tüdő TB esetén INH és FQ rezisztencia gyors meghatározására a köpetből – inkább, mint tenyészésen alapuló DST
 - bakteriológiailag igazolt tüdő TB esetén (RR) az AMK rezisztencia meghatározására – inkább, mint tenyészésen alapuló DST módszer
- **LPA** amplifikáción és reverz hibridizáción alapuló eljárás
 - **első vonalbeli LPA**
 - kenet-pozitív köpetminta vagy kitenyésztett MTBC esetén RIF és INH rezisztencia kezdeti vizsgálatára – inkább, mint fenotípusos DST
 - tüdő/extrapulmonáris TB esetén
 - INH rezisztencia vizsgálatára fenotípusos DST is
 - mikroszkóposan negatív minták vizsgálatára nem ajánlott
 - **második vonalbeli LPA**
 - bakteriológiailag igazolt MDR/RR TB esetén az FQ és AMK rezisztencia kezdeti vizsgálatára – inkább, mint fenotípusos DST
 - köpetminta/tenyészet, függetlenül a kenet vizsgálat eredményétől
 - tüdő/extrapulmonáris TB esetén
 - fenotípusos DST hasznos lehet a negatív SL-LPA eredménnyel rendelkező betegek követésére (főleg ha valószínűsíthető az FQ és/vagy az AMK rezisztencia)
 - SL-LPA hasznos az FQ rezisztencia meghatározásában, még mielőtt elkezdenék a HR TB kezelést
- **FluoroType**
 - MTBDR légúti minták, *M. tuberculosis* izolátum
 - INH, RIF
 - Liquid Array MTB-XDR légúti minták, *M. tuberculosis* izolátum
 - FQ, LZD, AMK, EMB

DST eltérő eredmények

- genotípusos módszerek forradalmasították a rezisztencia vizsgálatokat, DE eltérő eredmények megjelenéséhez vezettek
 - fenotípusos és genotípusos módszerek
 - különböző genotípusos módszerek
- eltérő eredmények
 - *random* hibák
 - szisztematikus hibák
 - *cut-off* hibák

Hibalehetőségek kezelése

- azonosítani, hogy milyen típusú hiba lehet jelen és kiválasztani a megfelelő tesztet
 - *borderline* RIF-R esetén szekvenálás
 - *random* hibák kiküszöbölése
 - szisztematikus hibák kizárása – valószínűsíthető rezisztencia, MIC magasabb - pDST

A fenotípusos érzékenységi vizsgálat marad a referencia módszer a legtöbb antituberkulotikum számára, annak ellenére, hogy az eredmények kiadásáig hosszú időre, specializált infrastruktúrára és képzett személyzetre van szükség.

Új és gyors, DNS-szekvenáláson alapuló *next generation* technológiákra (NGS) van szükség a gyógyszerrezisztenciával összefüggő mutációk gyors kimutatása érdekében.

2. táblázat: A TB kezelésében használt első és második vonalbeli szerekkel szembeni érzékenység vizsgálata céljából ajánlott kritikus koncentrációk (mg/L). [26]

Anti-TB szer	LJ	7H10	7H11	MGIT
INH	0,2	0,2	0,2	0,1
RIFAMPICIN	40,0	0,5	1,0	0,5
RIFABUTIN	-	-	-	-
RIFAPENTIN	-	-	-	-

A WHO 2021-ben javasolta az érzékeny MTB törzsek által okozott fertőzés kezelésére a 4 hónap hosszúságú kezelési sémát, ami rifapentint, izoniazidot, pyrazinamidot és moxifloxacint tartalmaz. A rifapentintre nincs meghatározott MIC érték, ezért a WHO javasolja figyelembe venni a RIF-re vonatkozó eredményeket.

3. táblázat: RR/MDR-TB kezelésében használt szerek kritikus koncentráció értékei (mg/L) [26]

Csoportok és lépések	Szerek	LJ	7H10	7H11	MGIT
A csoport mindhárom szert alkalmazni	Levofloxacin	2,0	1,0	-	1,0
	Moxifloxacin (CC)	1,0	0,5	0,5	0,25
	Moxifloxacin (CB)	-	2,0	-	1,0
	Bedaquiline	-	-	0,25	1,0
	Linezolid	-	1,0	1,0	1,0
B csoport egyik vagy mindkét szer	Clofazimin	-	-	-	1,0
	Cycloserine/terizidone	-	-	-	-
C csoport kiegészítésként vagy ha az „A” és „B” csoportba tartozó szerek nem adhatók	Ethambutol	2,0	5,0	7,5	5,0
	Delamanid	-	-	0,016	0,06
	Pyrazinamide	-	-	-	100,0
	Imipenem-cilastatin	-	-	-	-
	Meropenem	-	-	-	-
	Amikacin	30,0	2,0	-	1,0
	Ethionamide	40,0	5,0	10,0	5,0
	Prothionamide	40,0	-	-	2,5
PAS	-	-	-	-	

CC: kritikus koncentráció, CB: klinikai breakpoint.

Az MGIT rendszerben a pretomanidra ideiglenes 1 mg/l breakpoint-ot javasolt az EMA, az EUCAST pedig 2 mg/l értéket, ameddig megfelelő mennyiségű adat birtokába jutunk a MIC meghatározások alkalmazásával. A WHO még nem javasolt kritikus koncentráció értéket erre a szerre.

A WHO 2022-es ajánlása szerint az MDR, pre-XDR TB-ben szenvedő betegek kezelésében használni lehet a BPaLM, illetve a BPaL kezelési sémát. Így szükséges kiépíteni a kapacitásokat a BDQ és LZD érzékenységi vizsgálatokra, ezekkel a szerekkel szembeni rezisztencia vizsgálata prioritássá vált.

Érzékenységi vizsgálatok eredményeinek közlése

A standard protokoll alapján elvégzett DST eredményeinek a közlése egyszerű, abban az esetben, ha a molekuláris meghatározások eredményei egybeesnek a pDST során megállapított érzékenységgel vagy rezisztenciával. Amennyiben váratlan rezisztencia eredmény jelentkezik a pDST elvégzésekor, ellenőrizni kell molekuláris vizsgálattal. A mutáció jelenléte rezisztenciát jelent. Ha a törzs fenotípusosan rezisztens és nem mutatható ki mutáció, akkor az antibiotikum jelenlétében kialakuló tenyészetet kell újra vizsgálni. Prioritás az MDR törzs jelenlétére utaló eredmény közlése. Rutin leletközlés során fel kell tüntetni a leleten a vizsgálat kezdetének a dátumát és a validálás időpontját. Azon szerek esetében, amelyeknél több koncentráció jelenlétében történik a vizsgálat, meghatározható a rezisztencia mértéke (alacsony vagy magas szintű), ezt az adatot szintén fel kell tüntetni a leleten. Az alacsony szintű rezisztencia kimutatása esetén a szer hatásos lehet nagyobb adagban, míg a magas szintű rezisztencia esetén a szer klinikai alkalmazása nem javasolt. Az eltérő eredmények lehetséges okait foglalja magába a „XI. MELLÉKLET” fejezet 9. táblázat.

Annak ellenére, hogy számos módszert írtak le az MTBC izolátumok esetén a MIC meghatározására, 2019 előtt nem állt rendelkezésre standardizált módszer az ECOFF és klinikai breakpointok mérésére az EUCAST stratégiáknak megfelelően. Az EUCAST AMST (anti-mycobacterial drug susceptibility testing) albizottsága 2020-ban közölte a protokollt a kezdeti eredményekkel együtt. Az elsődleges kritérium az eljárás jó reprodukálhatósága volt. [30]

Molekuláris rezisztencia meghatározások klinikai vonatkozásai

A *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) törzsek antituberkulotikumokkal szembeni rezisztenciája befolyásolja a tuberkulózis kezelésének sikerességét.

A tenyésztésen alapuló eljárások tekinthetők az arany standardnak az érzékenységi vizsgálatok közül, de hosszabb időt vesz igénybe, mert először ki kell tenyészteni a mikroorganizmust majd tenyésztésen alapuló módszerrel lehet vizsgálni az érzékenységet. A molekuláris módszerek alkalmazása során hamarabb juthatunk adatokhoz a rezisztenciához társuló mutációkat illetően, hiszen ezek a vizsgálatok akár a klinikai mintából közvetlenül is elvégezhetők.

A mutációk kimutatása az MDR vagy RR tuberkulózisban szenvedő beteg mielőbbi azonosítását szolgálja és lehetővé teszi az adekvát terápia mielőbbi megválasztását.

4. táblázat: Meghatározások a rezisztens MTBC törzsek osztályozásához [25]

	2006 WHO	2021 WHO
RR TUBERKULÓZIS	RIF	RIF
MDR	RIF+INH	RIF+INH
PRE-XDR	-	MDR/RR+FQ
XDR	MDR/RR+FQ+SLID	MDR/RR+FQ+BDQ/LZD MDR/RR+FQ+BDQ+LZD

RR: rifampicin rezisztens, MDR: multi-drug rezisztens, FQ: fluoroquinolon (levofloxacin, moxifloxacin), XDR: kiterjedt gyógyszerrezisztens (extensively drug resistant), SLID: második vonalbeli injektábilis szerek (amikacin, capreomycin, kanamycin)

A tuberkulózis kezelésében három fontos pillér fejlesztésére van szükség, annak érdekében, hogy ellenőrizni lehessen a betegséget és a rezisztencia kialakulásának kockázatát: a kezelési sémák optimalizálása, a kezelési időtartamának optimalizálása, a gyógyszer toxicitás minimalizálása.

A gyógyszerrezisztens tuberkulózis kezelésében egységes sémák alkalmazása ideális lenne, azonban több ok miatt is nehezen megvalósítható.

- Vannak betegek, akik nem tolerálnak bizonyos gyógyszereket, ezért szükség van individualizált terápiára.
- Az új szerekkel szembeni rezisztencia kialakulása nem előzhető meg teljes bizonyossággal. Bizonyos betegek számára nem alkalmazhatók a leghatékonyabb szerek, így ezen betegeknél esély van arra, hogy a betegséget okozó törzs rezisztenssé váljon.

- c) Más páciensek esetében egyidejűleg más betegségek kezelésére is szükség van (pl. antiretrovirális terápia) így kialakulhatnak gyógyszer kölcsönhatások.
- d) Kompenzatórikus mutációk és az ebből eredő fenotípusos változások miatt különböző az egyes törzsek érzékenysége a második vonalbeli szerekkel szemben.

A fentiek miatt a betegek MTB törzsének érzékenységi mintázatának gyors és pontos azonosítása elengedhetetlen.

A molekuláris antituberkulotikum rezisztencia meghatározás *versus* fenotípusos érzékenység meghatározás

- RIF rezisztencia mielőbbi meghatározását a 7.1-7.10 ajánlások részletezik. Fontos tudni azonban, hogy a rutinban alkalmazott gyors molekuláris módszerek, amelyekkel a RIF rezisztencia is vizsgálható, nem fedik le az rpoB génben előforduló mutációk teljes spektrumát. A genotípusosan érzékenynek azonosított törzsek esetén a tenyésztésen alapuló fenotípusos rezisztencia vizsgálatot is el kell végezni. Abban az esetben, ha a rezisztencia csak valószínűsíthető, de nem igazolható (pl. nincs vad típusú gén jelen) szintén szükséges a tenyésztésen alapuló fenotípusos érzékenységi vizsgálat is. Amennyiben a RIF rezisztencia markereként azonosított mutációk kimutathatók, nincs szükség fenotípusos rezisztencia meghatározásra.
- INH rezisztencia: Amennyiben a NAAT típusú indító vizsgálat MTBC pozitív eredményre vezet, INH rezisztenciára utaló mutációkat is ajánlott vizsgálni, melyet a 8. ajánlás részletez. Az INH rezisztencia a leggyakrabban előforduló gyógyszerrezisztencia MTB esetén. A genotípusosan érzékenynek azonosított törzsek esetén a tenyésztésen alapuló fenotípusos rezisztencia vizsgálatot is el kell végezni. Abban az esetben, ha a rezisztencia csak valószínűsíthető, de nem igazolható (pl. nincs vad típusú gén jelen) szintén szükséges a tenyésztésen alapuló fenotípusos érzékenységi vizsgálat is.
- PZA rezisztencia molekuláris vizsgálata a kitenyésztett izolátumból végzendő, melyet a 8.10-8.11 ajánlások részleteznek. PZA fenotípusos rezisztencia meghatározásának korlátai miatt a rezisztencia markerekként azonosított mutációk kimutatása helyettesítheti a hagyományos módszereket.

Gyors molekuláris módszerek a második vonalbeli szerekkel szembeni rezisztencia előrejelzésére a WHO által meghatározott A, B és C csoportba tartozó gyógyszerekre:

- Az egyetlen molekuláris módszer, amely alkalmas a második vonalbeli szerekkel (A, B és C csoport) szembeni rezisztencia előrejelzésére a teljes genom szekvenálás. Amplikon szekvenálás (Deplex Genoscreen, Lille, France) elérhető az FQ, LZD, CFZ, EMB, PZA, AMK, STR, ETH rezisztencia előrejelzésére.
- LPA módszerek alkalmazásával előrejelezhető az FQ, EMB, PZA, AMK, STR rezisztencia.
- Az Xpert MTB/XDR módszer az INH, FQ, AMK és ETH rezisztencia előrejelzését teszi lehetővé.
- FluoroType Liquid Array
- Abban az esetben, ha a kezdeti diagnózis során alkalmazott molekuláris eljárások RIF rezisztenciára utaló mutációt igazolnak, a második vonalbeli szerekkel szembeni rezisztencia molekuláris meghatározása is elvégzendő. Hasonlóképpen, ha a fenotípusos rezisztenciavizsgálat eredménye RIF rezisztens törzset igazol, haladéktalanul el kell végezni a második vonalbeli szerekkel szembeni rezisztencia molekuláris azonosítását. Mivel fenotípusos érzékenységi vizsgálat nem elérhető az összes második vonalbeli szerrel szemben, ezért különösen fontos a molekuláris módszerek bevezetése és alkalmazása.

A molekuláris rezisztencia meghatározások eredményeinek közlése:

- az eredmények közérthető magyarázatával, kiértékelésével kiegészítve (gyógyszerrezisztencia előrejelzésének megbízhatósága, a rezisztencia szintje – magas/alacsony), mutációk jelenlétének klinikai vonatkozásai (egyreszerek alkalmazhatósága bizonyos mutációk megléte esetén).

A molekuláris vizsgálatok eredményei alapján elindított kezelési séma megváltoztatásának szükségessége abban az esetben, ha a fenotípusos érzékenységi vizsgálatnak eltérő eredményei vannak (lásd „XI. MELLÉKLET” fejezet 9. táblázat az eltérő eredményekről):

- A genotípusos és fenotípusos érzékenységi vizsgálatok eltérő eredményei esetén szükség van a klinikus és a laboratóriumban dolgozó személy közötti egyeztetésre a diszcrepancia okának tisztázása miatt, illetve az eltérő eredmény klinikai relevanciájának meghatározása miatt.
- Alacsony szintű rezisztencia azonosítása nehézkes lehet fenotípusos módszerekkel, viszont pontosan meghatározható genotípusos eljárással.
- A molekuláris módszer azonosíthat alacsony szintű rezisztenciát előidéző mutációkat, ilyen esetben magasabb dózisban adagolva a gyógyszert, klinikai hatás érhető el. Ezzel szemben a fenotípusosan azonosított rezisztenciát okozhatják olyan mutációk, amelyek még nem kimutathatók a rutinban használt molekuláris eljárásokkal.

A rezisztenciaviszonyok már a TB diagnózis felállításának pillanatában ismertté válnak, abban az esetben, ha az irányelveknek megfelelően történik a vizsgálat, WRD módszerek használatával, rezisztencia meghatározással. Az eljárások egy része biztosítja a RIF rezisztenciára utaló mutációk kimutatását (pl. Xpert MTB/RIF Ultra), de forgalomban vannak olyan tesztek is, amelyek egyidejű RIF és INH rezisztencia vizsgálatot tesznek lehetővé, mikroszkóposan pozitív vagy akár negatív mintából is (pl. GenoType MTBDR Plus). Más tesztek az INH és a második vonalbeli szerekkel szembeni rezisztencia egyidejű kimutatását szolgálják (Xpert MTB/XDR) vagy AMK, FQ és LZD rezisztencia meghatározást biztosítanak, közvetlenül a mintából (FluoroType). Ez utóbbi azért különösen fontos, mert az első olyan teszt, ami IVD minősítéssel rendelkezik és LZD rezisztencia kimutatását teszi lehetővé a biológiai mintából.

Ha a mintából nem készül direkt molekuláris vizsgálat vagy annak az eredménye negatív, akkor a tenyészet pozitívvá válásakor és az MTBC azonosításakor kötelező WRD molekuláris vizsgálatot gyors rezisztencia meghatározás, valamint ezzel párhuzamosan a pDST elindítása. Molekuláris módszerrel érzékenyként azonosított törzsek esetén első lépésben csak első vonalbeli szerekkel szemben végzünk pDST-t. Ha a WRD eredménye rezisztens törzsre utal, akkor egy lépésben kell az első és második vonalbeli szerekkel szembeni rezisztenciavizsgálatot elindítani.

Ajánlás14

***M. tuberculosis* complex izolátumok tipizálása nukleinsav-kimutatáson alapuló módszerekkel referencialaboratóriumban javasolt epidemiológiai célból. (B) [44-50]**

Az MTB complexbe tartozó izolátumok tipizálását sikeresen alkalmazzák különböző járványok vizsgálatára, a tuberkulózis aktív transzmisszióját befolyásoló rizikótényezők vizsgálatára (pl. antituberkulotikum-rezisztencia), valamint a hagyományos módszerekkel azonosíthatatlan kontaktok kiszűrésére és ezáltal a fertőzési lánc felderítésére. Jól használhatók ezek a módszerek a különböző veszélyeztetett szubpopulációkon belül a tuberkulózis transzmissziójának vizsgálatára és a laboratóriumi keresztfertőzések okozta téves diagnózisok kiszűrésére. Az ilyen helyzetekben szükséges prevenció lépések meghatározásához és megtételéhez Magyarországon is szükséges a molekuláris epidemiológiai vizsgálatok bevezetése legalább a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumban.

A genomszekvenálás specializált referencia laboratóriumokban történik.

A szekvenálás módszerei a Sanger-féle szekvenálás, mint referencia módszer és a next generation szekvenálás (NGS). Az NGS előnye, hogy egyetlen reakcióval nagyszámú génre vonatkozó eredményt ad. Az NGS eredményeinek a kiértékelése specifikus szoftverek és mutáció katalógusok segítségével történik.

Az újonnan bevezetett gyógyszerekkel szembeni rezisztenciához társuló mutációk, például BDQ és DLM és ezeknek terápiás következményei még nem pontosan ismertek.

A két fő NGS módszer a tNGS és a teljes genom szekvenálás:

- tNGS (mikroszkóposan pozitív köpöntmintából vagy tenyészetből): rezisztenciához társuló mutációk kimutatása (18 kiválasztott gén esetén) első vonalbeli szerek (INH, RIF), FQ, aminoglikozidok, LZD, BDQ, CFZ, ETH (DeepLec®Myc-TB). – rutinban használható.
- WGS (tenyészetekből): rezisztenciához társuló mutációk kimutatása a teljes genomban (elméletileg az összes anti-TB szerrel szemben) -kutatásban használható.

Szekvenálással kimutathatók azok a mutációk, amelyek rezisztenciához társulnak. Ez különösen azokban az esetekben fontos, amikor a fenotípusos DST eredményei nem megbízhatóak egy adott szerre vagy nem érhetőek el gyors molekuláris vizsgálatok. A gyors molekuláris vizsgálatokkal a rezisztenciához társuló mutációk egy része nem mutatható ki, viszont azonosíthatók a szekvenálás alkalmazásával.

Szekvenálással kevert fertőzések kimutatása is lehetséges, azonosíthatók a különböző MTB törzsek. A módszer heterorezisztencia kimutatására is alkalmas (ugyanaz a törzs, különböző rezisztencia profilokkal), illetve a törzsek azonosításával elkülöníthető a relapszus és a reinfekció.

Az NGS-alapú WGS-ek használata a TBC diagnosztizálására az elkövetkező években tovább fog növekedni, köszönhetően ennek a módszernek az előnyeinek, a kapott eredmények szenzitivitása és a TB átfertőzés jelzésére való képesség tekintetében. Az EU/EGT-tagállamok hozzávetőleg 50%-a bevezette az NGS-technológiát TB-laboratóriumi hálózatán belül, és jelenleg a WGS-t használja a TBC diagnosztizálására, például gyógyszerrezisztencia előrejelzésére és genotipizálásra. További hét EU/EGT-ország tervezi a WGS bevezetését TB-laboratóriumi hálózatában a következő két évben. A WHO ajánlásokat tett a következő generációs szekvenálás (tNGS) használatára vonatkozóan a gyógyszerrezisztencia kimutatásának felgyorsítása érdekében.

Ajánlás15

A mycobacteriologiai diagnosztikát végző laboratóriumok kötelesek az elvégzett vizsgálatok eredményéről a legrövidebb időn belül elektronikusan értesíteni a beküldő orvost. (C) [7, 12, 13]

A WRD és a kenet eredmények kiadása legkésőbb a laboratóriumba érkezést követő első munkanapon kell megtörténni. A pozitív WRD lelet a bakteriológiai igazoltságot és rezisztenciaviszonyokat tisztázza, a kenet eredménye pedig a beteg baktériumürítésének mértékéről nyújt információt.

Ajánlás16

A mintaút szervezése során szem előtt kell tartani, hogy minta beérkezésétől számítva, a *Mycobacterium tuberculosis* complex izolálását, azonosítását 3-6 héten belül, a rezisztenciavizsgálatokat pedig további 2 héten belül célszerű elvégezni. (A) [7, 12, 13]

Az ECDC és a WHO ajánlása szerint a *Mycobacterium tuberculosis* complex izolálása, azonosítása, valamint az ezt követő rezisztenciavizsgálatok elvárt eredményközlési időintervallumának teljesítéséhez lehetőleg a mintavétel időpontjától számított 3-6 héten belül (izolálás, identifikálás), illetve 2 héten belül (rezisztencia meghatározás) történjenek meg. Negatív tenyésztési eredmény 8 hét elteltével adható ki.

Eredményközlési idő NMRL- ben

- DNAM (PCR): 24 óra (minta beérkezése napján vagy az azt követő első munkanapon)
- mikroszkópos vizsgálat: 24 óra (minta beérkezése napján vagy az azt követő első munkanapon)
- tenyésztés:
 - a folyékony tenyészet pozitívvá válása esetén (néhány nap, hét):
 - 24 órán belül az eredmény kiadása (MPT64 teszt elvégzése után):
 - MTB complex
 - tenyészet beszennyeződött
 - 1 héten belül molekuláris azonosítás és molekuláris rezisztencia vizsgálat (GenoType)
 - *M. tuberculosis*

- MTB: INH és RMP érzékenység genotípusos vizsgálata
- MDR: FQ és SLID érzékenység genotípusos vizsgálata
- NTM faj vagy alfaj azonosítása
- NTM érzékenység genotípusos vizsgálata (MABS, MAC)
- rezisztencia vizsgálat
 - molekuláris (lásd fentebb – direkt illetve a tenyészetből)
 - fenotípusos – a tenyészet pozitívvá válása után két héten belül
 - első vonalbeli szerekkel szemben (SIRE, PZA)
 - második vonalbeli szerekkel szemben) ABC csoportok

Eljárások, amelyek használatát a WHO nem javasolja az aktív TB diagnosztikában [7, 12, 13]

- 2011-es WHO ajánlás: szerológiai tesztek nem használhatók a tuberkulózis diagnosztizálására.
- A WHO ajánlásai a tervezett felhasználási célokra vonatkoznak és esetenként még egy jóváhagyott tesztet nem ajánlott egy adott célra használni.
 - Xpert MTB/RIF, Xpert Ultra vagy Truenat nem ajánlott a kezelés hatékonyságának a felmérésére.
- LF-LAM módszert ne használják az aktív TB diagnosztizálásában:
 - HIV-pozitív felnőttek, serdülők és gyermekek esetében a TB tünetek előzetes felmérése nélkül;
 - HIV-pozitív betegeknél, akiknél nincsenek TB tünetek és ismeretlen CD4-sejtszámmal rendelkeznek, vagy a CD4 sejtszám nagyobb vagy egyenlő 100 sejt/mm³;
 - HIV-negatív egyének.
- IGRA – ne használják aktív TB diagnosztikában.

Az NTM fertőzések laboratóriumi diagnosztikájára vonatkozó ajánlások

Ajánlás17

Légúti NTM fertőzések (NTM-PD) mikrobiológiai igazolásához megfelelő számú és minőségű minta feldolgozása szükséges az alábbi követelmények betartásával: (A) [51-55]

- **Köpetmintából egy hét leforgása alatt 3 mintából álló sorozatot kell laboratóriumba küldeni mikrobiológiai feldolgozásra,**
- **ha a beteg nem tud köpetet üríteni, akkor indukált köpet vételére kell törekedni,**
- **invazív módon vett mintából elegendő egyetlen minta is: bronchusmosó folyadék, broncho-alveoláris lavage, transzbronchiális biopszia,**
- **a légúti minták feldolgozását a mintavételtől számított 24 órán belül el kell kezdeni vagy hűtőszekrényben tárolni (erős ajánlás) (A)**

Ajánlás18

Nem alkalmas az NTM fertőzés laboratóriumi vizsgálatához: oropharyngealis minta, vérből végzett szerológiai vizsgálatok. (A) [51-55]

Ajánlás19

NTM-PD követés során ajánlott mikrobiológiai vizsgálatok: (A) [51-55]

- **Köpetminta (sorozat) 4-12 hetente kezelés alatt és 12 hónapig a kezelés befejezése után, hogy lehessen felmérni a mikrobiológiai választ.**
- **Indukált köpet, ha a beteg képtelen köpetet üríteni.**
- **Ha felmerül a gyanú, hogy negatív köpet tenyésztési eredmények ellenére jelen van az NTM-PD: CT vezérelt BAL.**
- **Azoknál a pácienseknél, akik nem képesek köpetet üríteni, CT scan és CT vezérelt BAL a kezelés befejezése után 6 és 12 hónappal.**

Ajánlás20

Az extrapulmonális NTM fertőzések igazolásához a fertőzés lokalizációjának megfelelően kell mintát venni (biopsziás minta, szövetminta) és a laboratóriumba küldeni. (C) [51-55]

Ajánlás21

A minták feldolgozása során mikroszkópos vizsgálatot és tenyésztést kell végezni. (A) [51-55]

Ajánlás22

Amennyiben a mikroszkópos vizsgálat során saválló pálcák láthatók és az MTBC kimutatása irányában végzett WRD eredménye negatív, direkt molekuláris eljárást lehet alkalmazni az NTM DNS kimutatására. (B) [51-55]

Ajánlás23

Negatív mikroszkópos vizsgálati eredmény esetén nem javasolt a direkt PCR elvégzése NTM kimutatásra. (B) [51-55]

Ajánlás24

A nem tenyésztésen alapuló diagnosztikai eljárások alkalmazása rutinszerűen nem javasolt. (A) [51-55]

Ajánlás25

Az NTM-PD erős gyanúja, de ismételt negatív tenyésztési eredmények esetén a mintát referencia laboratóriumba kell küldeni alternatív tenyésztési eljárások alkalmazásával (táptalajok, különböző inkubálási hőmérsékletek, meghosszabbított inkubálási idő), vagy molekuláris módszerek alkalmazásával. (B) [51-55]

Ajánlás26

A tenyészet pozitívvá válásakor szükséges azonosítani a törzset (a három köpet mintából legalább kettőben ugyanaz a faj tenyésztett ki, vagy az invazív módon vett minta tenyészeté lett pozitív). (A) [51-55]

Ajánlás27

Mivel az NTM fajok megbetegítőképesége/virulenciája és antibiotikum érzékenysége különböző, minden, klinikai szempontból jelentőséggel bíró NTM törzset azonosítani szükséges (faj, alfaj szintig) validált molekuláris módszerrel vagy tömeg spektrometriás módszerrel (MALDI-TOF). (A) [51-55]

- *M. abscessus* complex-en belül alfaj szintű azonosítás.
- *M. abscessus* ssp. *abscessus*, *bolletti*, *massiliense* elkülönítése.
- *M. a massiliense* részleges erm41 gén delécio - nem alakul ki MA (makrolid) rezisztencia, sikeres kezelési ráta magasabb mint a *M. a abscessus* ssp. fertőzés esetén.
- WGS: *M. abscessus* terjedés gyanúja esetén.

Ajánlás28

Érzékenységi vizsgálatot (DST) csak azoknál az izolátumoknál kell végezni, amelyeknek klinikai jelentősége van. (A) [56-63]

Ajánlás29

Érzékenységi vizsgálatra első lépésben molekuláris eljárás ajánlott (NTM-DR), hogy minél előbb rendelkezésre álljon az eredmény. (C) [60, 61]

Ajánlás30

A fenotípusos érzékenységi vizsgálatot (MIC meghatározás) csak abban az esetben kell elvégezni, ha validált módszer áll rendelkezésre. (A) [56-63]

- MAC (*Mycobacterium avium* complex):
 - MA és AMK kezelés megkezdése előtt vett mintából kitenyésztett törzsből
 - a kezelés hatékonyságának követésére (nem reagál a kezelésre vagy konverzió után ismét pozitív lesz a tenyészet)
 - MA-R MAC más antibiotikumokkal szembeni érzékenység meghatározása
- *M. kansasii* RIF érzékenység vizsgálata
- *M. abscessus*: MA, FOX, AMK (TIG, IMI, MINO, DOX, MOX, LZD, SXT, CLOFA) legalább clarithromycin, cefoxitin és amikacin (amennyiben lehetséges tigecycline, imipenem, minocycline,

doxycycline, moxifloxacin, linezolid, cotrimoxazole és clofazimine)

Ajánlás31

Eredmények közlése során célszerű inkább MIC és CC érték megadása, mint É vagy R (a túl magas MIC értékek esetén nem valószínű az *in vivo* hatékonyság). (B) [51-56]

Ajánlás32

A klinikailag releváns NTM törzseket a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratóriumba kell küldeni azonosítás vagy annak megerősítése céljából. (D)

Az ERLTB-Net 2023-ban egy kezdeményezést indított, amelynek az a célja, hogy az egyes országokban működő referencia laboratóriumokban alkalmazott módszereket harmonizálják, kidolgozzanak egységes laboratóriumi diagnosztikai kritériumokat az NTM fajok és antibiotikum érzékenységük azonosítására.

Az NTM fertőzések kórjelzésében klinikai, radiológiai és mikrobiológiai kritériumoknak kell teljesülniük. A légúti NTM fertőzések pontos laboratóriumi kórjelzéséhez szükséges a megfelelő minőségű és számú minta bakteriológiai vizsgálata. A mikrobiológiai laboratóriumi eljárások, amelyeket az etiológiai kórisme felállítása során alkalmaznak, ugyanazok, mint az MTBC fertőzések diagnosztizálása esetén. A mintából Ziehl Neelsen szerint festett kenet készül, tenyésztésre folyékony és szilárd táptalajokat használnak, viszont esetenként speciális inkubálási hőmérsékleteket kell alkalmazni. Az NTM fajok széleskörű környezeti elterjedése miatt, az NTM fajok ismételt kitenyésztése szükséges, hogy a klinikai relevancia bizonyítható legyen és el lehessen különíteni a kontaminációt, kolonizációt és a fertőzést.

A fertőzést okozó NTM fajok azonosítása kiemelten fontos, ugyanis a kezelési lehetőségek különböznek az egyes fajok esetén, sőt gyakran azonos fajhoz sorolt alfajok által okozott fertőzés során is. A fajok meghatározása molekuláris biológiai módszerekkel és tömegspektrometriás módszerekkel végezhető. A molekuláris módszerekkel való kimutatás lehetséges közvetlenül a biológiai mintából, abban az esetben, ha a kenetben saválló pálcák vannak jelen, illetve ha MTBC negatív a direkt molekuláris vizsgálat eredménye. Ezt az eljárást (GenoType CMdirect) főként NTM fertőzések szempontjából kockázati csoportba tartozó betegek (pl. CF) mintáinak vagy invazív módon vett légúti váladékok vizsgálatára használják. A jelenleg érvényben levő nemzetközi irányelvek szerint lehet direkt molekuláris diagnosztikát végezni NTM fertőzés igazolására, de előnyben kell részesíteni a tenyésztési eljárásokat és a molekuláris azonosítást vagy a MALDI-TOF módszert a tenyésztetre kell alkalmazni. Az utóbbi időben teret nyert a teljes genom szekvenálás a Mycobacterium fajok azonosításában.

Mikrobiológiai diagnosztikai kritériumok (ATS 2020, BTS 2017)

- köpet, indukált köpet, BAL, biopsziás minta
 - 24 órán belül feldolgozni
- köpet: **3 mintából álló sorozat (1 hét alatt) – ebből 2 minta pozitív tenyésztési eredmény NTM-re** (ugyanaz a faj vagy ssp)
- törekedni kell a kevésbé invazív mintavételre
- **bronchoszkópiával vett minta esetén 1 pozitív tenyésztési eredmény**
- biopsziás minta granulomatosus elváltozás és AFB mellett pozitív tenyésztési eredmény NTM (biopsziás minta/köpet/BAL)

Az NTM fertőzés kimutatására végzett mikrobiológiai vizsgálatok

- **Mikroszkópos vizsgálat** Ziehl-Neelsen szerint festett kenet
 - Nem elkülöníthető az MTBC és az NTM
 - *M. abscessus* - fogékony egyének megfertőződhetnek (kenet negatív személy is fertőzési forrás lehet)
- **Direkt molekuláris kimutatás:** pozitív kenet eredmény esetén
 - GenoType Common Mycobacteria (CM)
- **Tenyésztés:** szilárd és folyékony táptalajon (MGIT, Löwenstein-Jensen, Middlebrook 7H10, 7H11, Burkholderia cepacia agar)
 - Dekontaminálás (NALC-NaOH): nemcsak a kísérő flórára hat, a Mycobacteriumok bizonyos hányada is elpusztul
 - Szilárd táptalajok előnye:

- Megfigyelhető a telepmorfológia
- Azonosíthatók a kevert fertőzések
- NTM kimutatható a társflóra jelenlétében is
- Időtartam 6 hét (8-12),
- különböző inkubálási körülmények: 35°C, 28-30°C *M. abscessus*, 45°C *M. xenopi*
- **Azonosítás**
 - **MALDI-TOF– tömegspekrometriás módszer**
 - optimális fehérje kivonási módszert kell kidolgozni
 - MLST-vel összehasonlítva - jó egyezés
 - **Molekuláris módszerek**
 - **LPA: HAIN GenoType CM, AS, NTM-DR**
 - PCR termék restrikciós vizsgálata
 - Szekvenálás WGS (*M. abscessus*)
- **DST**
 - molekuláris NTM-DR
 - fenotípusos MIC meghatározás, mikroleves
 - *M. avium*, *intracellulare*, *abscessus*

Az NTM fajok antibiotikum érzékenységének meghatározásával kapcsolatos kihívások

Az érzékenységi vizsgálatok eredménye és a klinikai hatásosság közötti összefüggéseket mostanáig csak néhány NTM faj esetén sikerült megállapítani.

Az *in vitro* DST eredmény az antibiotikum kezelésre adott választ nem minden esetben jelzi pontosan az NTM-PD pácienseknél, így DST klinikai értéke a fertőzések kezelésében bizonytalan. Fontos szem előtt tartani, hogy az *in vitro* érzékenység nem feltétlenül jelent *in vivo* hatásosságot, függ attól, hogy az adott AB milyen koncentrációt ér el a fertőzés helyén, az AB kombinációk szinergista, közömbös vagy antagonistá hatásától. A szerek kiválasztásánál figyelembe kell venni a gyógyszer mellékhatásokat, toxicitást is, „csináljunk valamit”, a „több jobb” mentalitást fékezni, hogy ne ártsunk.

Az érzékenységi vizsgálatok célja, hogy lehessen azonosítani a vad-típusú izolátumokat azoktól, amelyeknek szerzett rezisztenciája van.

MIC meghatározás több antibiotikum esetén nem megvalósítható technikai problémák miatt. Jelenleg nincs EUCAST NTM DST guideline a MIC meghatározásra, azonban intenzíven dolgoznak az útmutató megvalósításán, hogy legalább a gyakrabban izolált NTM fajok számára legyen ismert a MIC cut-off érték, az érzékenység és rezisztencia elkülönítése érdekében.

- CLSI mikroleves MIC meghatározás (SGM&RGM)
- É/R cut-off értékek limitált klinikai validálással rendelkeznek

ATS álláspontja szerint:

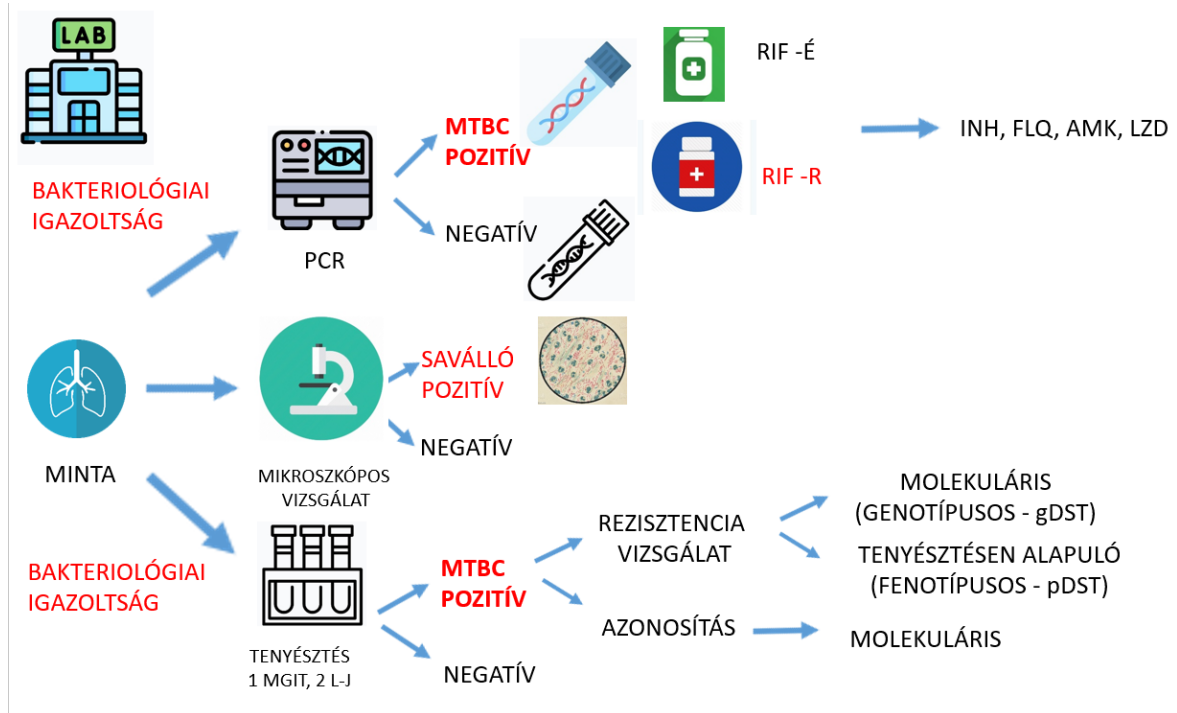
- MAC-PD: MA, AMK (előnyben kell részesíteni az érzékenységi vizsgálatok alapján végzett kezelést, szemben az empirikus terápiával viszont szem előtt kell tartani, hogy az *in vitro* érzékenység nem jelent feltétlenül *in vivo* hatásosságot.)
- *M. kansasii*-PD: RIF (előnyben kell részesíteni az érzékenységi vizsgálatok alapján végzett kezelést, szemben az empirikus terápiával, mert a RIF rezisztens törzsek esetén elkerülhető a fölösleges antibiotikum adagolás)
- *M. xenopi*-PD: nincs sem pro sem kontra érv az érzékenységi vizsgálat eredményei alapján történő kezelésre (nem áll elegendő bizonyíték rendelkezésre)
- *M. abscessus*-PD: érzékenységi vizsgálatok eredményei alapján történő kezelés MA, AMK (inkább, mint az empirikus terápia)
- MA induktibilis rezisztencia vizsgálatára: 14 napos inkubálás és/vagy erm41 gén szekvenálása
- sikertelen kezelés/gyenge válasz/
 - MA-R MAC és *M. abscessus*
 - RIF-R *M. kansasii*
 - speciális figyelem: *M. abscessus* erm41 – induktibilis MA rezisztencia
 - AMK magas MIC értékek: különböző breakpoint az IV és inhalált AMK
 - *M. xenopi*: nincs klinikai korreláció

Klinikailag meghatározott breakpointok

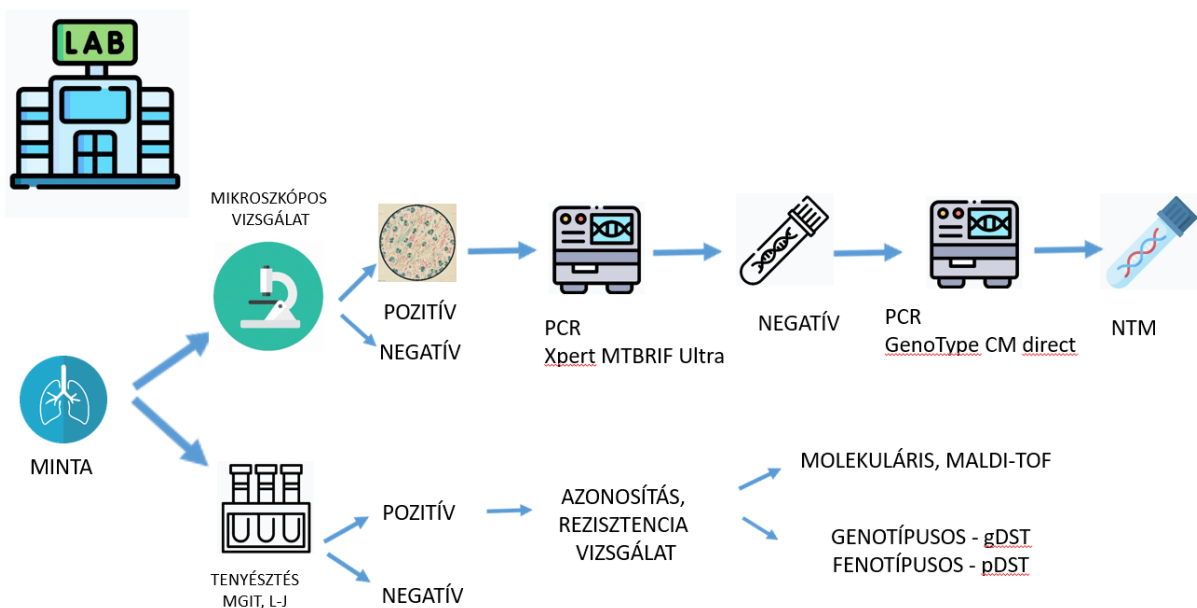
- MAC: MA, AMK (IV, L)
- *M. kansasii*: MA, RIF
- *M. abscessus*: MA, AMK, Cefoxitin, Imipenem, LZD, DOX, TIG, CIP, MOX

Ellátási folyamat algoritmusa (ábrák)

1. ábra: A tuberkulózis mikrobiológiai diagnózisa [saját szerkesztés]



2. ábra: NTM fertőzések mikrobiológiai diagnózisa [saját szerkesztés]



VII. JAVASLAT AZ AJÁNLÁSOK ALKALMAZÁSÁHOZ

1. Az alkalmazás feltételei a hazai gyakorlatban

1.1. Ellátók kompetenciája (pl. licence, akkreditáció stb.), kapacitása

A mycobacteriologiai tenyésztőlaboratórium vagy laboratóriumi részleg kompetenciaszintje szerinti személyi feltételeknek kell megfelelni. Konzultációra alkalmas diplomás (orvosi mikrobiológus szakorvos, klinikai mikrobiológus szakbiológus, mikrobiológus szakgyógyszerész) kell, hogy rendelkezésre álljon. Ez azt jelenti, hogy tudni kell a kapott leleteket értelmezni az alkalmazott módszerek függvényében és további vizsgálatokra javaslatot tenni.

A mycobacteriologiai diagnosztika döntő többségét Magyarországon olyan, M2-M3 szintű mikrobiológiai laboratóriumok végzik, amelyek rendelkeznek a mycobacteriumok okozta infekciók speciális diagnosztikáját végző részleggel. Néhány, jelenleg is működő laboratórium esetében csak mycobacteriumok okozta infekciók diagnosztikája zajlik a laboratóriumban. Ezek integrálása feltétlenül indokolt lenne széles spektrumon működő M2-M3 kompetenciaszintű mikrobiológiai laboratóriumokba, ami lehetőséget biztosítana differenciáldiagnosztikai problémák közvetlen megoldására, valamint fejlett mikrobiológiai diagnosztikai eszközök alkalmazására. ZN-festésen alapuló direkt mycobacterium kimutatást M1 kompetenciaszintű laboratórium is végezhet, ha megfelelő gyakorlattal rendelkezik, azaz folyamatosan használja az egyéb festési eljárások mellett a ZN-festést és mikroszkópos értékelést.

A mycobacteriologiai diagnosztika koordináló laboratóriuma a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium.

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

A mikrobiológiai laboratóriumok számára meghatározott minimumkövetelményekben külön meghatározásra kerültek a mycobacteriologiai részlegek minimumkövetelményei is. A WHO/ECDC ajánlások szerint mycobacterium diagnosztikát végző laboratóriumoknak rendelkezniük kell a minta kontaminációjának elkerülését és a környezet és a laboratóriumi személyzet kontaminációjának elkerülését biztosító berendezésekkel, ajánlott a Class II típus A2 biológiai biztonsági fülke, amely típus esetén az érkező és távozó levegő egy HEPA-szűrőn keresztül távozik, és beköthető a laboratóriumi helyiség saját elszívó rendszerébe.

Fontos, hogy a nukleinsav kimutatásán alapuló módszereket használó mycobacteriologiai (M2, M3-as laboratóriumok megfelelő, a módszerek kivitelezésére alkalmas eszközökkel és megfelelő szaktudással és gyakorlattal rendelkezzenek, valamint részt vegyenek külső minőségi ellenőrzési programokban.

A mycobacteriologiai laboratóriumnak vagy laboratóriumi részlegnek rendelkeznie kell az adatok kezelésére, leletkiadásra és a kapott tenyésztési és rezisztencia adatok továbbítására alkalmas informatikai rendszerrel (laboratóriumi surveillance alapfeltétele).

Fontos elvárás, hogy a különböző kompetenciaszintű mikrobiológiai laboratóriumok megfelelő mycobacteriologiai részlegei egymásra épülve végezzék a diagnosztikus munkát. Az M1 kompetenciaszintű laboratóriumok képesek mikroszkópos tuberkulózis diagnosztikát végezni megfelelő gyakorlattal rendelkező személy esetén. Alacsony komplexitású gyors molekuláris vizsgálatok (WRD) szintén végezhetőek. A tenyésztések zömét végző M2 szintű laboratóriumok, amennyiben valamely lépését a diagnosztikának nem végzik (azonosítás, 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. Bizonyos vizsgálatokat a mycobacterium diagnosztika területén csak a Nemzeti Mycobacteriologiai Referencia Laboratórium végez (lásd egyes ajánlások).

1.3. Az ellátottak egészségügyi tájékozottsága, szociális és kulturális körülményei, egyéni elvárásai

Nem releváns.

1.4. Egyéb feltételek

A hazai M2-M3 kompetenciaszintű laboratóriumoknak (így a csak mycobacteriologiai diagnosztikát végző laboratóriumok és a mikrobiológiai laboratóriumi részlegként működő mycobacteriologiai laboratóriumok) csak kis százaléka ment keresztül szakmai akkreditáción a Nemzeti Akkreditáló Testület által elvártaknak megfelelően,

de minden mycobacteriologiai diagnosztikát végző laboratóriumnak meg kell felelnie a jelenleg érvényben lévő mikrobiológiai laboratóriumra vonatkozó jogszabályi elvárásoknak.

A minőségbiztosítási feltételek az egyes ajánlások részletezéséhez csatlakozóan témakörönként kerültek meghatározásra és az alkalmazást segítő dokumentumok között táblázat formájában foglalják össze az információkat.

2. Alkalmazást segítő dokumentumok listája

2.1. Betegtájékoztató, oktatási anyagok

Nem készültek.

2.2. Tevékenységsorozat elvégzésekor használt ellenőrző kérdőívek, adatlapok

Nem készültek.

2.3. Táblázatok

1. táblázat: A mikroszkópos vizsgálatok értékelése [12 adaptálva]

2. táblázat: A TB kezelésében használt első és második vonalbeli szerekkel szembeni érzékenység vizsgálata céljából ajánlott kritikus koncentrációk [26]

3. táblázat: RR/MDR-TB kezelésében használt szerek kritikus koncentráció értékei [26]

4. táblázat: Meghatározások a rezisztens MTBC törzsek osztályozásához [25]

5. táblázat: WHO és/vagy ECDC által jóváhagyott eljárások TB diagnosztikához [7]

6. táblázat: A minták alkalmassága egyes bakteriológiai és molekuláris biológiai eljárásokra [7]

7. táblázat: Bakteriológiai igazoltság: pozitív DNAM (PCR) és/vagy pozitív tenyésztési eredmény [saját szerkesztés]

8. táblázat: Direkt mikroszkópos vizsgálat és a direkt molekuláris nukleinsav amplifikációs módszer DNAM (PCR) eredményeinek együttes értékelése [saját szerkesztés]

9. táblázat: Genotípusos (gDST) és fenotípusos (pDST) érzékenységi vizsgálatok eltérő eredményeinek értékelése és magyarázata [20]

10. táblázat: A mycobacteriologiai laboratóriumok feladatai és felelősségei [7]

11. táblázat: 8 órás munkanap alatt elvégezhető műveletek [7]

12. táblázat: MINŐSÉGBIZTOSÍTÁSI (MB) ELEMEEK A TB DIAGOSZTIKAI ELJÁRÁSOKBAN [7]

13. táblázat: Minőségi mutatók kenet mikroszkópiás vizsgálatra [7]

14. táblázat: Minőségi mutatók baktériumtenyésztéses vizsgálatra [7]

15. táblázat: Minőségi mutatók fenotípusos anti-TB szer-rezisztencia vizsgálatra [7]

16. táblázat: Minőségi mutatók FL-LPA és SL-LPA vizsgálatra [7]

17. táblázat: Minőségi mutatók Xpert MTB/RIF és Xpert Ultra [7]

18. táblázat: Minőségi mutatók MC-aNAAT vizsgálatokra [7]

19. táblázat: Minőségi mutatók LC-aNAAT vizsgálatokra [7]

20. táblázat: GenoType CM, AS és NTM-DR tesztekkel azonosítható NTM fajok/alfajok [saját szerkesztés]

2.4. Algoritmusok

1. algoritmus: A tuberkulózis mikrobiológiai diagnózisa [saját szerkesztés]

2. algoritmus: NTM fertőzések mikrobiológiai diagnózisa [saját szerkesztés]

3. algoritmus: Molekuláris eljárások alkalmazása a tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájában [7 adaptálva]
4. algoritmus: Molekuláris eljárások alkalmazása a RIF-R/MDR tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájában és a második vonalbeli szerekekkel szembeni érzékenység vizsgálatában [7 adaptálva]
5. algoritmus: Molekuláris eljárások alkalmazása az INH-R tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájában [7 adaptálva]

2.5. Egyéb dokumentum

1. Vizsgálatkérő lap minták mikrobiológiai feldolgozásához
2. Vizsgálatkérő lap törzsek azonosításához
3. Útmutató klinikusoknak
4. Belső minőségbiztosítás

3. A gyakorlati alkalmazás mutatói, audit kritériumok

„Ajánlás1

A tuberkulózis (TB) gyanú felmerülésekor a fertőzés lokalizációjának megfelelően kell mintát küldeni a laboratóriumba, a klinikai diagnózis bakteriológiai igazolása céljából. (A) [7, 12, 13, 14]”

Ajánlás1 vonatkozásában: A vizsgált időszakban TB gyanú felmerülésekor a klinikai diagnózis bakteriológiai igazolása céljából, hány alkalommal küldtek mintát a fertőzés lokalizációjának megfelelően a laboratóriumba?

A tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikai vizsgálatait országos vagy regionális megfelelőségének indikátorai:

A nukleinsav alapú kimutatási módszerek alkalmazása a tuberkulózis diagnosztikában, a kapott eredmények értékelése.

„Ajánlás7

Tuberkulózis klinikai jeleit és tüneteit mutató személy indító mycobacteriológiai vizsgálatát a klinikai mintán közvetlenül alkalmazott, direkt nukleinsav amplifikációs módszerrel (DNAM) - közismert néven PCR módszerrel – ajánlott megalapozni.”

Ajánlás7 vonatkozásában: A vizsgált időszakban hány esetben végeztek tuberkulózis klinikai jeleit és tüneteit mutató személy indító mycobacteriológiai vizsgálata céljából a klinikai mintán közvetlenül alkalmazott, direkt nukleinsav amplifikációs módszerrel (DNAM) vizsgálatot a tuberkulózis klinikai jeleit és tüneteit mutató személy összes indító mycobacteriológiai vizsgálatához képest?

A minta-előkezelési módszer (dekontamináció) értékelése a tenyészetek fertőzöttségének %-os előfordulása alapján.

„Ajánlás9

A nem steril testtájrról származó, kontamináltnak tekinthető vizsgálati anyagok esetében a tenyésztés előtt a minta előkezelését el kell végezni. (A) [7, 12, 13]”

Ajánlás9 vonatkozásában: A vizsgált időszakban hány esetben végezték el a nem steril testtájrról származó, kontamináltnak tekinthető vizsgálati anyagok tenyésztés előtt a minta előkezelését az összes tenyésztési célból beérkezett, nem steril testtájrról származó, kontamináltnak tekinthető vizsgálati anyag számához képest?

A direkt mikroszkópos, a tenyésztési eljárásokkal kapott eredmények összevetése adott betegcsoport esetében (érzékenység, fajlagosság, pozitív és negatív prediktív érték vizsgálatával, illetve az irodalomban megtalálható értékelésekkel).

A bakteriológiailag (nukleinsav kimutatással és/vagy tenyésztéssel) igazolt tuberkulózis esetek aránya a regisztrált esetekhez viszonyítva.

A tenyésztéssel pozitív esetekben az elvégzett rezisztenciavizsgálatok aránya.

A MDR és XDR mycobacteriumok aránya a bakteriológiailag igazolt tuberkulózis esetekben kimutatott mycobacteriumok között.

VIII. IRÁNYELV FELÜLVIZSGÁLATÁNAK TERVE

Az egészségügyi szakmai irányelv tervezett felülvizsgálata 3 évenként történik. A felülvizsgálat folyamata az érvényesség lejárta előtt fél évvel kezdődik el. Az Egészségügyi Szakmai Kollégium Klinikai és járványügyi mikrobiológia Tagozat elnöke kijelöli a tartalomfejlesztő felelőst, aki meghatározza a fejlesztő munkacsoport tagjait, illetve befogadja a társtagozatok által delegált szakértőket. Az aktuális egészségügyi szakmai irányelv kidolgozásában résztvevő fejlesztőcsoport tagok folyamatosan követik a szakirodalomban megjelenő publikációkat, szakkönyveket, irányelveket, illetve a hazai ellátókörnyezetben bekövetkező változásokat. Amennyiben a tudományos bizonyítékokban vagy az ellátókörnyezetben releváns és szignifikáns változás következik be, a fejlesztőcsoport kezdeményezheti az irányelv idő előtti felülvizsgálatát.

IX. IRODALOM

- [1.] Introduction to GRADE Handbook. Handbook for grading the quality of evidence and the strength of recommendations using the GRADE approach. Updated October 2013. <https://gdt.gradepro.org/app/handbook/handbook.html#h.buaodtl66dyx>
- [2.] Korányi Bulletin, 2023,1 szám, 4-13 Bulletin – Országos Korányi Pulmonológiai Intézet – Szakmai érdeklődők (koranyi.hu)
- [3.] WHO Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240061729>
- [4.] ECDC: Surveillance report – Tuberculosis. Annual Epidemiological report for 2021. 2023 <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/tuberculosis-annual-epidemiological-report-2021>
- [5.] ECDC Tuberculosis Surveillance and monitoring in Europe 2023 (2021 data) <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/tuberculosis-surveillance-and-monitoring-europe-2023-2021-data>
- [6.] WHO Standard Universal access to rapid tuberculosis diagnosis2023 <https://www.who.int/publications/i/item/9789240071315>
- [7.] WHO Practical manual on tuberculosis laboratory strengthening 2022 update <https://www.who.int/publications/i/item/9789240061507>
- [8.] WHO Operational handbook on tuberculosis Module 3: Diagnosis. Rapid diagnostics for tuberculosis detection. 2021 update <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030589>
- [9.] WHO Consolidated guidelines for tuberculosis detection Module 3: Diagnosis. Rapid diagnostics for tuberculosis detection. 2021 update <https://www.who.int/publications/i/item/9789240029415>
- [10.] WHO Implementing the End TB Strategy: The Essentials 2022 <https://www.who.int/publications/i/item/9789240065093>
- [11.] Tagliani E, et al. Appeal from the European reference laboratory network for tuberculosis for improving the diagnosis of infections caused by non-tuberculous mycobacteria. Clin Microbiol Infect. 2023 Jun 14:S1198-743X(23)00280-X. doi: 10.1016/j.cmi.2023.06.005. Epub ahead of print. PMID: 37321396.
- [12.] ECDC TECHNICAL REPORT Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union Updated 2022 <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/handbook-tuberculosis-laboratory-diagnostic-methods-european-union-updated-2023>
- [13.] MSF Tuberculosis. Practical guide for clinicians, nurses, laboratory technicians and medical auxiliaries. Médecins Sans Frontières and Partners in Health. Tuberculosis. September 2023. 978-2-37585-222-4 <https://medicalguidelines.msf.org/en/viewport/TUB/english/tuberculosis-20321086.html>
- [14.] WHO eTB Guidelines 2023 <https://tbksp.org/en/recommendation/page-1>
- [15.] WHO Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2021-2022. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240019720>
- [16.] UN European Agreement concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road. United Nations.2017. <https://www.unece.org/trans/danger/publi/adr/adr2017/17contentse0.html>
- [17.] WHO Technical Expert Group Meeting Report: Commercial products for preserving clinical specimens for the diagnosis of tuberculosis. Geneva, World Health Organization. 2017. (WHO/HTM/TB/2017.19). <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HTM-TB-2017.19>

- [18.] WHO Rapid Communication: Molecular assays as initial tests for the diagnosis of tuberculosis and rifampicin resistance 2020 <https://www.who.int/publications/i/item/9789240000339>
- [19.] WHO Manual for selection of molecular WHO-recommended rapid diagnostic tests for detection of tuberculosis and drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240042575>
- [20.] WHO Algorithm for laboratory diagnosis and treatment-monitoring of pulmonary tuberculosis and drug-resistant tuberculosis using state-of-the-art rapid molecular diagnostic technologies. Expert opinion of the European Tuberculosis Laboratory Initiative core group members for the WHO European Region. 1 October 2017. <https://www.who.int/europe/publications/i/item/9789289052375>
- [21.] WHO. WHO updates policy for the use of lateral flow urine lipoarabinomannan assay (LF-LAM) for diagnosing active tuberculosis in people living with HIV 2019 [https://www.who.int/news/item/04-11-2019-who-updates-policy-for-the-use-of-lateral-flow-urine-lipoarabinomannan-assay-\(lf-lam\)](https://www.who.int/news/item/04-11-2019-who-updates-policy-for-the-use-of-lateral-flow-urine-lipoarabinomannan-assay-(lf-lam))
- [22.] WHO Rapid communication: key changes to the treatment of drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization; 2022 (WHO/UCN/TB/2022.2). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-UCN-TB-2022-2>
- [23.] Domínguez J, Boeree MJ, Cambau E, Chesov D, Conradie F, Cox V, et. al.: TBnet and RESIST-TB networks. Clinical implications of molecular drug resistance testing for Mycobacterium tuberculosis: a 2023 TBnet/RESIST-TB consensus statement. *Lancet Infect Dis.* 2023 Apr;23(4):e122-e137. doi: 10.1016/S1473-3099(22)00875-1. Epub 2023 Feb 28. Erratum in: *Lancet Infect Dis.* 2023 Mar 28; PMID: 36868253.
- [24.] STOP TB GLI – Line probe assays for drug-resistant tuberculosis detection. Interpretation and reporting guide for laboratory staff and clinicians. <https://www.stoptb.org/gli-guidance-and-tools/gli-guide-interpretation-and-reporting-of-line-probe-assays>
- [25.] World Health Organization. WHO operational handbook on tuberculosis. Module 4: treatment - drug-resistant tuberculosis treatment, 2022 update. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240065116>
- [26.] World Health Organization. Technical Report on critical concentrations for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of drug-resistant tuberculosis. Geneva: World Health Organization; 2018 (WHO/CDS/TB/2018.5). Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CDS-TB-2018.5>
- [27.] World Health Organization. Technical manual for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/275469/9789241514842-eng.pdf?ua=1>
- [28.] Fowler PW, et al. Automated detection of bacterial growth on 96-well plates for high-throughput drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis. *Microbiology.* 2018 Dec;164(12):1522-1530. doi: 10.1099/mic.0.000733. Epub 2018 Oct 23.
- [29.] CRyPTIC Consortium. Epidemiological cut-off values for a 96-well broth microdilution plate for high-throughput research antibiotic susceptibility testing of M. tuberculosis. *Eur Respir J.* 2022 Oct 13;60(4):2200239. doi: 10.1183/13993003.00239-2022. PMID: 35301246; PMCID: PMC9556810.
- [30.] Kahlmeter G, Turnidge J. The determination of epidemiological cut-off values requires a systematic and joint approach based on quality controlled, non-truncated minimum inhibitory concentration series. *Eur Respir J.* 2023 May 5;61(5):2202259. doi: 10.1183/13993003.02259-2022. PMID: 37147008.
- [31.] Köser CU, Maurer FP. Minimum inhibitory concentrations and sequencing data have to be analysed in more detail to set provisional epidemiological cut-off values for Mycobacterium tuberculosis complex. *Eur Respir J.* 2023 May 5;61(5):2202397. doi: 10.1183/13993003.02397-2022. PMID: 37147011.
- [32.] Schön T, et al. Standards for MIC testing that apply to the majority of bacterial pathogens should also be enforced for Mycobacterium tuberculosis complex. *Clin Microbiol Infect.* 2019 Feb 14. pii: S1198-743X(19)30041-2. doi: 10.1016/j.cmi.2019.01.019.
- [33.] Schön T, et al. Multicentre testing of the EUCAST broth microdilution reference method for MIC determination on Mycobacterium tuberculosis. *Clin Microbiol Infect.* 2021 Feb;27(2):288.e1-288.e4. doi: 10.1016/j.cmi.2020.10.019. Epub 2020 Oct 24. PMID: 33198949.

- [34.] Schön T, et al. What is the role of the EUCAST reference method for MIC testing of the Mycobacterium tuberculosis complex? *Clin Microbiol Infect.* 2020 Nov;26(11):1453-1455. doi: 10.1016/j.cmi.2020.07.037. Epub 2020 Aug 6. PMID: 32768492.
- [35.] Schön T, et al. Antimicrobial susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis complex isolates - the EUCAST broth microdilution reference method for MIC determination. *Clin Microbiol Infect.* 2020 Nov;26(11):1488-1492. doi: 10.1016/j.cmi.2020.07.036. Epub 2020 Aug 1. PMID: 32750539.
- [36.] Maurer FP, Shublazde N, Kalmambetova G, Felker I, Kuchukhidze G, Köser CU, Cirillo DM, Drobniewski F, Yedilbayev A, Ehsani S; European Laboratory Initiative on TB, HIV and Viral Hepatitis. Diagnostic Capacities for Multidrug-Resistant Tuberculosis in the World Health Organization European Region: Action is Needed by all Member States. *J Mol Diagn.* 2022 Nov;24(11):1189-1194. doi: 10.1016/j.jmoldx.2022.07.005. Epub 2022 Aug 11. PMID: 35964846.
- [37.] T. Schön, P. Miotto, C.U. Köser, M. Viveiros, E. Böttger, E. Cambau.: Mycobacterium tuberculosis drug-resistance testing: challenges, recent developments and perspectives. *Clinical Microbiology and Infection.* Volume 23, Issue 3, March 2017, Pages 154-160. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X16305110>
- [38.] WHO Target product profile for next-generation drug-susceptibility testing at peripheral centres. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://tbksp.org/en/node/2538>
- [39.] WHO Target product profiles for tests for tuberculosis treatment monitoring and optimization. Geneva: World Health Organization; 2023. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://tbksp.org/en/node/2622>
- [40.] Guidance for the surveillance of drug resistance in tuberculosis, sixth edition.
- [41.] Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240018020>
- [42.] ECDC Surveillance report – Tuberculosis Molecular surveillance status report focusing on rifampicin and multi-drug resistance in the EU/EEA July 2023 <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/tuberculosis-molecular-surveillance-status-report-focussing-rifampicin-and-multi>
- [43.] ECDC European Centre for Disease Prevention and Control. Expert opinion on whole genome sequencing for public health surveillance. Stockholm: ECDC; 2016. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/expert-opinion-whole-genome-sequencing-public-health-surveillance>
- [44.] WHO The use of next-generation sequencing technologies for the detection of mutations associated with drug resistance in Mycobacterium tuberculosis complex: technical guide. Geneva: World Health Organization; 2018 <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/371687/9789240076372-eng.pdf?sequence=1>
- [45.] WHO Catalogue of mutations in Mycobacterium tuberculosis complex and their association with drug resistance. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240028173>
- [46.] WHO Catalogue of mutations in Mycobacterium tuberculosis complex and their association with drug resistance, second edition. Geneva: World Health Organization; 2023. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240082410>
- [47.] ECDC European Centre for Disease Prevention and Control. Expert opinion on whole genome sequencing for public health surveillance. Stockholm: ECDC; 2016. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/expert-opinion-whole-genome-sequencing-public-health-surveillance>
- [48.] ECDC European Centre for Disease Prevention and Control. Tuberculosis molecular surveillance status report focussing on rifampicin and multi-drug resistance in the EU/EEA, September 2023. ECDC: Stockholm; 2023. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/tuberculosis-molecular-surveillance-status-report-focussing-rifampicin-and-multi>
- [49.] Satta G, Atzeni A, McHugh TD. Mycobacterium tuberculosis and whole genome sequencing: a practical guide and online tools available for the clinical microbiologist. *Clin Microbiol Infect.* 2017 Feb;23(2):69-72. doi: 10.1016/j.cmi.2016.09.005. Epub 2016 Sep 15. PMID: 27642177.

- [50.] WHO. The use of next-generation sequencing for the surveillance of drug-resistant tuberculosis: an implementation manual. Geneva: World Health Organization; 2023. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240078079>
- [51.] ATS. Charles L. Daley, Jonathan M. Iaccarino, Christoph Lange, Emmanuelle Cambau, Richard J. Wallace, Jr, Claire Andrejak, et. al.: Treatment of Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Disease: An Official ATS/ERS/ESCMID/IDSA Clinical Practice Guideline Clinical Infectious Diseases® 2020;71(4):e1–e36
- [52.] BTS. C S Haworth, J Banks, T Capstick, A J Fisher, T Gorsuch, I F Laurenson, et. al.: BTS NTM Guideline Development Group. British Thoracic Society guidelines for the management of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease (NTM-PD) Thorax 2017;72:iii1–ii64. doi:10.1136/thoraxjnl-2017-210927
- [53.] Haworth CS, Banks J, Capstick T, et al. British Thoracic Society Guideline for the management of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease (NTMPD).BMJ Open Resp Res. 2017;4:e000242. doi:10.1136/bmjresp-2017-000242 (summary of recommendations)
- [54.] R Andres Floto, Kenneth N Olivier, Lisa Saiman, Charles L Daley, Jean-Louis Herrmann, Jerry A Nick, et. al.: US Cystic Fibrosis Foundation and European Cystic Fibrosis Society consensus recommendations for the management of non-tuberculous mycobacteria in individuals with cystic fibrosis. Thorax 2016;71:i1–i22. doi:10.1136/thoraxjnl-2015-207360. https://thorax.bmj.com/content/71/Suppl_1/i1.long
- [55.] Christoph Lange, Erik C Böttger, Emmanuelle Cambau, David E Griffith, Lorenzo Guglielmetti, Jakko van Ingen, et. al.:Consensus management recommendations for less common non-tuberculous mycobacterial pulmonary diseases, The Lancet Infectious Diseases, Volume 22, Issue 7, 2022, Pages e178-e190, ISSN 1473-3099, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00586-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00586-7) (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473309921005867>)
- [56.] Kurz SG, Zha BS, Herman DD, Holt MR, Daley CL, Ruminjo JK, Thomson CC. Summary for Clinicians: 2020 Clinical Practice Guideline Summary for the Treatment of Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Disease. Ann Am Thorac Soc. 2020 Sep;17(9):1033-1039. doi: 10.1513/AnnalsATS.202003-222CME. PMID: 32870060. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32870060/>
- [57.] van Ingen J, et al. Treatment outcome definitions in nontuberculous mycobacterial pulmonary disease: an NTM-NET consensus statement. Eur Respir J. 2018 Mar 22;51(3). pii: 1800170. doi: 10.1183/13993003.00170-2018. Print 2018 Mar.
- [58.] Nikolayevskyy V, et al. Novel external quality assurance scheme for drug susceptibility testing of non-tuberculous mycobacteria: a multicentre pilot study. J Antimicrob Chemother. 2019 Feb 11. doi: 10.1093/jac/dkz027.
- [59.] Fröberg G, et al. Towards clinical breakpoints for non-tuberculous mycobacteria - Determination of epidemiological cut off values for the Mycobacterium avium complex and Mycobacterium abscessus using broth microdilution. Clin Microbiol Infect. 2023 Jun;29(6):758-764. doi: 10.1016/j.cmi.2023.02.007. Epub 2023 Feb 20. PMID: 36813087.
- [60.] Huh HJ, Kim SY, Shim HJ, Kim DH, Yoo IY, Kang OK, et. al.: GenoType NTM-DR Performance Evaluation for Identification of Mycobacterium avium Complex and Mycobacterium abscessus and Determination of Clarithromycin and Amikacin Resistance. J Clin Microbiol. 2019 Jul 26;57(8):e00516-19. doi: 10.1128/JCM.00516-19. PMID: 31167842; PMCID: PMC6663903. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31167842/>
- [61.] Fedrizzi T, et al. Genomic characterization of Nontuberculous Mycobacteria. Sci Rep. 2017 Mar 27;7:45258. doi: 10.1038/srep45258.
- [62.] Zimenkov, D. Variability of Mycobacterium avium Complex Isolates Drug Susceptibility Testing by Broth Microdilution. Antibiotics 2022, 11, 1756. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11121756>
- [63.] Maurer FP, et al. Differential drug susceptibility patterns of Mycobacterium chimaera and other members of the Mycobacterium avium-intracellulare complex. Clin Microbiol Infect. 2019 Mar;25(3):379.e1-379.e7. doi: 10.1016/j.cmi.2018.06.010. Epub 2018 Jun 12

X. FEJLESZTÉS MÓDSZERE

1. Fejlesztőcsoport megalakulása, a fejlesztési folyamat és a feladatok dokumentálásának módja

Az Egészségügyi Szakmai Kollégium Klinikai és járványügyi mikrobiológia Tagozat elnöke kijelölte az irányelvfejlesztő csoport tagjait és felelősét. A fejlesztőcsoport azonosította azokat a nemzetközi irányelveket és konszenzusos javaslatokat, amelyek adaptálhatók a hazai viszonyokra.

2. Irodalomkeresés, szelekció

Alapvetően a témakör meghatározó nemzetközi szervezeteinek előző egészségügyi szakmai irányelvünk óta megjelent vagy frissítésre került kézikönyveit vettük alapul. Az irodalomkutatás 2023. november 22-én zárult le. Ezek forráshelyei az alábbi honlapok:

TB

<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/handbook-tuberculosis-laboratory-diagnostic-methods-european-union-updated-2023>
<https://medicalguidelines.msf.org/en/viewport/TUB/english/tuberculosis-20321086.html>
<https://www.tbnet.eu/pub-beta>
<https://tbksp.org/en>
<https://tbksp.org/en/guidance-books-solr>
<https://tbksp.org/en/implementation-books-solr>
<https://tbksp.org/en/recommendation/page-1>
<https://stoptb.org/wg/gli/srt.asp>

NTM

<http://www.ntm-net.org/index.php/education>
https://thorax.bmj.com/content/71/Suppl_1/i1.long
<https://www.brit-thoracic.org.uk/quality-improvement/guidelines/ntm/>
<https://www.thoracic.org/statements/guideline-implementation-tools/treatment-of-ntm.php>

Valamennyi, a mycobacteriologia témakörében megjelent dokumentum feldolgozásra került, szelekciót csak az azokon belül lévő ajánlásokban végeztünk, az egészségügyi szakmai irányelv hatókörének megfelelően.

A fellelt tanulmányokból azokat választottuk ki, amelyek a kézikönyvek ajánlásaihoz mértén kiegészítő információval szolgáltak, és angol nyelven jelentek meg.

Keresőszavak:

M. tuberculosis diagnosis, Non-tuberculosis mycobacteria diagnosis, Molecular methods, MDR tuberculosis XDR tuberculosis INH resistant tuberculosis, WHO recommended methods in TB diagnosis, Diagnostic algorithm TB.

3. Felhasznált bizonyítékok erősségének, hiányosságainak leírása (kritikus értékelés, „bizonyíték vagy ajánlás mátrix”), bizonyítékok szintjének meghatározási módja

Az GRADE handbook alapján került értékelésre, illetve, ahol a nemzetközi irányelv, javaslat nyilatkozott a bizonyíték szintjéről, ott az került adaptálásra.

4. Ajánlások kialakításának módszere

A fejlesztőcsoport a releváns nemzetközi szervezetek irányelveinek ajánlásait alapvetően iránymutatónak tartja a hazai ellátási gyakorlatra. A rangsorolást a IV. fejezet 4. pontjában lefektetett elvek szerint a szerzők végezték el.

5. Véleményezés módszere

Az egészségügyi szakmai irányelv megküldésre került az egészségügyi ellátási folyamatban érintett Egészségügyi Szakmai Kollégium Tagozatoknak véleményezésre.

A visszaérkező javaslatok beillesztésre kerültek az irányelv szövegébe, vagy azok alapján módosításra került a dokumentum szerkezete, amennyiben az irányelvfejlesztők egyetértettek azok tartalmával. Az egészségügyi szakmai irányelvben foglaltak megfelelnek a véleményezőkkal kialakított konszenzusnak.

6. Független szakértői véleményezés módszere

Nem került bevonásra.

XI. MELLÉKLET

1. Alkalmazást segítő dokumentumok

1.1. Betegtájékoztató, oktatási anyagok

Nem készültek.

1.2. Tevékenységsorozat elvégzésekor használt ellenőrző kérdőívek, adatlapok

Nem készültek.

1.3. Táblázatok

1. táblázat: A mikroszkópos vizsgálatok értékelése [12 adaptálva]

Mikroszkópos vizsgálat értékelése	
lelet	Mikroszkópos vizsgálat (1000x nagyítás)
Negatív	0 saválló pálca/kenet
Pozitív 1-9	1-9 saválló pálca/100 látómező
Pozitív 1+	10-100 saválló pálca/100 látómező
Pozitív 2+	1-10 saválló pálca/1 látómező
Pozitív 3+	10+ saválló pálca/1 látómező

látómező (HPF: High Power Field, immerziós objektív látómező)

2. táblázat: A TB kezelésében használt első és második vonalbeli szerekkel szembeni érzékenység vizsgálata céljából ajánlott kritikus koncentrációk [26]

Anti-TB szer	LJ	7H10	7H11	MGIT
INH	0,2	0,2	0,2	0,1
RIFAMPICIN	40,0	0,5	1,0	0,5
RIFABUTIN	-	-	-	-
RIFAPENTIN	-	-	-	-

3. táblázat: RR/MDR-TB kezelésében használt szerek kritikus koncentráció értékei [26]

Csoportok és lépések	Szerek	LJ	7H10	7H11	MGIT
A csoport mindhárom szert alkalmazni	Levofloxacin	2,0	1,0	-	1,0
	Moxifloxacin (CC)	1,0	0,5	0,5	0,25
	Moxifloxacin (CB)	-	2,0	-	1,0
	Bedaquiline	-	-	0,25	1,0
	Linezolid	-	1,0	1,0	1,0
B csoport egyik vagy mindkét szer	Clofazimin	-	-	-	1,0
	Cycloserine/terizidone	-	-	-	-
C csoport kiegészítésképpen vagy ha az „A” és „B” csoportba tartozó szerek nem adhatók	Ethambutol	2,0	5,0	7,5	5,0
	Delamanid	-	-	0,016	0,06
	Pyrazinamide	-	-	-	100,0
	Imipenem-cilastatin	-	-	-	-
	Meropenem	-	-	-	-
	Amikacin	30,0	2,0	-	1,0
	Ethionamide	40,0	5,0	10,0	5,0
	Prothionamide	40,0	-	-	2,5
	PAS	-	-	-	-

CC: kritikus koncentráció, CB: klinikai breakpoint. Az MGIT rendszerben a pretomanidra ideiglenes 1 mg/l breakpoint-ot javasolt az EMA, az EUCAST pedig 2 mg/l értéket, ameddig megfelelő mennyiségű adat birtokába jutunk a MIC meghatározások alkalmazásával. A WHO még nem javasolt kritikus koncentráció értéket erre a szerre.

4. táblázat: Meghatározások a rezisztens MTBC törzsek osztályozásához [25]

	2006 WHO	2021 WHO
RR TUBERKULÓZIS	RIF	RIF
MDR	RIF+INH	RIF+INH
PRE-XDR	-	MDR/RR+FQ
XDR	MDR/RR+FQ+SLID	MDR/RR+FQ+BDQ/LZD MDR/RR+FQ+BDQ+LZD

RR: rifampicin rezisztens, MDR: multi-drug rezisztens, FQ: fluoroquinolon (levofloxacin, moxifloxacin), XDR: kiterjedt gyógyszerrezisztens (extensively drug resistant), SLID: második vonalbeli injektábilis szerek (amikacin, capreomycin, kanamycin)

5. táblázat: WHO és/vagy ECDC által jóváhagyott eljárások TB diagnosztikához [7]

Eljárás és használata	Munkamenet	Megjegyzés
Hagyományos eljárások kezdeti diagnosztikai tesztként pulmonális és extrapulmonalis TB gyanújában		
Saválló pálcák mikroszkópos vizsgálata MTBC kimutatására, laboratóriumi kórisme vagy a kezelés hatásosságának követése végett	konvencionális fénymikroszkópia ZN festéssel	LED fluoreszcenciás mikroszkópia mintegy 10%-kal érzékenyebb és a vizsgálati idő számottevően rövidebb, mint konvencionális mikroszkóppal.
	konvencionális fluoreszcenciás mikroszkópia	WHO ajánlja a konvencionális mikroszkópia felváltását LED fluoreszcenciás mikroszkópiával.
	LED fluoreszcenciás mikroszkópia	Közvetlen kenetvizsgálat alacsony kockázati fokozatú TB laboratóriumban végezhető. Dúsított minták feldolgozása kenet-mikroszkópia végett közepes kockázatú TB laboratóriumban végzendő. A vizsgálat idő 15-30 perc.
Baktériumtenyésztés MTBC kimutatására, laboratóriumi kórisme vagy a kezelés hatásosságának követése végett vagy MTBC izolálására baktérium-kultúrákból	Löwenstein-Jensen táptalajon (tojás alapú)	Felülfertőződés elfogadható mértéke 3-5%.
	Middlebrook 7H10 vagy 7H11 táptalajon (agar alapú)	A minták feldolgozását a mérsékelt kockázati TB laboratóriumok végezzék.
	folyékony táptalajokon (pl. BACTEC™ MGIT™ 960 TB System [Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD])	Az eredményközlési idő 3-8 hét, és a minta tenyésztés alapú negatív mivolta nem jelenthető ki korábban, mint 8 hét inkubáció után.
Immunkromatográfiai assay szilárd vagy folyékony táptalajokon létrehozott tenyészetekből izolált baktériumokkal	Capilia TB Neo (Tauns Laboratories, Numazu, Japan)	- baktériumtenyészetekkel használható
	TB AG MPT64 Rapid Test® (SD Bioline Kyonggi-do, Koreai Közt.)	- fajmeghatározási eljárások bármilyen mycobacterium izolátumokra alkalmazhatók
	TbCID® (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD)	- a tenyészetek feldolgozását a magas kockázati TB laboratóriumok végezzék, a vizsgálati idő 15 perc
Gyorsteszték kezdeti diagnosztikai tesztként pulmonalis TB gyanújában MTBC kimutatására rezisztenciavizsgálat nélkül		
NAAT MTBC kimutatására	Loopamp MTBC detection kit (Eiken Chemical Company Ltd., Japan)	- köpet- és bronchoalveolaris mosadék vizsgálatára ajánlott - alkalmazható perifériás laboratóriumban (ahol mikroszkópiát végeznek) - nem helyettesítheti be azokat a molekuláris WRD-atket, amelyek a TB baktériumot és a rezisztenciákat mutatják ki - mérsékelt kockázati TB laboratóriumokban végezhető - vizsgálati idő 90 perc
Gyors antigén-kimutatási teszt MTBC-re	LF-LAM assay (pl. Alere Determine™ Urine TB LAM Ag test [Alere Inc, Waltham, USA])	- vizeletminta vizsgálatára ajánlott - betegágy mellett is elvégezhető, a minimális biosafety igények miatt - HIV-fertőzött esetekben ajánlott, mind pulmonalis, mind extrapulmonalis lokalizációjú TB folyamatok gyanújában - a vizsgálati idő 30 perc
Gyors molekuláris tesztek kezdeti diagnosztikai tesztként pulmonalis TB gyanújában MTBC kimutatására rifampicin rezisztencia vizsgálatával		

Automatizált NAAT MTBC és rifampicin rezisztencia kimutatására	Xpert MTB/RIF assay (Cepheid, Sunnyville, CA, USA)	<ul style="list-style-type: none"> - pulmonális és bizonyos extrapulmonális minták vizsgálatára - alkalmas bármilyen szintű megfelelő infrastruktúrával rendelkező laboratóriumi használatra - alkalmazható alacsony kockázatú TB laboratóriumban - a vizsgálati idő 2 óra (MTB/RIF), 30 perc (MTB Ultra)
	Xpert MTB/RIF Ultra assay (Cepheid, Sunnyville, CA, USA)	
	Truenat MTB, MTB Plus and MTB-RIF Dx (Molbio Diagnostics, Goa India)	<ul style="list-style-type: none"> - köpet- és bronchoalveolaris mosadék vizsgálatára ajánlott - alkalmazható perifériás laboratóriumban -akkumulátoros működtetésű egységek is léteznek - alkalmazható alacsony kockázatú TB laboratóriumban - a vizsgálati idő 1 óra (kórokozó kimutatása) és további még 1 óra (rezisztenciavizsgálat)
Gyors molekuláris tesztek kezdeti diagnosztikai tesztként pulmonális TB gyanújában MTBC kimutatására rifampicin és isoniazid rezisztencia vizsgálatával		
Mérsékelt komplexitású automatizált NAAT MTBC és RIF és INH rezisztencia kimutatására	RealTime MTB és MTB RIF/INH assay-k (Abbott Laboratories, Abbott Park, USA)	<ul style="list-style-type: none"> - köpet- és bronchoalveolaris mosadék vizsgálatára ajánlott - központi (referencia) és köztes szintű laboratóriumban alkalmazható az infrastrukturális, karbantartási és kompetencia feltételek okán - alacsony kockázati szintű laboratóriumban alkalmazható - a vizsgálati idő 7 óra (kórokozó kimutatása) és további még 3,5 óra (rezisztenciavizsgálat) a RealTime eljáráskor - a vizsgálati idő 4,5 óra a BD MAX eljáráskor - a vizsgálati idő 2,5 óra a FluoroType eljáráskor - a vizsgálati idő 5,5 óra (kórokozó kimutatása) és további még 3,5 óra (rezisztenciavizsgálat) a cobas eljáráskor
	BD MAX MDR assay (Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA)	
	FluoroType MTB és MTBDR assay, (Brucker/Hain Lifescience, Nehren, Germany)	
	cobas MTB és MBT-RIF/INH, assay-k, (Hoffmann-La Roche, Basel, Switzerland)	
Hagyományos tesztek antituberkulotikum szerekkel szembeni rezisztencia vizsgálatára		
Fenotípusos rezisztenciavizsgálat (indirekt eljárás)	szilárd táptalajok: Löwenstein-Jensen és Middlebrook 7H10 vagy 7H11	<ul style="list-style-type: none"> - indirekt fenotípusos rezisztenciavizsgálat tenyésztési izolátumból - központi (referencia) és köztes szintű, fejlett laboratóriumban alkalmazható infrastrukturális, karbantartási és kompetencia feltételek okán - tenyészetek feldolgozása a magas kockázati TB laboratóriumok végezzék - a vizsgálati idő 3-4 hét + a tenyésztés ideje szilárd táptalajoknál - a vizsgálati idő 1-3 hét + a tenyésztés ideje folyékony táptalajoknál
Fenotípusos rezisztenciavizsgálat - legalább RIFA, INH és FQ szükséges és erősen ajánlott MDR TB-ben használt A csoportú antituberkulotikumokra	folyékony táptalajok: BACTEC™ MGIT™ 960 TB System (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD)	
Gyors molekuláris tesztek bakteriologailag igazolt pulmonális TB esetén antituberkulotikumokkal szembeni rezisztencia vizsgálatára		
FL-LPA: reverz hibridizációs assay INH és RIF rezisztencia kimutatására	GenoType MTBDRplus, (Brucker/Hain Lifescience, Nehren, Germany)	

	NTM+MDRTB Detection Kit (Nipro Corporation, Osaka, Japan)	<ul style="list-style-type: none"> - ajánlott baktériumtenyészet-izolátumokra és kenetből mikroszkópiával saválló pálcákra pozitív mintákra - köztes szintű laboratóriumban alkalmazható infrastrukturális, karbantartási és kompetencia feltételek okán - a köpetek feldolgozása közepes kockázatú TB laboratóriumban végzendő - a tenyészetek feldolgozása magas kockázatú TB laboratóriumban végzendő - a vizsgálati idő 1-2 nap
FL-LPA: reverz hibridizációs assay FQ és AMK rezisztencia kimutatására	GenoType MTBDRplus, (Bruker/Hain Lifescience, Nehren, Germany)	<ul style="list-style-type: none"> - ajánlott baktériumtenyészet-izolátumokra és kenetből mikroszkópiával saválló pálcákra pozitív mintákra - köztes szintű és magas szintű laboratóriumban alkalmazható infrastrukturális, karbantartási és kompetencia feltételek okán - a köpetek feldolgozása közepes kockázatú TB laboratóriumban végzendő - a tenyészetek feldolgozása magas kockázatú TB laboratóriumban végzendő - a vizsgálati idő 1-2 nap
LC-aNAAT az INH és második vonalbeli anti-TB szerekkel (FQ, ETO, AMK) szembeni rezisztencia kimutatására	Xpert MTB/XDR assay (Cepheid, Sunnyville, CA, USA) 10 színű GeneXpert készülék igényel	<ul style="list-style-type: none"> - köpet vizsgálatára ajánlott - megfelelő infrastruktúra léte esetén bármilyen szintű TB laboratóriumban végezhető - alacsony kockázati szintű laboratóriumban alkalmazható - vizsgálati idő 90 perc
HC-aNAAT a PZA szembeni rezisztencia kimutatására	Genoscholar PZA-TB II test (Nipro Corporation, Osaka, Japan)	<ul style="list-style-type: none"> - ajánlott baktériumtenyészet-izolátumokra - köztes szintű és magas szintű laboratóriumban alkalmazható infrastrukturális, karbantartási és kompetencia feltételek okán - a tenyészetek feldolgozása magas kockázatú TB laboratóriumban végzendő - a vizsgálati idő 1-2 nap + a tenyésztés ideje

6. táblázat: A minták alkalmassága egyes bakteriológiai és molekuláris biológiai eljárásokra [7]

Minta (kóros anyag, váladék)	Eljárás (teszt)
légúti vagy extrapulmonáris minták	Xpert, közvetlen mikroszkópos vizsgálat, tenyészet
köpet, kizárólag pozitív kenettel, <i>M. tuberculosis</i> izolátum	GenoType MTBDRplus ver2.
köpet (pozitív vagy negatív kenettel), <i>M. tuberculosis</i> izolátum	GenoType MTBDRsl ver2.
köpet (pozitív vagy negatív kenettel)	Truenat
légúti és extrapulmonális minták, légúti minták, légúti minták, <i>M. tuberculosis</i> izolátum, légúti minták, <i>M. tuberculosis</i> izolátum, Mycobacterium izolátum, légúti minták	mérsékelt komplexitású NAAT: FluoroType MTB FluoroType MTB 2 FluoroType MTBDR Liquid Array MTB-XDR FluoroType Mycobacteria ver1 Liquid ArrayMycobacteria direct (2024)
Mycobacterium izolátum	Genoscholar NTM + MDRTB II

<i>M. tuberculosis</i> izolátum	Genoscholar PZA-TB II
köpet, kizárólag pozitív kenettel	tNGS
<i>M. tuberculosis</i> izolátum	
<i>M. tuberculosis</i> izolátum	WGS

7. táblázat: Bakteriológiai igazolt: pozitív DNAM (PCR) és/vagy pozitív tenyésztési eredmény [saját szerkesztés]

Diagnosztikai módszer	BAKTERIOLÓGIAILAG IGAZOLT új tbc eset		
	a,	b,	c,
direkt molekuláris DNAM diagnosztika (PCR) tenyésztés	pozitív pozitív	negatív/nincs pozitív	pozitív negatív/nincs

8. táblázat: Direkt mikroszkópos vizsgálat és a direkt molekuláris nukleinsav amplifikációs módszer DNAM (PCR) eredményeinek együttes értékelése [saját szerkesztés]

Mikroszkópos vizsgálat (Z-N) saválló pálcák	DNAM XPERT MTB RIF Ultra	Értékelés
pozitív	pozitív	<i>M. tuberculosis</i> komplex fertőzés (MTBC)
pozitív	negatív	NTM jelenléte, lehetséges direkt molekuláris NTM kimutatás (GenoType Direct CM – Common Mycobacteria), faj meghatározással
negatív	pozitív	<i>M. tuberculosis</i> komplex fertőzés (MTBC)

9. táblázat: Genotípusos (gDST) és fenotípusos (pDST) érzékenységi vizsgálatok eltérő eredményeinek értékelése és magyarázata [20]

XpertMTB/RIF Minta	FL-LPA rpoB	Lelet	Kezelés	pDST	Magyarázat/ lehetséges laborhibák	Tennivaló
RIF-R	R WT- MUT+	RIF-R az Xpert eredmény alapján	SL kezelés megkezdése majd esetleges módosítás az SL-LPA és pDST eredmények alapján	RIF-R	rpoB gén tipikus mutációja	leletkiadás
RIF-É	É WT+ MUT-	RIF-É	FL kezelés	RIF-É	rpoB gén: nincs kimutatható mutáció	leletkiadás
RIF-R	R WT - MUT+	RIF-R az Xpert eredmény alapján	SL kezelés megkezdése majd esetleges módosítás az SL-LPA és pDST eredmények alapján	RIF-É	<ul style="list-style-type: none"> - hibás pDST - kevés baktériumszuszpenzió - nem megfelelő RIF koncentráció - ha kizárható a pDST hiba, alacsony szintű rezisztenciát okozó mutációk jelenléte valószínűsíthető 	<p>pDST ismétlés</p> <p>RIF koncentráció ellenőrzése</p>
RIF-R	R valószínűsíthető WT- MUT-	RIF-R az Xpert eredmény alapján	SL kezelés megkezdése majd esetleges módosítás az SL-LPA és pDST eredmények alapján	RIF-R	a mutáció nem mutatható ki az FL-LPA módszerrel	leletkiadás
RIF-R	R WT+ MUT+	RIF-R kevert fertőzés RIF-R és É törzssel	SL kezelés megkezdése majd esetleges módosítás az SL-LPA és pDST eredmények alapján	RIF-R	heterorezisztencia	FL-LPA ismétlése a pDST tenyészetből szekvenálás (kettős csúcs)
RIF-R	R valószínűsíthető WT- MUT-	RIF-R az Xpert eredmény alapján Ha szekvenálás végezhető és silent mutáció van jelen, kiadható RIF-É	SL kezelés megkezdése majd esetleges módosítás az SL-LPA és pDST eredmények alapján	RIF-É	<ul style="list-style-type: none"> - hibás pDST - kevés baktériumszuszpenzió - nem megfelelő RIF koncentráció 	<p>pDST ismétlés</p> <p>RIF koncentráció ellenőrzése</p>

XpertMTB/RIF Minta	FL-LPA rpoB	Lelet	Kezelés	pDST	Magyarázat/ lehetséges laborhibák	Tennivaló
		eredmény, egyébként RIF-R. Meg kell határozni a RIF MIC értéket az alacsony szintű rezisztencia kimutatásához.			- silent vagy ritka mutáció	Szekvenálás
RIF-R	É WT+ MUT-	RIF-É RIF-R kevert fertőzés?		RIF-É	hibás XPERT pl. mintacsere miatt, kontamináció heterorezisztencia	<ul style="list-style-type: none"> - ismételni: FL-LPA, pDST más izolátumból - ellenőrizni a mintákat, amelyek a kérdéses minta szomszédságában voltak - Xpert ismétlése más mintából, pDST ismétlése a páciens más törzseiből
RIF-É	É WT+ MUT-	RIF-É RIF rezisztencia genetikai markerei nem azonosíthatók, pDST nem végezhető NTM jelenléte miatt RIF rezisztencia RIF rezisztencia kevert fertőzés rezisztens és érzékeny törzssel		RIF-R	Hibás pDST. Pl. nem volt hozzáadva RIF, vagy kontamináció. Kevert MTBC és NTM fertőzés. A mutációk az rpoB 511-524 hotspot régió kívül esnek.	<ul style="list-style-type: none"> - pDST ismétlése mikroszkópos vizsgálat, kiolár véres agarra a pDST tenyészetből - HAIN CM a RIF MGIT csőből, ismételni a pDST-t más izolátumból - rpoB szekvenálás (RRDR régió kívül) FL-LPA világos csíkok keresése

XpertMTB/RIF Minta	FL-LPA rpoB	Lelet	Kezelés	pDST	Magyarázat/ lehetséges laborhibák	Tennivaló
					Heterorezisztencia.	- FL-LPA ismétlése a pDST MGIT csőből - -szekvenálás
RIF-É	R WT+ MUT+			RIF-É	Laborhiba (FL-LPA kontaminációja)	Negatív kontroll ellenőrzése. FL-LPA ismétlése.

10. táblázat: A mycobacteriologiai laboratóriumok feladatai és felelősségei [7]

Laboratórium besorolása	Feladatok és felelősségek
<p>M1 PERIFÉRIÁS (decentrum) LABORATÓRIUM</p>	<p>Fogadja a mintákat.</p> <p>Előkészíti, megfesti és megvizsgálja a keneteket Ziehl-Neelsen szerint mikroszkópiára.</p> <p>Alkalmazhatja az Xpert MTB/RIF és az Ultra eljárásokat, a Truenat MTB és a Truenat MTB-RIF Dx eljárásokat kezdeti diagnosztikus tesztként MBTB és rifampicin-rezisztencia azonosítására.</p> <p>Alkalmazhatja a TB-LAMP eljárást a kenet vizsgálata helyett pulmonalis TB gyanújában, felnőttek és gyermekek esetén, a nemzeti diagnosztikai irányelveknek megfelelően.</p> <p>Alkalmazhatja az LF-LAM eljárást diagnosztikai segédeszköz gyanánt HIV pozitív eseteknél.</p> <p>Alkalmazhatja az LC-aNAAT eljárást fluorokinolon, izoniazid, etionamid és amikacin –rezisztenciák kialakulására és követésére.</p> <p>Tevékenységeinek adatait feljegyzi és jelenti a nemzeti irányelvek szerint.</p> <p>Laboratóriumi nyilvántartásokat vezet.</p> <p>Tiszán és karban tartja a felszereléseit.</p> <p>Adminisztrálja a vegyszereit és laboratóriumi ellátását.</p> <p>Megfelelő minőségbiztosítási és minőségellenőrzési eljárásokat alkalmaz.</p> <p>Részt vesz EQA programokban (pl. vakított újraellenőrzés, teszt-panelek elvégzése, felügyelő ellenőrzések).</p> <p>Megfelelő biosafety eljárások szerint működik.</p> <p>Megfelelően csomagol mintákat és azokat magasabb szintű laboratóriumok küldi.</p>
<p>M2 KÖZÉP SZINTŰ (decentrum) LABORATÓRIUM</p>	<p>Minden olyan műveletet végez, amelyeket az 1. szintű laboratórium.</p> <p>Alkalmazhat MC-aNAAT eljárást rifampicin és izoniazid–rezisztenciák kialakulására és követésére.</p> <p>Alkalmazhat FL-LPA eljárást MTBC közvetlen kimutatására és izoniazid és rifampicin–rezisztenciát okozó mutációk kimutatására olyan feldolgozott köpetmintákból, amelyek AFB-pozitívak.</p> <p>Alkalmazhat kezdeti diagnosztikai módszerként SL-LPA eljárást MDR/RR-TB pozitív köpetmintákra fluorokinolon és amikacin – rezisztenciák kialakulására és követésére.</p> <p>Minták emésztését és dekontaminációját végzi, leoltásokat végez tenyészetek létrehozása végett.</p> <p>Tenyésztést alkalmaz az MBTC kimutatására.</p> <p>A pozitív tenyészeteket magasabb szintű laboratóriumok felé referálja fenotípusos rezisztenciavizsgálatok végett.</p>

	<p>Mikroszkópos szakemberek betanítását végzi és felügyeli a perifériás szinten dolgozó szakemberek ilyen jellegű munkáját és a WRD-k használatát.</p> <p>Elkészít és kioszt mikrotechnikai reagenseket a perifériás laboratóriumok számára.</p> <p>Szakszerűségi vizsgálatokban vesz részt a perifériás laboratóriumok minőségjavítási tevékenységében.</p>
<p>M3 HARMADIK SZINTŰ (NEMZETI REFERENCIA) LABORATÓRIUM</p>	<p>Minden olyan műveletet végez, amelyeket az 1. és a 2. szintű laboratóriumok.</p> <p>Szorosan együttműködik a nemzeti TB-programmal.</p> <p>Stratégiai felügyeletet végez a hálózathoz tartozó laboratóriumok működése, a tevékenységük minősége és a laboratóriumhálózat TB diagnosztikát illető működési hatékonysága fölött.</p> <p>Fenotípusos vizsgálatokat végez MBTC izolátumokon első- és második vonalbeli anti-tuberkulotikum rezisztencia felderítése végett.</p> <p>Pozitív MTBC tenyészeteken rifampicin-rezisztencia vizsgálatokat végez, akár izoniazid-rezisztencia vizsgálattal kombinálva.</p> <p>FL-LPA vizsgálatot végezhet MBTC és azok izoniazid és rifampicin-rezisztenciájának a közvetlen kimutatására.</p> <p>SL-LPA eljárást alkalmazhat kezdeti diagnózis gyanánt fluorokinolon és amikacin-rezisztencia kimutatására MDR/RR-TB pozitív tenyészetekből.</p> <p>Alkalmazhat HC-rNAAT eljárást pirazinamid rezisztencia kimutatására pozitív tenyészetekből.</p> <p>Alkalmazhat NGS vizsgálatokat anti-TB-rezisztenciát okozó mutációk azonosítása végett a DR-TB surveillance rendszerében, a WHO iránymutatásai és ajánlásai szerint.</p> <p>NTM azonosítást végezhet.</p> <p>A laboratóriumi felszerelések kalibrálását, felülvizsgálatát és ellenőrzését kezdeményezi.</p> <p>Naprakészre állít és terjeszt laboratóriumi kézikönyveket, iránymutatásokat, a kórisme, a laboratóriumi eljárások, a felszerelés karbantartása, a képzés, a felügyelet és a minőségellenőrzés vonatkozásaiban.</p> <p>Terjeszthet, szétoszthat laboratóriumi anyagokat, fogyóanyagokat más szintű egységeknek.</p> <p>Felügyeli a diagnosztikai módszerek bevezetését és használatát köztes szintű laboratóriumokban, és monitorozza azoknak a perifériás laboratóriumok fölött gyakorolt felügyeletét.</p> <p>Elvégzi a köztes szintű laboratóriumok minden tevékenységének a minőségbiztosítási felügyeletét, beleértve a mikroszkópos vizsgálatokat, a WHO-ajánlott tesztek, a baktériumtenyésztést és a fenotípusos vizsgálatokat.</p>

	<p>Felügyeli, hogy megfelelő szakképzési és emberi erőforrásfejlesztési programok valósuljanak meg, beleértve a betanítást, a továbbképzést, és a kompetenciák ellenőrzését.</p> <p>Anti-TB-rezisztencia surveillance tevékenységet végez.</p> <p>Működtetési és alkalmazott kutatási vizsgálatokat végez a laboratóriumi hálózat vonatkozásában és ezt összehangolja a nemzeti TB-program előírásaival és szükségleteivel.</p> <p>Formális együttműködést alakít ki és tart fenn a TB Supranational referencia laboratóriummal panel-tesztelés, új diagnosztikai eljárások bevezetése és validálása, laboratóriumfejlesztés segédlete, kiterjesztési stratégiák és szakmai kihívásokat jelentő vizsgálatok elvégzése végett.</p>
--	---

11. táblázat: 8 órás munkanap alatt elvégezhető műveletek [7]

Mikroszkópizálás:	20-25 kenet/munkaerő
Baktériumtenyészetek feldolgozása, készítmények előállítása:	20-40/munkaerő
Fenotípusos vizsgálatok, akár szilárd, akár folyékony táptalajon:	10-20/munkaerő
FL-LPA és SL-LPA:	12-24/készülék
Loopamp MTBC (TB-LAMP teszt):	12-18/készülék
XPertMTB/RIF, Ultra vagy MRB/XDR assay 4 modulós készülékben:	12-16/készülék
Truenat MTB, MTB Plus és MTB-RIF Dx Quatro készülékben:	36/készülék
RealTime MTB és MTB RIF/INH:	94/készülék
FluoroType MTB és MTBDR:	288/készülék
BD MAX MDR-TB:	48/készülék
Cobas MTB és MTB RIF/INH:	384/1056/készülék
Genoscholar PZA-TB Multi-Blot NS-4800-al:	48/készülék

12. táblázat: MINŐSÉGBIZTOSÍTÁSI (MB) ELEMÉK A TB DIAGOSZTIKAI ELJÁRÁSOKBAN [7]

ELJÁRÁS (TESZT)	MINŐSÉG KÖVETÉSI PERIÓDUS (MONITORING) INDIKÁTOR	MINŐSÉGELENŐRZÉS	SZAKMAISÁG ELLENŐRZÉSI PERIODICITÁS	HELYSZÍNI FELVIGYÁZÁS	VAKÍTOTT ÚJRAELLENŐRZÉS
kenet mikroszkópos vizsgálata	havonta	MB a helyileg előállított festékekre beérkező (beszállítói) MB a beszerzett festékek újabb szállítmányaira egy-egy ismerten pozitív és ismerten negatív kenet festése, kiértékelése keresztellenőrzés (<i>cross check</i>) egy másik kiértékelő személlyel	ajánlott évente legalább egyszer	általában negyedévente, adatszolgáltatás a nemzeti TP látogatása alkalmával	ajánlott lemezeolvasási gyakorlat általában negyedévente lemezek újrafestése megfontolandó
kenet fluoreszcens mikroszkópos vizsgálata	havonta	MB a helyileg előállított festékekre beérkező (beszállítói) MB a beszerzett festékek újabb szállítmányaira egy-egy ismerten pozitív és ismerten negatív kenet festése, kiértékelése keresztellenőrzés (<i>cross check</i>) egy másik kiértékelő személlyel	ajánlott évente legalább egyszer	általában negyedévente, adatszolgáltatás a nemzeti TP látogatása alkalmával	ajánlott lemezeolvasási gyakorlat általában negyedévente lemezek újrafestése megfontolandó
baktériumtenyészet szilárd táptalajon	havonta	MB a helyileg előállított táptalajokra beérkező MB a beszerzett	PT a tenyészetre nem ajánlatos PT használható	az NRL számára szolgáltathatja az SRL vagy más, technikai hátteret biztosító partner	nem ajánlatos

ELJÁRÁS (TESZT)	MINŐSÉG KÖVETÉSI PERIÓDUS (MONITORING) INDIKÁTOR	MINŐSÉGELENŐRZÉS	SZAKMAISÁG ELLENŐRZÉSI PERIODICITÁS	HELYSZÍNI FELVIGYÁZÁS	VAKÍTOTT ÚJRAELLENŐRZÉS
		festékek újabb szállítmányaira feldolgozni egy ismert pozitív antituberkulotikum-érzékeny mintát és egy ismert negatív mintát (pl. PBS, dekontamináló oldat) minden házilag előállított sorozatból keresztellenőrzés (<i>cross check</i>) egy másik kiértékelő személlyel	azonosításra MTBC és NTM izolátumokra	más szintű laboratórium számára az NRL vagy más tapasztalt szervezet legalább évente látogatást biztosít	
baktériumtenyészet folyékony táptalajon	havonta	MB a helyileg előállított összetevőkre (pl. a dekontamináló szerekre) beérkező MB a beszerzett vegyszerek újabb szállítmányaira feldolgozni egy ismert pozitív antituberkulotikum-érzékeny mintát és egy ismert negatív mintát (pl. PBS, dekontamináló oldat) minden házilag előállított sorozatból keresztellenőrzés (<i>cross check</i>) egy másik kiértékelő személlyel	külső ME a tenyészetre nem ajánlatos külső ME használható azonosításra MTBC és NTM izolátumokra	az NRL számára szolgáltathatja az SRL vagy más, technikai hátteret biztosító partner más szintű laboratórium számára az NRL vagy más tapasztalt szervezet biztosítson évente legalább egy látogatást	nem ajánlatos
species azonosító eljárások	havonta	beérkező MB a beszerzett vegyszerek újabb szállítmányaira	species azonosítás belefoglalt a tenyésztéses	része a folyékony táptalajon végzett tenyésztésnek	nem ajánlott

ELJÁRÁS (TESZT)	MINŐSÉG KÖVETÉSI PERIÓDUS (MONITORING) INDIKÁTOR	MINŐSÉGELENŐRZÉS	SZAKMAISÁG ELLENŐRZÉSI PERIODICITÁS	HELYSZÍNI FELVIGYÁZÁS	VAKÍTOTT ÚJRAELLENŐRZÉS
		pozitív tenyészet kontrollok minden szállítmányhoz és hozzátenni pozitív MBTC és negatív <i>M. avium</i> , <i>M. intracellulare</i> vagy <i>M. kansasii</i> mintákat immunkromatográfiai tesztre	fenotípusos érzékenységi vizsgálat külső ME folyamatba		
tenyésztésalapú fenotípusos érzékenységi vizsgálat első vonalbeli szerekre	havonta	MB a helyileg előállított táptalajokra és vegyszerekre beérkező MB a beszerzett táptalajok újabb szállítmányaira feldolgozni egy ismert pozitív, jól jellemzett antituberkulotikum-érzékeny MTBC mintát és egy ismert negatív mintát (pl. PBS, dekontamináló oldat vagy más baktérium) minden házilag előállított sorozatból belső ME: kereszt-visszaigazolás egy másik kiértékelő személy által	ajánlott évente legalább egyszer SNL biztosítja évente legalább egyszer külső szolgáltatók léteznek	a NRL számára szolgáltathatja a SRL vagy más, technikai háttérrel biztosító partner más szintű laboratórium számára a NRL vagy más tapasztalt szervezet biztosítson évente legalább egy látogatást	minden laboratórium a fölötte levő szinttel formális kapcsolatot alakít ki és a magasabb szintű laboratórium elvégezheti az izolátumok fenotípusos érzékenységi eljárások ellenőrzését az elvárt egyezés a RIF és az INH fenotípusos érzékenységi eljárásokban >95%, és meg kell állapítani egyezési normát más szerekre is
tenyésztésalapú fenotípusos érzékenységi vizsgálat második	havonta	MB a helyileg előállított táptalajokra és vegyszerekre beérkező MB a beszerzett táptalajok újabb szállítmányaira	ajánlott évente legalább egyszer az SRL szolgáltatója	az NRL számára a második vonalbeli szerekkel szembeni tenyésztésalapú fenotípusos érzékenységi vizsgálatokban tapasztalt SRL szolgáltathatja	minden laboratórium a fölötte levő szinttel formális kapcsolatot alakít ki és a magasabb szintű laboratórium elvégezheti az izolátumoknak a második vonalbeli szerekkel szembeni

ELJÁRÁS (TESZT)	MINŐSÉG KÖVETÉSI PERIÓDUS (MONITORING) INDIKÁTOR	MINŐSÉGELENŐRZÉS	SZAKMAISÁG ELLENŐRZÉSI PERIODICITÁS	HELYSZÍNI FELVIGYÁZÁS	VAKÍTOTT ÚJRAELLENŐRZÉS
vonalbeli szerekre		feldolgozni egy ismert pozitív, jól jellemzett antituberkulotikum-érzékeny MTBC mintát és egy ismerten rezisztens MTBC, jól jellemzett mintát belső ME: kereszt- visszaigazolás egy másik kiértékelő személy által			fenotípusos érzékenységi eljárások ellenőrzését
nukleinsav amplifikáción és reverz hibridizáción alapuló (Line- probe assay-k) eljárások: FL-LPA RIF és INH elleni rezisztenciára SL-LPA fluorokinolonok és amikacin elleni rezisztenciára HC-rNAAT pirazinamid rezisztenciára	havonta	beérkező MB a beszerzett táptalajok újabb szállítmányaira pozitív kontrollok feldolgozása egy, rezisztencia viszonylatában jól jellemzett, érzékeny MTBC törzsből kivont DNS felhasználásával, negatív kontrollként használt vakpróbával (pl. PBS) szemben minden mérésorozatba beilleszteni egy negatív PCR-kontrollt (pl. molekuláris biológiai minőségű víz) belső ME: minden csíkon ellenőrizni mindegyik kontroll meglétét a	ajánlott évente legalább egyszer az SRL szolgáltatója	az NRL számára szolgáltathatja az SRL vagy más, technikai háttérrel biztosító partner az NRL vagy más tapasztalt szervezet biztosítson időszakos látogatást alsóbb besorolási szinteknek	nem ajánlatos

ELJÁRÁS (TESZT)	MINŐSÉG KÖVETÉSI PERIÓDUS (MONITORING) INDIKÁTOR	MINŐSÉGELENŐRZÉS	SZAKMAISÁG ELLENŐRZÉSI PERIODICITÁS	HELYSZÍNI FELVIGYÁZÁS	VAKÍTOTT ÚJRAELLENŐRZÉS
		<p>hibridizáció és a PCR reagensek minőségének bizonyítására</p> <p>minden csikon ellenőrizni a páciens anyagának és a pozitív kontrollnak a meglétét az MBTC jelenlétének az igazolására</p> <p>kereszt-visszaigazolás egy másik kiértékelő személy által</p>			
TB-LAMP	havonta	<p>beérkező MB a beszerzett anyagok újabb szállítmányaira</p> <p>pozitív kontrollok feldolgozása egy, rezisztencia viszonylatában jól jellemzett, érzékeny MTBC törzsből kivont DNS felhasználásával, negatív kontrollként használt vakpróbával (víz) szemben</p> <p>kereszt-visszaigazolás egy másik kiértékelő személy által</p>	ajánlott évente legalább egyszer	az NRL vagy más tapasztalt szervezet biztosítson időszakos látogatást alsóbb besorolási szinteknek	nem ajánlatos
Xpert MTB/RIF Xpert Ultra Xpert MTB/XDR	havonta ajánlott távoli monitorozás diagnosztikai	<p>beérkező MB a beszerzett anyagok újabb szállítmányaira</p> <p>belső ME: kereszt-</p>	ajánlott évente legalább egyszer	az NRL vagy más tapasztalt szervezet biztosítson időszakos látogatást alsóbb besorolási szinteknek	nem ajánlatos, minthogy elégtelen mennyiségű minta marad a mérés után

ELJÁRÁS (TESZT)	MINŐSÉG KÖVETÉSI PERIÓDUS (MONITORING) INDIKÁTOR	MINŐSÉGELENŐRZÉS	SZAKMAISÁG ELLENŐRZÉSI PERIODICITÁS	HELYSZÍNI FELVIGYÁZÁS	VAKÍTOTT ÚJRAELLENŐRZÉS
	kapcsolatrendszerben	visszaigazolás transzkripciós hibák azonosítása végett a manuális jelentéseken			
Truenat MTB, MTB Plus és MTB-RIF Dx		beérkező MB a beszerzett anyagok újabb szállítmányaira belső ME: kereszt-visszaigazolás transzkripciós hibák azonosítása végett a manuális jelentéseken	ajánlott évente legalább egyszer	az NRL vagy más tapasztalt szervezet biztosítson időszakos látogatást alsóbb besorolási szinteknek	nem ajánlatos, minthogy elégtelen mennyiségű minta marad a mérés után
MC-aNAAT	havonta	beérkező MB a beszerzett anyagok újabb szállítmányaira belső ME: kereszt-visszaigazolás transzkripciós hibák azonosítása végett a manuális jelentéseken minden mérésnél pozitív kontroll feldolgozása egy, rezisztencia viszonylatában jól jellemzett minta, valamint egy negatív kontroll felhasználásával	ajánlott évente legalább egyszer	az NRL vagy más tapasztalt szervezet biztosítson időszakos látogatást alsóbb besorolási szinteknek	nem ajánlatos, minthogy elégtelen mennyiségű minta marad a mérés után
LF-LAM	havonta	beérkező MB a beszerzett anyagok újabb szállítmányaira minden csíkon ellenőrizni a kontrollsáv meglétét: ha nem mutatkozik vörös/szürke szín az eljárás befejeztével,	ajánlott évente legalább egyszer	az NRL vagy más tapasztalt szervezet biztosítson időszakos látogatást alsóbb besorolási szinteknek	nem ajánlatos

ELJÁRÁS (TESZT)	MINŐSÉG KÖVETÉSI PERIÓDUS (MONITORING) INDIKÁTOR	MINŐSÉGELLENŐRZÉS	SZAKMAISÁG ELLENŐRZÉSI PERIODICITÁS	HELYSZÍNI FELVIGYÁZÁS	VAKÍTOTT ÚJRAELLENŐRZÉS
		akkor az eredmény érvénytelen kereszt-visszaigazolás egy másik kiértékelő személy által hetente feldolgozni egy-egy jól ismert, pozitív és negatív mintát			

13. táblázat: Minőségi mutatók kenet mikroszkópiás vizsgálatra [7]

MUTATÓ	LEÍRÁS	CÉLÉRTÉK
Kenetvizsgálat pozitivitási aránya kezdeti és követési mikrobiológiai kóriszmében	saválló pálcá pozitív leletek száma / az összes vizsgált kenetek száma	Tipikusan 10%, amennyiben megfelelő indikációval kérték a vizsgálatot
Az alacsony grádusú, saválló pálcák pozitív kenetek aránya a kezdeti és követési mikrobiológiai kóriszmében	az alig pozitív és az 1+ pozitív leletek száma / az összes pozitívkenet	30-50%
Pozitív kenetek aránya a követési mikrobiológiai kóriszmében	saválló pálcá pozitív leletek száma / a követési diagnózisban vizsgált kenetek száma	5-10%
A laboratóriumi feldolgozás ideje	a minta fogadása és a közvetlen mikroszkópiás lelet közlése közötti idő (átlag, szélső értékek és a 90. percentilis)	24-48 óra

14. táblázat: Minőségi mutatók baktériumtenyésztés vizsgálatra [7]

MUTATÓ	LEÍRÁS	CÉLÉRTÉK
A minták száma, amelyekből készült baktériumtenyészetek MTBC + NTM pozitivitási aránya kezdeti és követési mikrobiológiai kóriszmében	Tenyésztés pozitív minták száma / az összes vizsgált tenyészetek száma	15-20%, amennyiben megfelelő indikációval kérték a vizsgálatot
Az MTBC pozitív tenyészetek aránya a kezdeti és követési mikrobiológiai kóriszmében	MTBC pozitív leletek száma / az összes, baktériumtenyésztésre feldolgozott minta	10-15%, amennyiben megfelelő indikációval kérték a vizsgálatot
Tenyésztéssel igazolt MTBC aránya a mikroszkópos kenetvizsgálattal saválló pálcákra pozitív leletekből (kezdeti és követési diagnózisban)	saválló pálcákra pozitív keneteknek a száma, amelyekből MTBC pozitív tenyésztések lettek / a mikroszkópos vizsgálattal pozitív kenetek száma	95-98% folyékony táptalajon 85-90% szilárd táptalajon
Tenyésztéssel igazolt MTBC aránya a mikroszkópos kenetvizsgálattal saválló pálcákra negatív leletekből (kezdeti és követési diagnózisban)	saválló pálcákra negatív keneteknek a száma, amelyekből MTBC pozitív tenyésztések lettek / a mikroszkópos vizsgálattal negatív kenetek száma	20-30%, amennyiben megfelelő indikációval kérték a vizsgálatot
Felülfertőződött, és ezért értékelhetetlen baktériumtenyészetek aránya	A beoltott, de kontaminált tenyészetek száma / az összes beoltott tenyészet száma	3-5% folyékony táptalajon 8-10% szilárd táptalajon
Laboratóriumi feldolgozás ideje	A minta fogadása és a közvetlen mikroszkópiás lelet közlése közötti idő (átlag, szélső értékek és a 90. percentilis)	folyékony táptalajon: 3 hét azoknak a mintáknak, amelyekből a kenet pozitív, 4-8- hét azoknak a mintáknak, amelyekből a kenet negatív szilárd táptalajon: 8-10 nap azoknak a mintáknak, amelyekből a kenet pozitív, 2-6 hét azoknak a mintáknak, amelyekből a kenet negatív

15. táblázat: Minőségi mutatók fenotípusos anti-TB szer-rezisztencia vizsgálatra [7]

MUTATÓ	LEÍRÁS	CÉLÉRTÉK
Az izolátumok aránya, amelyek monorezisztensek vagy multirezisztensek az összes, kipróbált szerek kombinációival szemben	Monorezisztens vagy multirezisztens izolátumok száma / az összes vizsgált izolátum száma	Populáció és a kipróbált szerektől függő
Azoknak az izolátumoknak az aránya, amelyeket fenotípusos rezisztenciavizsgálatra dolgoztak fel és kontamináció miatt értékelhetetlenné váltak	A felülfertőzés miatt értékelhetetlen izolátumok száma / az összes, fenotípusos rezisztenciavizsgálatra feldolgozott minta	<3%
Azoknak az izolátumoknak az aránya, amelyeket fenotípusos rezisztenciavizsgálatra dolgoztak fel és a növekedés elmaradása miatt használhatatlanná váltak, az anti-TB szert nem tartalmazó csőben/lemezen is	A növekedés hiánya miatt használhatatlanná vált izolátumok száma / az összes, fenotípusos rezisztenciavizsgálatra feldolgozott minta	<3%
Laboratóriumi feldolgozás ideje	Az izolátum leoltása és a lelet közlése közötti idő (átlag, szélső értékek és a 90. percentilis)	szilárd táptalajon: 3-4 hét folyékony táptalajon: 2-3 hét
	Az eredményközlés ideje elsődleges tenyészet leoltásától számítva	szilárd táptalajon: 8-16 hét folyékony táptalajon: 4-6 hét

16. táblázat: Minőségi mutatók FL-LPA és SL-LPA vizsgálatra [7]

MUTATÓ	LEÍRÁS	CÉLÉRTÉK
Csak FL-LPA esetében		
A kimutatott MTBC és RIF-rezisztencia aránya	Az azonosított RIF-rezisztens MTBC száma / az összes azonosított MTBC száma	Populáció és a RIF-rezisztens törzsek prevalenciájától függő
A kimutatott MTBC és INH-rezisztencia aránya	Az azonosított INH-rezisztens MTBC száma / az összes azonosított MTBC száma	Populáció és az INH-rezisztens törzsek prevalenciájától függő
A kimutatott MTBC és MDR-rezisztencia aránya	Az azonosított MDR-rezisztens MTBC száma / az összes azonosított MTBC száma	Populáció és az MDR-rezisztens törzsek prevalenciájától függő
A kimutatott RIF-rezisztencia aránya szemben a klinikailag azonosított FQ-rezisztenciával	A kimutatott RIF-rezisztens és egyben klinikailag FQ-rezisztensnek bizonyuló esetek száma / a RIF-rezisztensként azonosított MTBC esetek száma	100%
FL-LPA és SL-LPA esetében		
Egy hónap alatt elvégzett tesztek száma		
MTBC-vel azonosított minták aránya	MTBC-t azonosító minták száma / a módszerrel tesztelt minták száma	Populáció és az MTBC törzsek prevalenciájától függő
MTBC-vel azonosított minták aránya a rezisztenciát nem azonosító vizsgálatokkal szemben	MTBC-t azonosító, de rezisztenciát ki-nem-mutató minták száma / a módszerrel azonosított MTBC száma	Populáció és az anti-TB szer-rezisztens törzsek prevalenciájától függő
MTBC-vel azonosított minták aránya a rezisztenciavizsgálat alá nem kerülő mintákkal szemben	MTBC-t azonosító, de rezisztenciát nem vizsgáló eljárások száma / a módszerrel azonosított MTBC száma	<5%

MTBC-t nem azonosító vizsgálatok aránya	MTBC-t nem azonosító vizsgálatok száma / a feldolgozott minták száma	Populáció és a TBC prevalenciájától függő
Értékelhetetlen, leletet nem eredményező vizsgálatok aránya	Értékelhetetlen vizsgálatok száma / a feldolgozott minták száma	<5%
laboratóriumi feldolgozás ideje	A minta átvétele és a lelet közlése közötti idő (átlag, szélső értékek és a 90. percentilis), de az indirekt LPA esetére hozzáadódik a baktériumtenyésztés ideje	1-2 nap, hosszabb, ha tesztcsomagoként használják az eljárást
Csak SL-LPA esetében		
MTBC-vel azonosított minták és FQ-rezisztens minták aránya	MTBC-t FQ-rezisztenciával azonosított minták száma / a módszerrel azonosított MTBC minták száma	Populáció és az FQ-rezisztens MTBC törzsek prevalenciájától függő
MTBC-vel azonosított minták és AMK-rezisztens minták aránya	MTBC-t AMK-rezisztenciával azonosított minták száma / a módszerrel azonosított MTBC száma	Populáció és az AMK-rezisztens MTBC törzsek prevalenciájától függő

17. táblázat: Minőségi mutatók Xpert MTB/RIF és Xpert Ultra [7]

MUTATÓ	LEÍRÁS	CÉLÉRTÉK
Egy hónap alatt elvégzett tesztek száma		
Értékelhetetlen, leletet nem eredményező vizsgálatok aránya	Értékelhetetlen vizsgálatok száma / a feldolgozott minták száma	<3%
Laboratóriumi feldolgozás ideje	A minta átvétele és a lelet közlése közötti idő	beérkezést követő munkanap végéig

18. táblázat: Minőségi mutatók MC-aNAAT vizsgálatokra [7]

MUTATÓ	LEÍRÁS	CÉLÉRTÉK
Egy hónap alatt elvégzett tesztek száma		
MTBC-vel azonosított minták aránya a rezisztenciát nem azonosító vizsgálatokkal szemben	MTBC-t azonosító, de rezisztenciát nem értékelő minták száma / az adott módszerrel azonosított MTBC pozitív minták száma	<5% epidemiológia és indikációfüggő
MTBC-t nem azonosító minták aránya	MTBC-t nem azonosító minták száma / a módszerrel feldolgozott minták száma	Populáció és az MTBC törzsek prevalenciájától függő
Értékelhetetlen, leletet nem eredményező vizsgálatok aránya	Értékelhetetlen vizsgálatok száma / a feldolgozott minták száma	<5%
Laboratóriumi feldolgozás ideje	A minta átvétele és a lelet közlése közötti idő (átlag, szélső értékek és a 90. percentilis)	1-2 nap, hosszabb, ha tesztcsomagoként használják az eljárást
A kimutatott RIF-rezisztencia aránya, szemben a klinikailag azonosított FQ-rezisztenciával	A kimutatott RIF-rezisztens és egyben klinikailag FQ-rezisztensnek bizonyuló esetek száma / a RIF-rezisztensként azonosított MTBC esetek száma	100%
A kimutatott INH-rezisztencia aránya, szemben a klinikailag azonosított FQ-rezisztenciával	A kimutatott INH-rezisztens és egyben klinikailag FQ-rezisztensnek bizonyuló esetek száma / az INH-rezisztensként azonosított MTBC esetek száma	Módszertől (azaz a laboratóriumi eljárást egy adott klinikai helyzetre való alkalmazástól) függő

19. táblázat: Minőségi mutatók LC-aNAAT vizsgálatokra [7]

MUTATÓ	LEÍRÁS	CÉLÉRTÉK
Egy hónap alatt elvégzett tesztek száma		
MTBC-vel azonosított minták aránya a rezisztenciát nem azonosító vizsgálatokkal szemben	MTBC-t azonosító, de rezisztenciát nem értékelő minták száma / az adott módszerrel azonosított MTBC pozitív minták száma	<5% epidemiológia és indikációfüggő
MTBC-t nem azonosító minták aránya	MTBC-t nem azonosító minták száma / a módszerrel feldolgozott minták száma	Populáció és az MTBC törzsek prevalenciájától függő
Értékelhetetlen, leletet nem eredményező vizsgálatok aránya	Értékelhetetlen vizsgálatok száma / a feldolgozott minták száma	<3%
Laboratóriumi feldolgozás ideje	A minta átvétele és a lelet közlése közötti idő (átlag, szélső értékek és a 90. percentilis)	beérkezést követő munkanap végéig

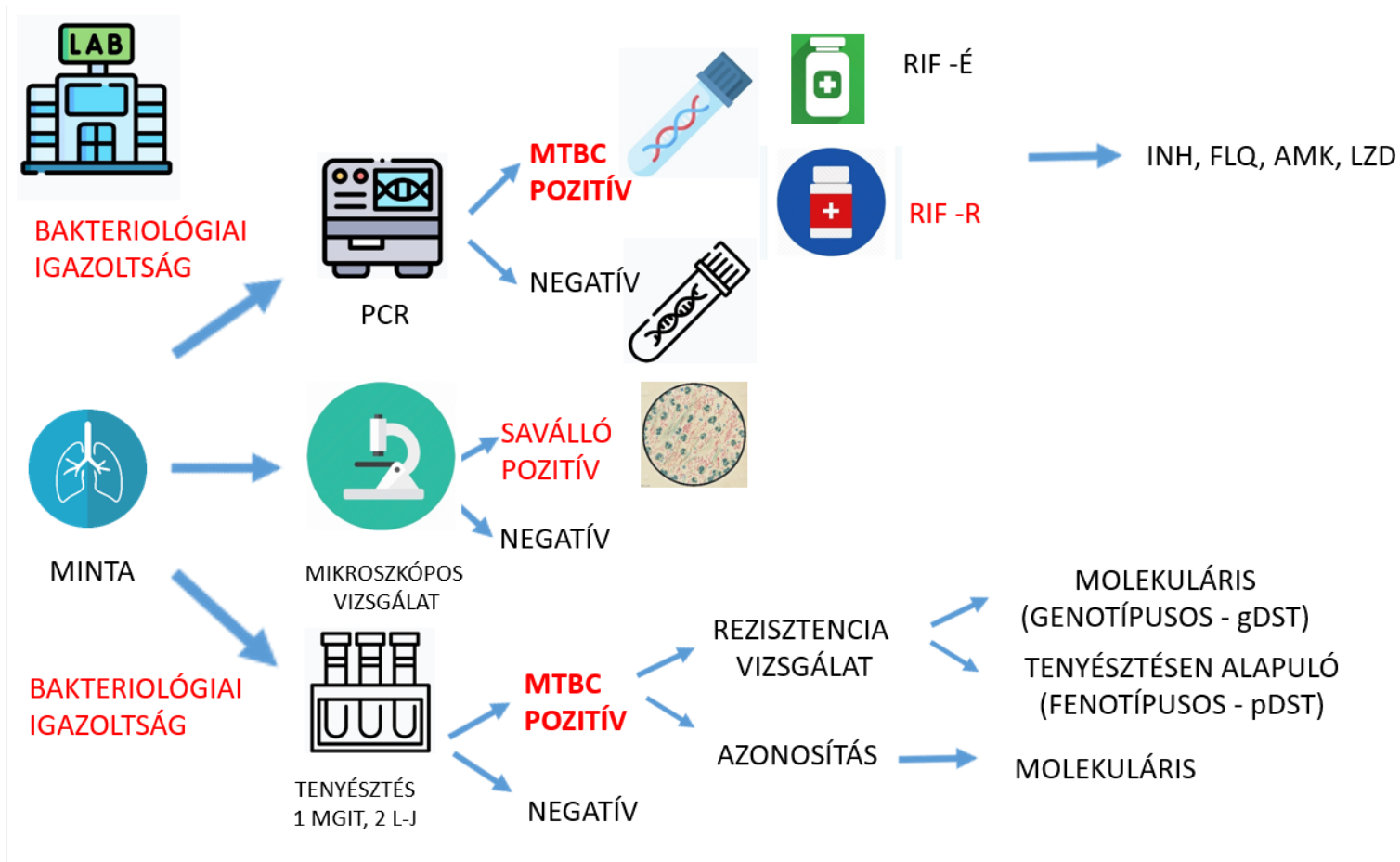
20. táblázat: GenoType CM, AS és NTM-DR tesztekkel azonosítható NTM fajok/alfajok [saját szerkesztés]

GenoType CM, AS és NTM-DR tesztekkel azonosítható NTM fajok/alfajok
<i>M. abscessus complex</i>
<i>M. abscessus subsp. abscessus</i>
<i>M. abscessus subsp. bolleti</i>
<i>M. abscessus subsp. massiliense</i>
<i>M. asiaticum</i>
<i>M. avium</i>
<i>M. celatum</i>
<i>M. chelonae</i>
<i>M. chimaera</i>
<i>M. fortuitum</i>
<i>M. gastri</i>
<i>M. genavense</i>
<i>M. goodii</i>
<i>M. gordonae</i>
<i>M. haemophilum</i>
<i>M. heckeshornense</i>
<i>M. interjectum</i>
<i>M. intermedium</i>
<i>M. intracellulare</i>
<i>M. kansasii</i>
<i>M. lentiflavum</i>

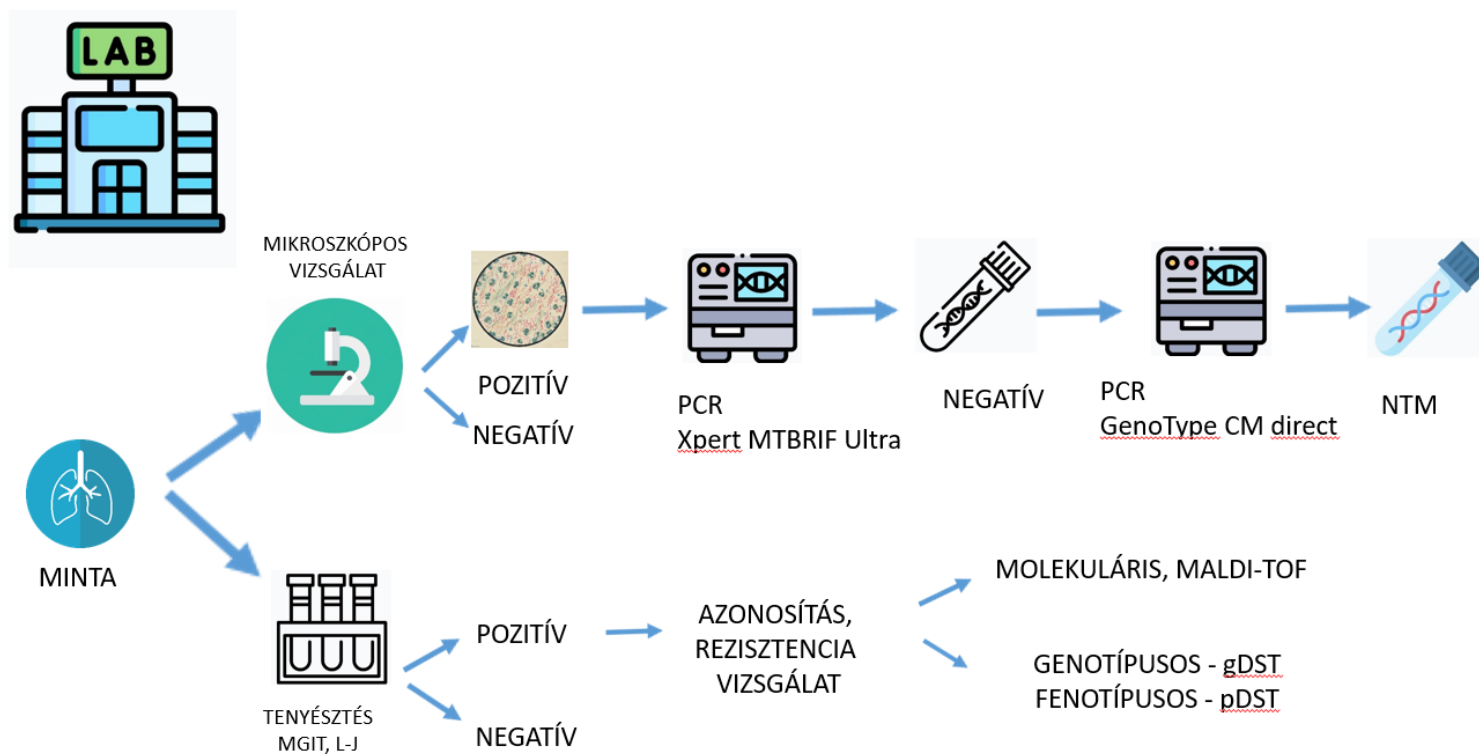
<i>M. malmoense</i>
<i>M. marinum</i>
<i>M. mucogenicum</i>
<i>M. peregrinum</i>
<i>M. phlei</i>
<i>M. scrofulaceum</i>
<i>M. shimoidei</i>
<i>M. simiae</i>
<i>M. smegmatis</i>
<i>M. szulgai</i>
<i>M. ulcerans</i>
<i>M. xenopi</i>

1.4. Algoritmusok

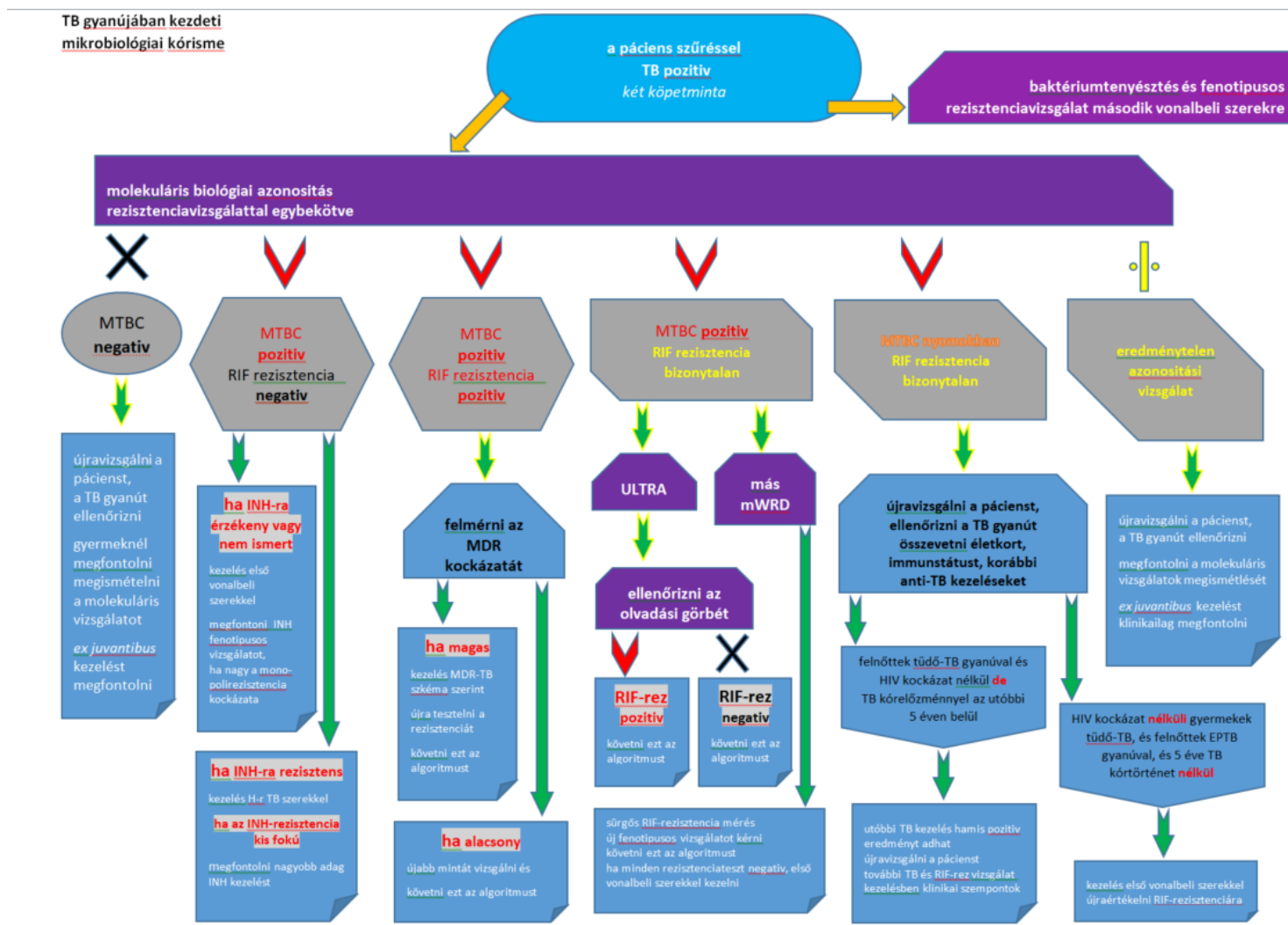
1. algoritmus: A tuberkulózis mikrobiológiai diagnóza [saját szerkesztés]



2. algoritmus: NTM fertőzések mikrobiológiai diagnózisa [saját szerkesztés]

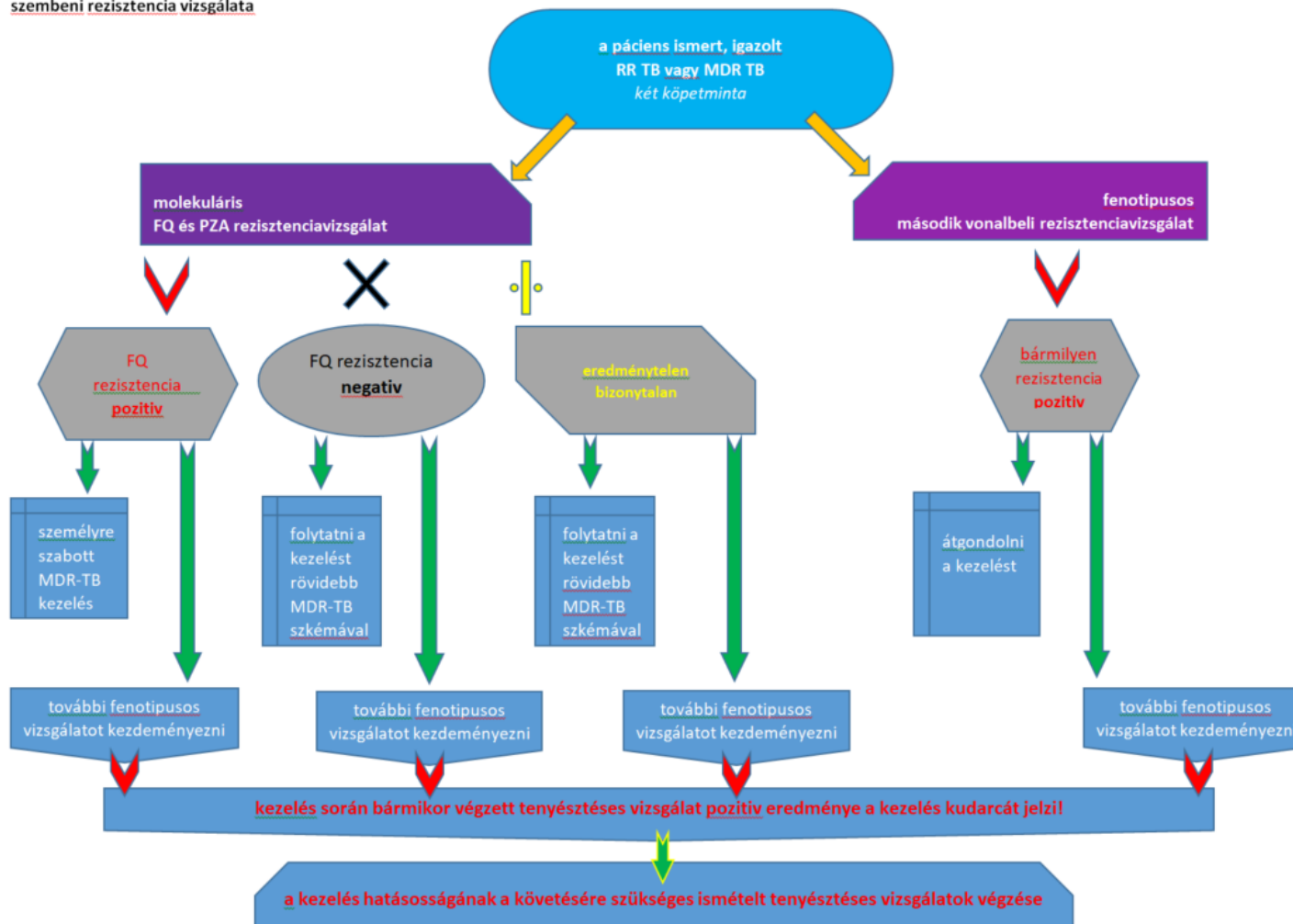


3. algoritmus: Molekuláris eljárások alkalmazása a tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájában [7 adaptálva]

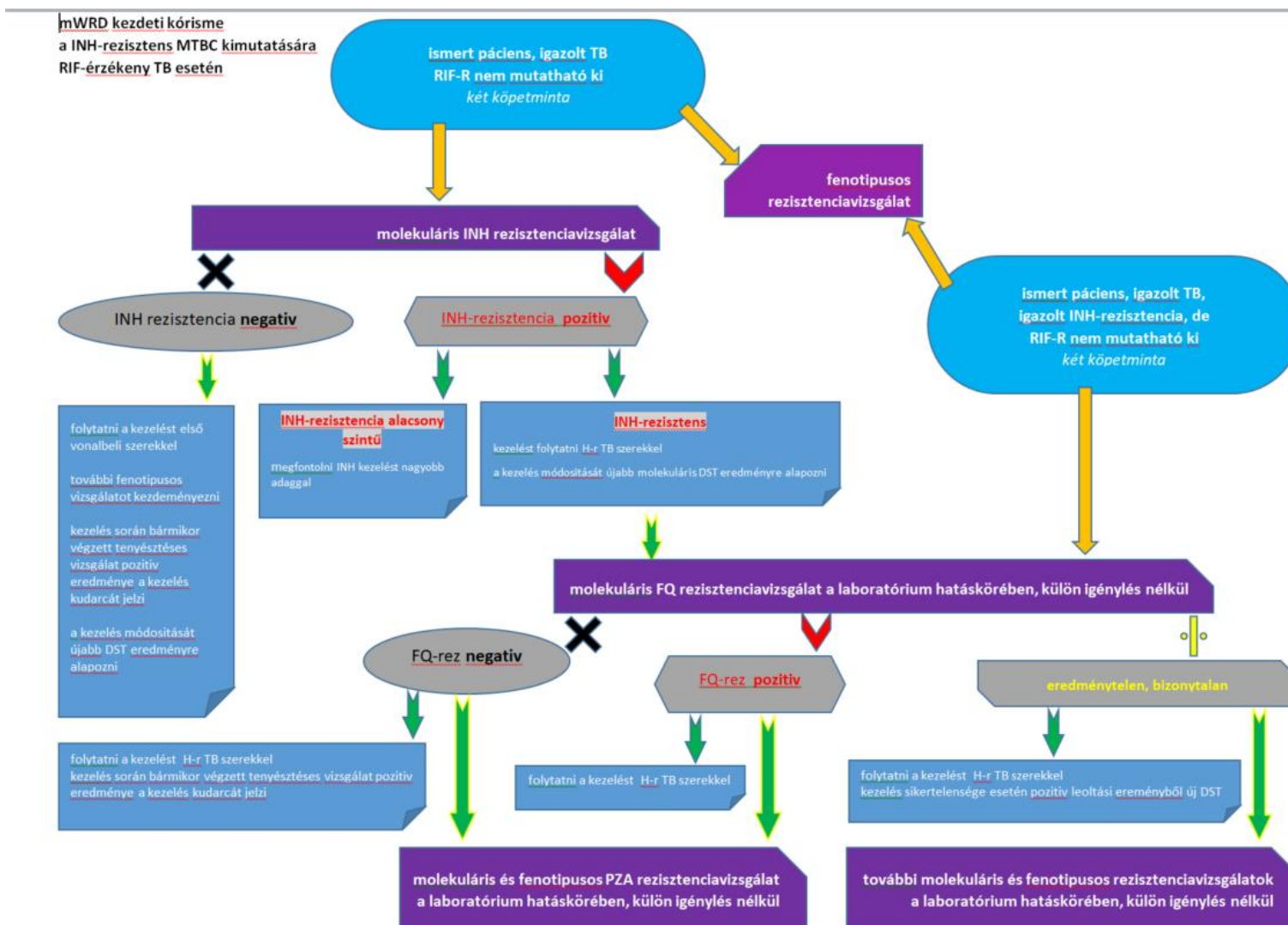


4. algoritmus: Molekuláris eljárások alkalmazása a RIF-R/MDR tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájában és a második vonalbeli szerekkel szembeni érzékenység vizsgálatában [7 adaptálva]

Kezelésben alkalmazott,
második vonalbeli antituberkulotikumokkal
szembeni rezisztencia vizsgálata



5. algoritmus: Molekuláris eljárások alkalmazása az INH-R tuberkulózis mikrobiológiai diagnosztikájában [7 adaptálva]



1.5. Egyéb dokumentumok

1. Vizsgálatkérő lap minták feldolgozásához

MYCOBACTERIOLOGIAI VIZSGÁLATKÉRŐ LAP

laborsorszám:

A laboratórium tölti ki

Beküldő neve, címe és kódja:	Naplószám/törzsszám:
Orvos neve:	
Pecsétszám:	pecsét
Telefonszám:	helye
Hivatali e-mail cím:	
Térítési kategória: járóbeteg <input type="checkbox"/> fekvőbeteg <input type="checkbox"/> fizető <input type="checkbox"/> egyéb <input type="checkbox"/>	
Beteg neve:	Anyja neve:
Beteg születési neve:	
Beteg TAJ száma:	
Lakcím: □□□□	
Születési hely (város, ország), idő:	Nem: férfi <input type="checkbox"/> nő <input type="checkbox"/>
Állampolgárság: magyar <input type="checkbox"/> egyéb:	
Mintavétel időpontja:	
Minta: köpet <input type="checkbox"/> bronchusváladék <input type="checkbox"/> pleura <input type="checkbox"/> gyomormosó <input type="checkbox"/> vizelet <input type="checkbox"/> szövet (natív) <input type="checkbox"/> liquor <input type="checkbox"/> széklet <input type="checkbox"/> egyéb	
Vizsgálat célja: diagnózis megállapítása <input type="checkbox"/> kezelés eredményességének megállapítása <input type="checkbox"/>	
Gyanított fertőzés: TBC <input type="checkbox"/> NTM <input type="checkbox"/>	
BNO kód:	
Diagnózis:	
Vizsgálatkérés: direkt PCR <input type="checkbox"/> mikroszkópos vizsgálat <input type="checkbox"/> tenyésztés <input type="checkbox"/> rezisztenciavizsgálat <input type="checkbox"/>	
TBC kezelés az elmúlt 30 napban? nem <input type="checkbox"/> igen <input type="checkbox"/> Biológiai terápiát kapott-e? nem <input type="checkbox"/> igen <input type="checkbox"/>	
TBC előzményben: nem <input type="checkbox"/> igen <input type="checkbox"/> MDR kockázati tényező nem <input type="checkbox"/> igen <input type="checkbox"/>	
HIV vizsgálat eredménye: pozitív <input type="checkbox"/> negatív <input type="checkbox"/> folyamatban <input type="checkbox"/> nincs <input type="checkbox"/>	
Egyéb megjegyzés: (pl. CF, szteroid kezelés)	

Érkezés dátuma:

EREDMÉNYEK (laboratórium tölti ki, kérjük szabadon hagyni!)

Köpet minősége: véres gennyes nyákos nyál

Direkt mikroszkópos vizsgálat	Negatív <input type="checkbox"/>	Pozitív <input type="checkbox"/>	1-9 <input type="checkbox"/>	1+ <input type="checkbox"/>	2+ <input type="checkbox"/>	3+ <input type="checkbox"/>
-------------------------------	----------------------------------	----------------------------------	------------------------------	-----------------------------	-----------------------------	-----------------------------

Direkt PCR vizsgálat								
<i>M.tuberculosis</i> complex (GeneXpert, GenoType) MTB RIF Ultra, MTBDR	Negatív <input type="checkbox"/>	Pozitív <input type="checkbox"/>	trace <input type="checkbox"/>	low <input type="checkbox"/>	medium <input type="checkbox"/>	high <input type="checkbox"/>	RIF rezisztencia gén É <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/>	INH rezisztencia gén É <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/>
Xpert XDR/GenoType	INH: É <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> FQ: É <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> AMK: É <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/> ETH: É <input type="checkbox"/> R <input type="checkbox"/>							
NTM GenoType CM direct	Faj:							

Tenyésztés	MGIT	LJ	MGIT kenet Ziehl-Neelsen	MPT64	
Dátum:					
Eredmény	+ <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> SZ <input type="checkbox"/>	+ <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> SZ <input type="checkbox"/>	+ <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> SZ <input type="checkbox"/>	+ <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/>	TBC SC <input type="checkbox"/> (1) NTM SC <input type="checkbox"/> (2)

MTBC	Dátum:	Niacin <input type="checkbox"/> GenoType MTBC <input type="checkbox"/>	<i>M. tuberculosis</i> <input type="checkbox"/> egyéb:
------	--------	---	---

Rezisztencia vizsgálatok						
MTBC	1			2		
	Antibiotikum	É	R	Antibiotikum	É	R
GenoType	MTBDR Plus:			MTBDR SL:		
	INH			FQ		
	RIF			AMK		
MGIT				EMB		
	INH			FQ		
	RIF			AMK		
	STR			BDQ		
	EMB			LZD		

NTM	Dátum:	37° <input type="checkbox"/>	28° <input type="checkbox"/>	42° <input type="checkbox"/>
-----	--------	------------------------------	------------------------------	------------------------------

NTM	Faj:		
GenoType	<input type="checkbox"/> CM <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> NTM-DR		
NTM-DR	Antibiotikum	É	R
	MA		
	AG		

2. Vizsgálatkérő lap törzsek azonosításához

MYCOBACTERIOLOGIAI VIZSGÁLATKÉRŐ LAP
Törzsek azonosításához és rezisztencia vizsgálatához

laborsorszám:

A laboratórium tölti ki

Beküldő laboratórium neve, címe, kódja:	Naplószám/törzsszám:
Orvos neve:	pecsét helye
Pecsétszám:	
Telefonszám:	
Hivatali e-mail cím:	
Térítési kategória: járóbeteg <input type="checkbox"/> fekvőbeteg <input type="checkbox"/> fizető <input type="checkbox"/> egyéb <input type="checkbox"/>	
Beteg neve:	Anyja neve:
Beteg TAJ száma:	
Lakcím: □□□□	
Születési hely, idő:	Nem: férfi <input type="checkbox"/> nő <input type="checkbox"/>
Állampolgárság: magyar <input type="checkbox"/> egyéb:.....	
Mintavétel időpontja:	
Minta: köpet <input type="checkbox"/> bronchusváladék <input type="checkbox"/> pleura <input type="checkbox"/> gyomormosó <input type="checkbox"/> vizelet <input type="checkbox"/> szövet <input type="checkbox"/> liquor <input type="checkbox"/> egyéb	
Egyéb megjegyzés:	

Törzs(ek)re vonatkozó adatok: (*M. tuberculosis complex* esetén max. 2 törzset, illetve *NTM* esetén max. 3 törzset kérünk beküldeni. Kizárólag a beküldött törzsekre vonatkozó adatok szerepeljenek a táblázatban. *NTM* esetén csak akkor kell beküldeni a törzseket, ha az egy hét alatt levett három köpetminta közül legalább kettő pozitív vagy az izolátum bronchusváladékból tenyésztett ki.)

Laborszám			
Direkt kenet eredmény (+/-)			
Tenyésztés szilárd (LJ) táptalajon (+/-)			
Tenyésztés folyékony táptalajon (+/-)			
Tenyésztéből készített kenet (LJ) (saválló +/-)			
Tenyésztéből készített kenet (folyékony) (saválló +/-)			
MPT 64 (+/-)			
GenoType (MTBC, MTBDR, CM)			
Niacin teszt (+/-)			

Beküldő által végzett érzékenységi vizsgálatok eredménye:

GenoType	1			2		
	AB	É	R	AB	É	R
	MTBDR Plus			SL		
	INH			FQ		
	RIF			AG		
				EMB		
MGIT	INH			FQ		
	RIF			AMK		
	STR			BDQ		
	EMB			LZD		

OKPI Mycobacteriologiai Referencia laboratórium által végzett vizsgálatok eredménye:

Érkezés dátuma:

MTBC	Dátum	Niacin <input type="checkbox"/>	GenoType MTBC <input type="checkbox"/>	<i>M. tuberculosis</i> <input type="checkbox"/>	egyéb:
------	-------	---------------------------------	--	---	--------

MTBC GenoType	1			2		
	AB	É	R	AB	É	R
	MTBDR Plus			SL		
	INH			FQ		
	RIF			AG		
				EMB		
MGIT	INH			FQ		
	RIF			AMK		
	STR			BDQ		
	EMB			LZD		

NTM	Dátum	37° <input type="checkbox"/>	28° <input type="checkbox"/>	42° <input type="checkbox"/>
-----	-------	------------------------------	------------------------------	------------------------------

GenoType	Species/faj:
<input type="checkbox"/> CM	
<input type="checkbox"/> AS	
<input type="checkbox"/> NTM-DR	

NTM-DR	AB	É	R
	MA		
	AG		

3. Útmutató klinikusok számára [12]

Klinikai, radiológiai, epidemiológiai vagy pathológiai alapon felmerülő TB gyanú esetén a kórokozó tenyésztésével és/vagy genomikai eljárásokkal szerzett mikrobiológiai adatok evidenciákat szolgáltatnak az eset további klinikai és epidemiológiai menedzselésére. A WHO szerint minden TB gyanús esetben meg kell kísérelni a kórkép bakteriológiai (mikrobiológiai) igazolását, alkalmazva a WHO erre vonatkozó ajánlásait (WRD). Technikai szempontból megfelelő, feldolgozható mintákra mind pulmonalis TB, mind más lokalizációjú (EPTB) folyamatok esetén ugyanazok a mikrobiológiai eljárások (tesztek) egyaránt alkalmazhatóak.

MINTAGYŰJTÉS

Egy helyes laboratóriumi diagnózis érdekében a kóros minta begyűjtésének és a laboratóriumba való eljuttatásának minden mozzanata kritikusán fontos, ezért annak minden folyamatát optimálisan kell megvalósítani. A kóros mintáknak, minthogy feltehetőleg BLS3 típusú mikroorganizmusokat tartalmaznak, a laboratóriumba történő szállítását orvosilag szakszerű (biosafety) módon és a vonatkozó nemzeti törvénykezésnek (fertőző, népegészségügyi szempontból kockázatos anyagok) megfelelően kell lebonyolítani. A mintagyűjtés és annak a laboratóriumba juttatása a beküldő orvosnak és az őt foglalkoztató intézménynek a szervezésében, hatáskörében és felelősségére zajlik le, amelybe beletartozik a mintát tartalmazó edények helyes, légmentes lezárása, jelzése, biztonsága, optimális fizikai körülményei, stb. Helyes a mikrobiológiai laboratóriumot a beküldött mintáról értesíteni, hogy egy esetleges késedelem vagy elvesztés esetén annak haladását követni lehessen.

Megjegyzendő, hogy ha a kóros mintában jelen van az MTBC, de a kórokozók valamilyen okból kifolyólag (szállítási körülmények, eltelt idő, stb.) nem életképesek vagy a minta felülfertőzött, a minta molekuláris vizsgálatokra még mindig alkalmas lehet, és ezt a mikrobiológiai laboratórium saját hatáskörében elvégzi. Ha a mintát eleve kizárólag molekuláris azonosításra szánják, megfontolandó a benne feltételezett MTBC szállítás előtti teljes mértékű inaktiválása (sterilizés), és ebben az esetben a szállítás nem fertőző anyagként is lehetséges. Erről és az inaktiválás módjáról a mikrobiológiai laboratóriumot értesíteni kell a mintához mellékelte dokumentációban.

Továbbá, a mintát kísérő dokumentációnak elégséges és helyes információt kell tartalmaznia az esetről. A kísérő dokumentációnak tipizálnak kell lennie (egységes vizsgálatigénylő formanyomtatvány), elégséges és pontos információt kell tartalmaznia a páciens azonosítására (név, életkor, nem, kórlapszám, TAJ-szám, rendelési napló folyószáma), a mintavételről (mi a minta, hány recipienst küldenek, dátum, szállítási feltételek), az esetlegesen releváns kórtörténeti adatok (előző anti-TB kezelés kronológiája, gyógyszerterápiák, társbetegségek, különösképpen HIV-státus), járványtani körülmények (származási ország, helység, ismert pozitív kontaktok), a beküldő intézmény és orvos elérhetőségei, valamint egyebek, amelyek a küldő klinikus megítélése szerint a laboratóriumi kórismét elősegítik. A vizsgálatkérő lap és egyéb papíralapú kísérő dokumentáció NEM érintkezhet a mintavételi recipiensekkel. A mintát és a kísérő dokumentációt egymástól külön kell csomagolni, jól záródó, ellenálló, átlátszó műanyag zacskókba. Gondoskodni szükséges a mintát tartalmazó recipiensek (csövek, edények) megfelelő feliratozásáról. Ha begyűjtését követően a minta nem jut azonnal a laboratóriumba, hanem tárolás, esetleg hosszadalmasabb szállítás tárgya, akkor hűtést, de fagyasztást nem igényel.

Szöveti biopsziából vagy sebészi kimetszésből származó mintáknak a lehető legnagyobb pathológiás tömeget (térfogatot) kell tartalmaznia, alkalmas recipiensbe helyezve, rögzítő oldat (alkohol, formaldehid, stb.) nélkül. A minta kiszáradását olyan mennyiségű fiziológiás oldattal kell biztosítani, hogy azt a beküldött edényben teljesen ellepje. Megjegyzendő, hogy nem bakteriológiai tenyésztés céljából vett, rögzített, kórszöveti előfeldolgozáson átesett minták is hasznosíthatóak a mikrobiológiai molekuláris biológiai eljárásokra, és ezt a mikrobiológiai laboratórium saját hatáskörében elvégzi.

A mintavétel eleve abba a recipiensbe (akár többbe) történjék, amelyet a laboratóriumba szállítanak. Megszerzésük után a kóros anyagok további ex vivo szétosztása, áthelyezése a legsúlyosabb infektológiai műhiba. Ennek tükrében a mintavételt megelőzően kötelező annak megtervezése, a mintavételi edények (recipiensek) észszerű, szakszerű és célszerű kiválasztása, előkészítése.

Különösképpen olyan esetben, ha a kórkép alapján a TB klinikai gyanúja gyenge, de a laboratóriumi lelet pozitív, két irányú klinikus-laboratóriumi orvosi kommunikáció ajánlatos egy lehetséges laboratóriumi kereszt-kontamináció, írni tévedés, adminisztratív hiba, stb. elhárítása végett, minthogy (WHO szakirodalom szerint) a pozitív tenyésztési leletek lehetnek álpozitívak is (3-5%).

MINTAVÉTEL PULMONALIS TB GYANÚJA ESETÉN

A régi gyakorlattal ellentétben ma már nem a mintaszám növelésével kell a kórokozó kimutatásának érzékenységét növelni, hanem a jó minőségű, valódi mély légúti minta beküldésével, mivel a vizsgálati módszerek kellő érzékenységgel, ellenben rendkívül költségesek. A WHO ajánlása szerint felnőttek által produkált légúti mintára (köpet) elsődlegesen molekuláris diagnosztikai (WRD) próbát kell alkalmazni, és ugyanabból a mintából tenyésztési eljárást (folyékony táptalajon) is végezni, még az anti-TB kezelés elkezdése előtt. A WHO és az ECDC ajánlása szerint első körben, azaz a TB gyanúja esetén két köpet, NTM fertőzés gyanúja esetén viszont 3 köpet vizsgálata szükséges. A kezelés követésekor is alkalmanként két minta vételét ajánlják. Együttműködésre nem képes személyek (gyermekek, tudatállapot romlása, stb.) esetében gyomortartalom-aspirátum vagy/és székletminta molekuláris mikrobiológiai módszerekkel lebonyolított vizsgálata ugyanúgy lehetséges.

spontánul felköhögött („expectorált”) köpet

Konkrétan pulmonalis lokalizációjú TB gyanú esetén a mintavétel megfelelő edénybe történjék, és a páciensnek kellő részletességgel tájékoztatni kell a köpet ürítésének és felfogásának a feltételeiről. Lehetőleg a reggeli első, ivás és szájoöblítés előtti mintát kell venni. A mintát az 50 ml térfogatú, csavaros tetejű, szivárgásmentes tartályba kell üríteni. Optimálisan több, mint 3 ml-nyi reggeli köpet gyűjtése a cél, legalább két, egymást követő napon. Alternatívaként, a reggeli köpet után, ennek beküldése előtt lehet még egy további köpetmintát szerezní. Ideális esetben a minta 5-10 ml, sűrű, mucoid vagy mucopurulens váladék. Megszerzése után a köpet mennyiségét (elégséges) és minőségét (minél kevesebb nyál) ellenőrizve a tartályt kívülről fertőtleníteni kell, majd időkorlát betartásával kell a laboratóriumi átvevő pontba juttatni. Optimálisan a mintának 24 órán belül a laboratóriumban kell lennie, de amennyiben ez nem lehetséges, akkor hűtve tárolni és szállítani. Az optimális körülmények egyaránt vonatkoznak a mikrobiológiai hatékonyságra és a begyűjtés, a tárolás, a kezelés és a szállítás járványtani biztonságára, minthogy pl. a sterilitás betartása kritikus, a csapvíz nem-TB mycobacteriumokat tartalmazhat, az MTBC 60%-a életképes 4 hét után, 4°C-on, de szobahőmérsékleten csak 38%. Mindazonáltal szem előtt tartandó, hogy az MTBC ex vivo és különböző körülmények közötti megmaradó életképessége és fertőzőképessége nem teljesen ismert. Ugyanezekért, egyazon mintához hosszabb, mint 24 órás köpetgyűjtés nem ajánlott.

felköhögés serkentésével szerzett („indukált”) köpet

Ha a páciens nem képes kellő mennyiségű és/vagy minőségű köpetet produkálni, lehetséges a nyák fellazítása és oldása hipertóniás (5-10%-os) sóoldattal az alsó légutakba történő aeroszolozott bejuttatásával. Megjegyzendő, hogy az ekképpen szerzett köpet minősége eltér a spontán felköhögéssel nyert váladéktól (annál hígabb) és a megszerzés módját szükséges jelezni a mintán, annak érdekében, hogy a laboratóriumi feldolgozás során ne legyen kétséges a kóros váladék minősége. A mintavételi művelet potenciális fertőzési kockázat a személyzetre nézve, ezért a megfelelő antiszeptikus kötelező.

bronchialis mosófolyadék

Egy nem produktív, spontán köhögéssel elégtelen minőségű köpet szerzését követően a tartálék megoldás. A bronchus mosófolyadék bronchoszkópiás behatolással az alsó légutakba bejuttatott steril sóoldat szívás útján történő visszanyerésével és összegyűjtésével szerezhető. A művelet kiegészíthető „bronchialis kefe” alkalmazásával, amely esetben az eszközt kell a laboratóriumba küldeni, 5 ml steril fiziológiás sóoldatba merítve, steril tartályban, megfelelő csomagolásban. Pulmonalis TB esetén az eljárás kockázatot jelent az azt elvégző szakemberre, és ezt a kockázatot szükséges kezelni, elhárítani. A művelet után különleges gondot kell fordítani a bronchoszkóp sterilizálására, az érvényes technikai és higiéniai előírásoknak megfelelően. Ez különösen fontos abban az esetben, ha molekuláris eljárást is alkalmaznak a diagnosztikában, mert az érzékeny módszer a bronchoszkóp kontaminációjaként jelen lévő MTBC DNS-t is kimutathatja, ha nem volt megfelelő az eszköz tisztítása. Megjegyzendő, hogy a mintavétel során használt lidocain a mintába kerülve gátolja a szokványos bakteriális kórokozók és a mycobacteriumok növekedését is.

gyomormosó folyadék

Pulmonalis TB gyanúja esetén ajánlott eljárás, olyan esetben, ha a klinikai kép alapján a gyanú fennáll, de a mennyiségi és/vagy minőségi okok miatt a köpet mikrobiológiai vizsgálata vagy nem végezhető el, vagy nem eredményes (pl. kisgyermek). A gyomorba szonda útján (nátrium-karbonát, Na₂CO₃) elegyített 20-30 ml

fiziológiás sóoldatot fecskendeznek, majd egy erre alkalmas recipiensbe visszaszívják. Helyes mikrobiológiai eredményt egymást követő napokon szerzett 1-1 mintából lehet várni. A mintának 4 órán belül a laboratóriumba kell érkeznie, vagy ha erre nincs kilátás, az aspirátumot azonnal semlegesíteni szükséges, és ilyen formában, ha tenyésztés kizárt is, de alkalmas lehet molekuláris biológiai vizsgálatra. Az eljárás hasznos lehet használható köpetet produkálni nem képes (pl. immunhiányos) páciensek pulmonalis TB folyamatainak a felderítéséhez.

orrgarat aspirátum

Használható köpetet nem produkáló gyermekek esetében, minthogy kevésbé invazív, mint a gyomormosadék szerzése. A cél 2—5 ml váladék szerzése az orrgaratból, erre alkalmas szívóeszközzel, tartállyal és hajlékony katéterrel.

széklet

Tulajdonképpen a pulmonalis TB folyamatokból kiszabaduló, felköhögött, majd lenyelt kórokozók azonosítása a gyomorbél traktuson történt átjutás után. Különösképpen gyermekek és használható köpetet nem teljesítő páciensek esetében ajánlott vizsgálat. Új javaslat a WHO részéről, hogy gyermekek esetében székletmintából Xpert MTB/RIF vagy Ultra módszerrel végezzenek molekuláris biológiai azonosítást, minthogy ez, a gyomorszondázástól és az orrgarat aspirációtól eltérően, egyáltalán nem invazív eljárás. A széklet laboratóriumi feldolgozása a TB kórisme végett egy további, előkészítő lépést igényel. Megjegyzendő, hogy bél-TB kimutatására ez nem alkalmas, hanem célzott bélbiopszia szükséges.

MINTAVÉTEL EXTRAPULMONALIS TB GYANÚJA ESETÉN

A mikrobiológiai laboratóriumban egyaránt lehet TB kórismét végezni szövetmintából, váladékból és testnedvekből. EPTB gyanú esetén a magas érzékenységu molekuláris vizsgálatok az első opció, de a legérzékenyebb eljárás a folyékony táptalaj-MGIT, és ezt a mikrobiológiai laboratórium saját hatáskörében elvégzi. Hasonlóképpen a tüdő-TB gyanúja esetén előírtakhoz, EPTB lokalizációjú folyamatok gyanújában, invazív és/vagy meg nem ismételtető eljárásokkal begyűjtött mikrobiológiai minták esetén azok megszerzésére és további kezelésére ugyanazok a szabályok, eljárások kötelezőek. TB folyamat szinte minden anatómiai lokalizációban megjelenhet, ezért a célzott, mennyiségileg és minőségileg megfelelő minta begyűjtése problematikus klinikai feladat lehet. A laboratóriumi vizsgálatok eredményességét befolyásolhatja a beküldött mintákban levő kórokozók mennyisége, ezért általában hasznos nagyobb mennyiségű kóros anyagnak és/vagy több mintának a laboratóriumba juttatása. A kórokozót várhatóan kisebb csíraszámokban tartalmazzák a savós testnedvek, izzadmányok és váladékok, mint például az ascites-folyadék, agy-gerincvelői folyadék, mellhártyaüregi folyadék, üvegtest, synovialis folyadék, pericardialis izzadmány, és ezért ezekből érdemes a legnagyobb, de klinikai szempontból még biztonságosan megszerezhető (lecsapolható) mennyiséget küldeni mikrobiológiai tenyésztési vizsgálat végett. Ha a szükséges laboratóriumi technika és kompetencia rendelkezésre áll a helyszínen is, a mikrobiológiai eredményesség viszonylatában a legbiztosabb a váladékoknak, testnedveknek a betegágy melletti leoltása véres táptalajra, de ilyen esetben is további mintát kell félretenni a közvetlen mikroszkópos vizsgálatra. Szövettanilag vagy citológiaiilag rögzített (formaldehid, alkohol, stb.) anyagokból bakteriológiai tenyésztés nyilvánvalóan lehetetlen, viszont ugyanezek alkalmasak molekuláris biológiai eljárásokra, és ezt a mikrobiológiai laboratórium saját hatáskörében elvégzi.

Mellhártyai és thoraco-pleuro-pulmonalis lokalizációjú TB folyamat gyanújában a laboratóriumi mikrobiológiai vizsgálat tárgya szövettani minta vagy a pleuralis folyadék. A szövettani mintát biopszia vagy ablatio útján lehet szerezni, szúrscapolás (thoracocentesis) vagy sebészi feltárás során. A laboratóriumi kórisméhez a natív, rögzítetlen biotikus anyag az optimális, minthogy rögzítés után az már csak molekuláris biológiai eljárásokra lehet alkalmas. Mellhártya izzadmány (pleuralis folyadékgyülem) szerzése elsősorban szúrscapolással (thoracocentesis), esetleg egy ezért, vagy más okból végzett sebészi feltárás során történik, optimálisan 10-15 ml, minimum 10 ml folyadékot gyűjtve. A mellhártya izzadmányban a csírák ex vivo életképességét a már felsorolt tényezők mellett egy transzport tápközeg használata, illetve annak minősége is befolyásolja. Annak érdekében, hogy egy esetlegesen képződő fibrinháló a csírákat ne ejthesse csapdába, érdemes a mintát heparinizált edénybe venni. Betegágy melletti, azonnali leoltás a táptalajra járható út lehet, de ennek során a fertőzés terjedésének a kockázata jelentős.

Lymphonodularis lokalizáció gyanújában az elvárt mintavétel szintén a biopszia. Ezt olyan vidékről (országból) származó páciensek esetében, ahol a TB endémiás vagy alacsony incidenciájú, egy első megközelítésben el lehet végezni finomtűs aspirációval, 19 – 20 gauge tűt használva. A mintagyűjtési recipiensként ebben az esetben az aspirációs eszköz (tű+fecskendő) szolgál, és ennek egészében, az eszköz szétszerelése nélkül kell a mikrobiológiai laboratóriumba kerülnie, a váladék/szöveti mintát ebből el nem távolítva. Ha a finomtű-aspirátum mikrobiológiai vizsgálata negatív, de a klinikai gyanú erős, ugyanonnan a kimetszés és szövettani minta gyűjtése ajánlott. Minezezből a mintákból, a WHO ajánlása szerint, elsősorban molekuláris biológiai vizsgálatok alkalmasak, és ezeket a mikrobiológiai laboratórium saját hatáskörében elvégzi.

Hashártyai TB folyamat gyanújában legalább 5-10 ml ascitesfolyadékot kell szerezni, de, mint láttuk, a nagyobb mennyiség jobb tenyésztési lehetőségeket nyit. A betegágy melletti, azonnali leoltás a táptalajra itt is járható út, a fertőzés terjedésének az erős kockázata mellett.

Húgyúti TB folyamatok gyanújában az első, kora reggeli vizeletet aszeptikusan nyerve, teljes mennyiségében kell a mikrobiológiai vizsgálatra küldeni, a tárolás és a szállítás idején hűtést biztosítva. A tipikusan alacsony életképes csíraszám miatt szükség lehet egymást követő vizeletek gyűjtésére is, de lévén, hogy a csíraszám ex vivo tovább csökken, a 24 órás diurézis mikrobiológiai feldolgozása már kilátástalan. A vizeletben normális mértékben jelen levő alakos elemek (hámsejtek, szaprofita flóra, felülfertőzés, stb.) zavaró hatása miatt az üledék közvetlen mikroszkópos vizsgálatából nem lehet eredményre számítani.

A koponya- és gerincúri TB laboratóriumi kórisméjéhez szúrscapolással (pl.lumbal punctio, agykamra punctio) agy-gerincvelői folyadékot kell nyerni, amihez optimális mennyiség 5-10 ml, a minimális 2-3 ml. A mintát a legrövidebb időn belül fel kell dolgozni, ezért a szállítás közbeni hűtése tárgyaltan. Ajánlott egy, az egyebekkel párhuzamosan végzett, kezdeti, gyors XPertMTB/RIF Ultra tesztelés, és ezt a mikrobiológiai laboratórium saját hatáskörében elvégzi.

Vérminták mikrobiológiai TB-kórisméjéhez több minta és laboratóriumi eljárás-kör szükséges. A rutin phlebotomiával levett vért haemoculturás palackokba gyűjtve szobahőmérsékleten kell tárolni, és még aznap fel kell dolgozni a mikrobiológiai laboratóriumban.

A MIKROBIOLÓGIAI EREDMÉNYEK ÉS KLINIKAI ÉRTELMEZÉSÜK

A klinikai és a laboratóriumi szakember közötti, tartalma és időzítése szerinti optimális kommunikáció és egyetértés alapvető. Ebbe beletartozik a különféle elvégzendő vizsgálatok alkalmasságának megértése, valamint a pozitív és negatív prediktív eredményeknek az alkalmazása az eset klinikai menedzsmentjére.

Egy negatív bakteriológiai vizsgálati eredmény nem zárja ki a TB diagnózist. TB gyanú esetében kötelező molekuláris meghatározást is végezni az MTBC komplex és legalább a rifampicin rezisztencia meghatározására. MTBC pozitív eredmény esetén, egy rifampicin-rezisztenciára utaló lelettől függetlenül molekuláris INH-rezisztencia meghatározás is ajánlott. RIF-rezisztencia azonosítása esetén kötelezően el kell végezni második vonalbeli anti-TB szerekkel (FQ, SLID és ABC-csoportok) szembeni rezisztencia vizsgálatát. INH rezisztencia esetén kötelező a fluorokinolon rezisztencia vizsgálata. Az in vitro érzékenységi vizsgálat során meghatározott érzékenység nem zárja ki a rezisztenciát.

Pozitív TB tenyészet esetén előbb a gDST végzése ajánlott, hogy a klinikus minél rövidebb idő alatt a rezisztencia eredmények birtokába jusson. Ezt követően fenotípusos vizsgálatokat kell végezni, esetleges antituberkulotikus gyógyszerrezisztencia azonosítása céljából. Ha a törzs rifampicin és/vagy izoniazid rezisztens, fenotípusos fluorokinolon rezisztencia vizsgálatot kell végezni. Kezelés során rifampicinre nem reagáló esetekből vett minták laboratóriumi tenyésztésből származó törzseit második vonalbeli anti-TB szerekre, és az esetleges egyéb, alkalmazott antituberkulotikumokra kell tesztelni, és ezt a mikrobiológiai laboratórium saját hatáskörében elvégzi.

Az antituberkulotikum-rezisztens törzsek azonosítását számos kereskedelmileg elérhető és széles körben már alkalmazott, sőt, diagnosztikai standard értékre emelt molekuláris biológiai eljárás segíti. Ezek a módszerek a bakteriológiai elemzésre szánt mintákból is akár órákon belül eredményt szolgáltatnak, és ezt a mikrobiológiai laboratórium saját hatáskörében elvégzi. Mindazonáltal megjegyzendő, hogy ezeknek eredményessége és ebből adódó klinikai relevanciája az elemzett minta csíraszámától függ, és fontos megérteni azt is, hogy ezek a szóban forgó módszerek nem képesek különbséget tenni az élő és fertőzőképes és a már elpusztult mikrobák, illetve azok

törmelékei között. Mindenképpen, rifampicin- és izoniazid-érzékenység eldöntésére gyors molekuláris biológiai eljárások használatosak, a klinikai megjelenés szerint prioritizálva: visszaesés, kezelés módosítása, MDR-kontakt esetek, ismert anti-TB rezisztencia, magas TB prevalenciájú és incidenciájú területekről (országokból) származó esetek. Pozitív rifampicin / izoniazid rezisztenciavizsgálat esetén, másféle szerrel való anti-TB kezelést megelőzően, szükséges fluorokinolon rezisztenciát is vizsgálni, és ezt a mikrobiológiai laboratórium saját hatáskörében elvégzi. Ennek eredményének az ismeretében a klinikus nagyobb biztonsággal választhatja a farmakont.

Mikroszkópos vizsgálattal már pozitívnak bizonyuló esetekben közvetlenül a rifampicin rezisztenciára célzó genomszekvenálás ajánlott, és Isoniazid-rezisztens kórokozót szintén szükséges genetikai fluorokinolon-rezisztencia tesztnel alávetni, még a WHO által ajánlott levofloxacin kezelés elkezdése előtt, és ezt a mikrobiológiai laboratórium saját hatáskörében elvégzi. Általában, a rövid, 4 hónapos anti-TB kezelési szkéma elkezdése előtt, helyes mikrobiológiai kórismét szerezni a rifampicin, fluorokinolon és izoniazid érzékenység illetve rezisztencia viszonylatában. Molekuláris eljárásokat lehet alkalmazni az anti-TB rezisztencia kimutatására néhány napig egy kezelés elkezdése után is, viszont a kezelés hatékonyságának a követésére nem alkalmasak, hacsak klinikai alapon nem gyanítható egy anti-TB rezisztencia megjelenése. Egy ilyen esetben a molekuláris biológiai vizsgálat egy előzőleg nem azonosított, rezisztenciát meghatározó tényezőt is felfedhet.

Abban az időablakban, amely egy első, negatív molekuláris teszt eredmény után nyílik és a folyékony táptalajt használó próba eredményességéig tart – minthogy az első eredmény a minta minőségétől függően lehet hamis negatív is – az esetnek a diagnosztikus értékelése és az esetleges gyógyszerelés a klinikus megítélésére marad, a kórképnek, és annak fejlődésének megfelelően. Például, liquor cerebrospinalis direkt mikroszkópos vizsgálata gyakran eredménytelen, azaz hamis negatív, viszont a minták tenyésztés szerinti TB-negatív mivoltát csupán 6 hét után lehet kijelenteni. A TB tenyészetekből elvégzett teljes genomszekvenálási vizsgálatok (WGS), noha hosszabb átfutásúak, epidemiológiai standard eljárás, az OKPI-ben is belátható időn belül elérhetőek lesznek, és ezeket a mikrobiológiai laboratórium saját hatáskörében el fogja végezni. Az ilyen vizsgálatokhoz, a lehetséges rezisztencia gének azonosítása végett, a laboratóriumban szükség van a klinikus által továbbított precíz anti-TB kezelési kórelőzményre.

4. Belső minőségbiztosítás

4.1. Az alkalmazott dekontaminációs módszerek értékelése (belső minőségbiztosítás)

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

A táptalaj beszennyeződésének mértékéből következtetni lehet az alkalmazott dekontaminációs eljárás kivitelezésének helyességére. Így szilárd táptalajon a 4%-nál alacsonyabb, illetve folyékony táptalajt használva az 5-8%-nál alacsonyabb kontaminációs ráta esetén a dekontaminálás túl erős, míg az ezen értékek feletti arány túl gyenge dekontaminálásra utal.

4.2 A mikroszkópos vizsgálatok értékelése (belső minőségbiztosítás)

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

4.3. Az előkezelési és tenyésztési eljárások ellenőrzése (belső minőségbiztosítás)

Általános:

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

Naponként ellenőrizni kell:

A reagensek 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 tenyészik ki, ellenőrizni kell az összes felhasznált reagens sterilitását.

A dekontaminálás kezdetén és végén egy-egy cső (5 ml) steril desztillált vízzel, illetve fiziológiás sóoldattal is el kell végezni a munkafolyamatot.

Az előkezeléshez használt reagenseket a munkafolyamat előtt véres agarra kell oltani.

Ellenőrizni kell a táptalajok és a reagensek lejáratát idejét.

A kereskedelmi forgalomban kapható, minőségbiztosítási tanúsítvánnyal ellátott táptalajokat nem szükséges ellenőrizni, de a felhasznált táptalajok gyártási számát fel kell jegyezni.

Hetente ellenőrizni kell:

Meg kell határozni a szennyezett tenyészetek százalékos előfordulását.

Szilárd táptalaj esetén az >5%, folyékony táptalaj esetén a >8-10% kontamináció inadékvát előkezelési munkafolyamatra utal. A <3% szennyeződés túl erős dekontaminációt jelez.

Havonta ellenőrizni kell:

Monitorozni kell az *M. tuberculosis*-pozitív tenyészetek számát.

Monitorozni kell a kenetben pozitív és tenyésztéssel negatív minták számát. Ha az ilyen minták száma meghaladja az 1%-ot, ez túl erős előkezelésre, nem megfelelő minőségű táptalajokra, különleges igényű mycobacteriumokra, vagy antituberkulotikus kezelés alatt álló beteg mintájára utal.

Monitorozni kell a kenet negatív, tenyésztéssel pozitív minták számát. Az elvárhatóság kb. 30%.

Monitorozni kell a kenet negatív és mindössze egy pozitív tenyésztéssel rendelkező betegek számát.

Monitorozni kell a kenetben és tenyésztéssel is pozitív esetek arányát. Az elvárt mérték 95%.

Monitorozni kell a tenyészetek pozitívvá válásának idejét külön a szilárd és folyékony táptalajok esetében mind kenet pozitív, mind a kenet negatív mintáknál

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

4.4. A rezisztenciavizsgálatok ellenőrzése (belső minőségbiztosítás)

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