

**Tartalom:**

**Összefoglaló értékelés mikrobiológiai jártassági körvizsgálat 2007.**

Visontai Ildikó, Gacs Mária, Glatz Katalin, Jankovics Máté, Huszár Csilla

**A 2007/II. évi járványügyi-klinikai (vegyes) bakteriológiai jártassági körvizsgálat értékelése**

Gacs Mária

**A 2007. évi járványügyi-klinikai (enterális) bakteriológiai jártassági körvizsgálat értékelése**

Herpay Mária

**A 2007. évi Borrelia szerológiai jártassági körvizsgálat értékelése**

Kienle Zsuzsa, Boross Katalin

**A 2007. évi hepatitis szerológiai jártassági körvizsgálat értékelése**

Rusvai Erzsébet, Takács Mária

**A 2007. évi EBV és CMV szerológiai jártassági körvizsgálat értékelése**

Barcsay Erzsébet, Csire Márta

**A 2007. évi Rubeola szerológiai jártassági körvizsgálat értékelése**

Némethné Szomor Katalin, Rigó Zita

**A 2007. évi HIV szerológiai jártassági körvizsgálat értékelése**

Győri Zoltán, Minárovits János

**A 2007. évi Toxoplasmosis szerológiai jártassági körvizsgálat értékelése**

Danka József, Kucsera István

**A 2007. évi gomba azonosítás és érzékenység meghatározása jártassági körvizsgálat értékelése**

Zala Judit, Kiss Katalin, Darvas Eszter

A Mikrobiológiai Körlevél ezen számának megjelentetését az OEK Minőségbiztosítási osztály támogatta

## Összefoglaló értékelés mikrobiológiai jártassági körvizsgálat 2007.

Visontai Ildikó, Gacs Mária, Glatz Katalin, Jankovics Máté, Huszár Csilla

A Mikrobiológiai Körlevél ez évi 2. száma az OEK által szervezett 2007. évi jártassági körvizsgálatok eredményeivel s ezek értékelésével foglalkozik.

Magyarországon a mikrobiológiai jártassági körvizsgálatok megszervezése, a vizsgálati spektrum összeállítása a minőségbiztosítás részeként Dr. Lányi Béla nevéhez fűződő bakteriológiai jártassági vizsgálatokkal kezdődött. A vizsgálatok gyakorisága, illetve a minták száma, a körvizsgálatok lebonyolításának rendje az évek során változott, célja azonban változatlan: tájékoztatást adni a beérkezett eredmények minőségéről azoknak a laboratóriumoknak, akik elkötelezték magukat a folyamatos fejlődés mellett.

A jártassági körvizsgálatoknak különös hangsúlyt ad a hazai mikrobiológiai laboratóriumi rendszer elmúlt években lezajlott átalakulása. A körvizsgálatok ebben a változó rendszerben nyújtanak segítséget a folyamatos szakmai fejlődéshez és fejlesztéshez a laboratórium eredményeinek részletes értékelésével, a Mikrobiológiai Körlevélben megjelenő részletes tudományos szakmai elemzésekkel.

A hibákat, hiányosságokat jelző teljesítmények rámutathatnak arra, hogy mely a területeken szükséges az adott mikrobiológiai laboratóriumban a személyzet képzése, továbbképzése, a minőségbiztosítással kapcsolatos egyéb fejlesztés, minőségügyi javítás. Mindehhez az OEK által szervezett jártassági körvizsgálatokban való részvétel olyan további lehetőségeket is biztosít, mint a laboratóriumok közötti összehasonlítás, módszerek közötti összehasonlítás, konzultáció az OEK-ben működő Referencia Laboratóriumokkal.

A Referencia Laboratóriumok nemzetközi körvizsgálatokban való részvételükkel, referencia módszerek alkalmazásával és akkreditált vizsgálataikkal biztosítják a körvizsgálatok magas szintű háttérét. 2008-ban két újabb laboratóriummal bővült az OEK referencia laboratóriumainak száma. A Mikrobiológiai Szakmai Kollégium az OEK HIV, Herpeszvírus laboratóriumát jelölte ki a Humán Herpesz vírusok Nemzeti Referencia Laboratóriumaként, Csire Márta mikrobiológus PhD. vezetésével. A Bakteriológiai I. osztályon pedig, elfogadta az antibiotikum rezisztencia laboratórium keretében működő Szerzett metallo- $\beta$ -laktamáz termelő *Pseudomonas spp.* törzsek Nemzeti Referencia Laboratóriumnak megalakulását Libisch Balázs biológus PhD. vezetésével.

A korábbi hagyományos, bakteriológiai tenyésztési és parazitológiai vizsgálatokat mikológiai és virológiai, bakteriológiai szerológiai vizsgálatokkal folyamatosan bővítettük a Referencia Laboratóriumok közreműködésével felölelve azokat a területeket, melyek iránt a laboratóriumok érdeklődtek, megpróbáltuk az egyedi igényeket is figyelembe venni. 2007-ben szerepeltettük

például először a Borrelia szerológiai körvizsgálatot az Országos Epidemiológiai Központ jártassági körvizsgálatai között.

Nagyon lényeges minden laboratórium számára megérteni azt, hogy minél alaposabb és részletesebb a laboratórium teljesítményének értékelése - az egyes tesztkészítmények eredményei alapján -, annál többet segít az esetlegesen felmerülő hibák kijavításában, s abban, hogy munkáját szakmailag még jobban, még eredményesebben tudja végezni. Az utóbbi célt a jártassági körvizsgálatok nem szolgálják kielégítően, ha a megoldandó feladatok túl egyszerűek, könnyűek, ha nem feladat az eredmény interpretálása, és a laboratórium számára nem nyújtanak többet, csak a körvizsgálatokban való részvétel igazolását.

Az értékelések nemcsak az egyes laboratóriumoknak segítenek felszámolni hibáikat, de a szakmai vezetésnek is fontos információt nyújtanak a vezetésük alatt álló laboratórium munkájáról, így a körvizsgálatokban való részvétel a laboratóriumok számára egy nagyon lényeges szakmai kontrollt jelent.

Ismételten szükségesnek tartjuk hangsúlyozni, hogy a körvizsgálatoknak, külső minőségi kontrollként, elsődleges feladata, hogy a szakmai fejlődést, fejlesztést szolgálják: a résztvevők a hibákból, hiányosságokból tanuljanak, szükségesnek érezzék, hogy folyamatosan képezzék magukat, s ennek eredményeként helyesen interpretálják eredményeiket, konzultáljanak, és adjanak hasznos tanácsokat a klinikusnak, epidemiológusnak, hogy a laboratórium a gyógyítás-megelőzés napi munkájában megbízható és korszerű segítséget nyújthasson.

A körvizsgálatok értékelésekor a résztvevő laboratóriumoknak megküldött egyedi értékeléseken túl feltétlenül szükséges a laboratóriumok összesített teljesítményének bemutatása is, egyrészt, hogy a laboratóriumok saját eredményeiket összevethessék másokéval, másrészt hogy tudatosuljon: eredményeik milyen szakmai területen és mennyiben térnek el a referencia laboratóriumi eredményektől.

A mikrobiológiai jártassági körvizsgálatok szervezését, bonyolítását és koordinálását az OEK Minőségbiztosítási osztálya végzi 2005. májusa óta. Nagy vívmány, hogy az osztály a központi iktatás bevonásával megteremtette a teljes körű anonimitást, így a résztvevő laboratóriumok eredményeinek értékelését az értékelők elfogulatlanul végzik, mivel csak a laboratórium kódját ismerik. Nem is volt ezt olyan egyszerű megvalósítani, a teljes anonimitást az évek során csak fokozatosan lehetett elérni. Kezdetben volt olyan résztvevő, aki aláírással, illetve laboratóriumi bélyegzővel látta el az eredményközlő lapot a korábbi szokásoknak megfelelően, feladva ezzel anonimitását, mely természetesen nem kötelező, csak felajánlott lehetőség. Ma már azonban minden laboratórium él ezzel a lehetőséggel. Az anonimitás megőrzésének szem előtt tartásával kellett kezelni az e-maileket, telefonos megkereséseket is. A bevezetett megoldásokkal

ezeket a problémákat is sikeresen tudtuk kezelni: felhívtuk a résztvevők figyelmét, hogy eredményeiket ne küldjék vissza faxon és e-mailen, telefonon történő bejelentkezéskor csak a laboratórium kódjára hivatkozzanak, mivel az osztályon lévő telefonkészülékek nem jelzik ki a hívó számát. Az anonimitás néha túl jól sikerült, a résztvevők nem minden eredményközlő lapon tüntették fel a laboratórium kódját, ezzel komoly bonyodalmat okozva a kódszintű azonosításnál. Továbbképzésekkel azonban megoldottuk, hogy a központi iktatásáért felelős, titoktartási nyilatkozatot aláíró munkatárs minden szükséges adminisztratív ellenőrzést elvégez.

A Minőségbiztosítási osztály is elkötelezettje a folyamatos fejlődésnek, ebből adódóan igyekeztünk minden észrevételt és a kérdőíves felmérés során a résztvevőktől visszaérkezett javaslatokat figyelembe venni, illetve a szervezőmunka során szerzett tapasztalatainkat felhasználni.

Az alábbi táblázatokban foglaltuk össze a 2007. évben meghirdetett mikrobiológiai jártassági körvizsgálat palettáját, valamint szakterületenként a résztvevő laboratóriumok eredményeinek számszerű értékelését.

## 2007-ben meghirdetett Mikrobiológiai Jártassági Körvizsgálat szakmai területei

Vizsgálat megnevezése	Minta mennyisége
<b>Bakteriológiai</b> tenyésztés (vegyes, enterális) antibiotikum érzékenység vizsgálat	2x3 db minta
<b>Bakteriológiai szerológia (Borrelia burgdorferi)</b> ELISA IgG, IgM, Western Blot IgG, IgM	2x2 db minta
<b>Bakteriológiai szerológia (Lues)</b> Treponema pallidum IgG	2x2 db minta
<b>Bakteriológiai szerológia (Lues)</b> Rapid Plasma Reagin (RPR)	2x2 db minta
<b>Vírus szerológia</b> Hepatitis A vírus anti HAV-IgM	2x3 db minta
<b>Vírus szerológia</b> Hepatitis A vírus anti HAV totál	2x2 db minta
<b>Vírus szerológia</b> Hepatitis B vírus HbsAg	2x4 db minta
<b>Vírus szerológia</b> Hepatitis B vírus HbsAg (konfirmáció)	HbsAg vizsg. eredm. szerint
<b>Vírus szerológia</b> Hepatitis B vírus anti HBs	2x4 db minta
<b>Vírus szerológia</b> Hepatitis B vírus anti HBc IgM	2x3 db minta
<b>Vírus szerológia</b> Hepatitis B vírus anti HBc totál	2x2 db minta
<b>Vírus szerológia</b> Hepatitis C vírus anti HCV	2x4 db minta
<b>Vírus szerológia</b> EBV IgG, IgM	2x4 db minta
<b>Vírus szerológia</b> CMV IgG, IgM	2x4 db minta
<b>Vírus szerológia</b> VZV IgG	2x2 db minta
<b>Vírus szerológia</b> HSV-1 IgG és IgM	2x4 db minta
<b>Vírus szerológia</b> HSV-2 IgG és IgM	2x4 db minta
<b>Vírus szerológia</b> Rubeola vírus IgG és IgM	2x4 db minta
<b>Vírus szerológia</b> HIV Ag/At	2x4 db minta
<b>Parazitológiai szerológia</b> Toxoplasma gondii IgG, IgM, IgA, IgG aviditás	2x3 db minta
<b>Mikológiai</b> tenyésztés, gomba azonosítás, antimycotikum érzékenység meghatározás	2x3 db minta

2007. körvizsgálat eredményeinek értékelése:

<b>Bakteriológia tenyésztés</b>						
<b>Beküldő laboratórium (sorszám)</b>	<b>1. részeredmény</b>		<b>2. részeredmény</b>		<b>2007. évi körvizsgálati eredmény</b>	
	<b>pontszám</b>	<b>%</b>	<b>pontszám</b>	<b>%</b>	<b>pontszám</b>	<b>%</b>
1	18	90	17	85	35	87,5
2	9	45	14	70	23	57,5
3	18	90	19	95	37	92,5
4	14	70	3	15	17	42,5
5	7	35	13	65	20	50
6	16	80	20	100	36	90
7	15	75	20	100	35	87,5
8	18	90	20	100	38	95
9	19	95	20	100	39	97,5
10	20	100	19	95	39	97,5
11	19	95	20	100	39	97,5
12	20	100	20	100	40	100
13	14	70	13	65	27	67,5
14	7	35	16	80	23	57,5
15	-	-	5	25	5	25

Maximális pontszám: 20 (jutalom pont nélkül)

<b>Bakteriológia enterális</b>						
<b>Beküldő laboratórium (sorszám)</b>	<b>1. részeredmény</b>		<b>2. részeredmény</b>		<b>2007. évi körvizsgálati eredmény</b>	
	<b>pontszám</b>	<b>%</b>	<b>pontszám</b>	<b>%</b>	<b>pontszám</b>	<b>%</b>
1	6,5	65	8	80	14,5	72,5
2	9	90	5,5	55	14,5	72,5
3	9	90	10	100	19	95
4	6,5	65	7	70	13,5	67,5
5	6	60	6	60	12	60
6	7	70	8	80	15	75
7	8,5	85	7	70	15,5	77,5
8	10	100	8,5	85	18,5	92,5
9	9	90	8,75	87,5	17,75	88,75
10	7,5	75	7,5	75	15	75
11	8,5	85	8	80	16,5	82,5
12	8,5	85	7,5	75	16	80
13	8,5	85	7,5	75	16	80
14	10	100	7,5	75	17,5	87,5

Maximális pontszám: 10 (jutalom pont nélkül)

Egy résztvevő csak bakteriológiai tenyésztést, egy másik laboratórium pedig csak enterális vizsgálatot végzett.

<i>Borrelia burgdorferi</i>						
Beküldő laboratórium (sorszám)	1. részeredmény		2. részeredmény		2007. évi körvizsgálati eredmény	
	pontszám	%	pontszám	%	pontszám	%
1	55	100	50	100	105	100
2	50	91	50	100	100	95,5
3	54	98	50	100	104	99
4	55	100	33	66	88	83

Hepatitis								
Beküldő laboratórium (sorszám)	1. részeredmény			2. részeredmény			2007. évi körvizsgálati eredmény	
	Elérhető maximális pontszám	pontszám	%	Elérhető maximális pontszám	pontszám	%	pontszám	%
1	84	84	100	84	84	100	168	100
2	72	70	97	72	72	100	142	98,5
3	72	70	97	72	72	100	142	98,5
4	48	44	92	48	45	94	89	93
5	84	82	98	84	84	100	166	99
6	48	43	90	48	48	100	91	95
7	48	48	100	48	48	100	96	100
8	60	57	95	60	60	100	117	97,5
9	48	46	96	48	48	100	94	98
10	48	46	96	48	48	100	94	98
11	48	48	100	48	48	100	96	100
12	24	24	100	24	24	100	48	100
13	48	48	100	48	48	100	96	100
14	-	-	-	36	27	75	27	75

<b>EBV-CMV</b>						
<b>Beküldő laboratórium (sorszám)</b>	<b>1. részeredmény</b>		<b>2. részeredmény</b>		<b>2007. évi körvizsgálati eredmény</b>	
	<b>pontszám</b>	<b>%</b>	<b>pontszám</b>	<b>%</b>	<b>pontszám</b>	<b>%</b>
1	68	85	80	100	148	92,5
2	80	100	80	100	160	100
3*	-	-	40	100	40	100

\* a laboratórium csak CMV ellenanyag kimutatást végzett.

<b>HIV</b>			
<b>Beküldő laboratórium (sorszám)</b>	<b>1. részeredmény (megfelelőség)</b>	<b>2. részeredmény (megfelelőség)</b>	<b>2007. évi körvizsgálati eredmény (%)</b>
1	Igen	Igen	100
2	Igen	Igen	100
3	Igen	Igen	100
4	Igen	Igen	100
5	Igen	Igen	100
6	Igen	Igen	100
7	Nem	Igen	50
8	Igen	Igen	100

<b><i>Toxoplasma gondii</i></b>			
<b>Beküldő laboratórium (sorszám)</b>	<b>1. részeredmény (megfelelőség)</b>	<b>2. részeredmény (megfelelőség)</b>	<b>2007. évi körvizsgálati eredmény (%)</b>
1	Igen	Igen	100
2	Igen	Igen	100
3*	Igen	Igen	100
4	Igen	Igen	100
5	Igen	Igen	100
6	Igen	Igen	100
7	Igen	Igen	100
8**	Igen	Igen	100
9***	Igen	Nem	50
10	Igen	Igen	100



\* A körvizsgálatban való részvétel minimum feltételei (a laboratórium legalább IgG és IgM vizsgálatokat végez) nem teljesülnek ugyan, de a fenti vizsgálati spektrum összességében értékelhető.

\*\* Értékelést gravidáknál csak a második vérminta vizsgálata után adnak és megerősítik egy harmadik vérmintával.

\*\*\* A 2007/II. körvizsgálatban 3 tesztpreparátumból 1 felelt meg.

Mikológia						
Beküldő laboratórium (sorszám)	1. részeredmény		2. részeredmény		2007. évi körvizsgálati eredmény	
	pontszám	%	pontszám	%	pontszám	%
1	12	52	19	70	31	61
2	8	35	27	100	35	67
3	13	57	11	41	24	49
4	13	57	17	63	30	60
5	15	65	12	44	27	55
6	12	52	13	48	25	50
7	12	52	16	59	28	56
8	9	39	21	78	30	59

Összefoglalva a 2007. évi (I-II.) jártassági körvizsgálatban a résztvevő laboratóriumok átlag teljesítménye a következő táblázatban látható.

Vizsgálatok	2007/I. résztvevő laborok száma	Átlag teljesítmény (%)	2007/II. résztvevő laborok száma	Átlag teljesítmény (%)
bakteriológiai tenyésztés	14	76	15	80
bakteriológiai enterális	14	82	14	76
bakteriológia szerológia / <i>B. burgdorferi</i> /	4	97	4	92
bakteriológia szerológia / <i>T. pallidum</i> /	4	75	5	100
bakteriológia szerológia /RPR/	3	84	3	80
vírus szerológia	Hepatitis	13	14	98
	EBV-CMV	2	3	100
	VZV	2	2	100
	HSV-1, HSV-2	1	1	70
	Rubeola	1	1	75
	HIV*	8	8	100
parazitológia szerológia* / <i>T. gondii</i> /	10	10	10	90
mikológiai tenyésztés	8	51	8	63

(\*) A csillaggal jelölt vizsgálatok esetében az eredmények értékelésénél (az eredmény megfelelő, vagy nem megfelelő), a fenti táblázatban az átlagteljesítmény oszlop a megfelelő eredményt beküldők százalékos megoszlását jelzi.

## **A 2007/II. évi klinikai (vegyes) bakteriológiai jártassági körvizsgálat értékelése**

Gacs Mária

2007-ben az OEK Minőségbiztosítási osztályának szervezésében a szokásos évi két jártassági körvizsgálat összeállításában és a kapott eredmények értékelésében részt vett a Bakteriológia I osztály is. Két alkalommal két klinikai bakteriológiai tesztkészítményt állítottunk össze s a beérkező eredményeket egyedileg a már az elmúlt évben is használt séma szerint értékeltük.

A 2007/I jelű körvizsgálat klinikai bakteriológiai részének összesített értékelése már megjelent a Mikrobiológiai Körlevél 2007/4. számában, és az Intézet honlapjára is felkerült.

A 2007/II jelű körvizsgálat egyedi értékelése ugyancsak megtörtént és a résztvevő laboratóriumoknak kiküldésre került. Az alábbi összeállítás a 2007/II. körvizsgálat összesített értékelése, amelyben elemzésre kerültek a legfőbb és leggyakoribb hibák.

Az összesített eredmények értékelése lehetőséget ad következtetések levonására a résztvevő laboratóriumok szakmai színvonala tekintetében.

A jártassági körvizsgálat hitelességéhez a Bakteriológia I. osztályon működő referencia laboratóriumok tevékenysége, s a tesztkészítményekben használt baktérium törzsek igazolt származása döntő jelentőségű. A felhasznált törzsek közül kettő a NEQAS körvizsgálatában szereplők közül származott, egy korábbi WHO/CDC körvizsgálati törzs, egy pedig olyan multirezisztens törzs volt, amelyet osztályunk akkreditált nemzetközi tevékenységet folytató, referens laboratóriumában karakterizáltunk

A bakteriológiai jártassági körvizsgálatban a tesztkészítmények úgy kerülnek összeállításra, hogy olyan klinikai képet imitáljanak, s olyan baktérium törzseket tartalmazzanak, hogy megoldásuk, s az eredmények értékelése segítse a kollegákat mindennapi feladataik leghitelesebb és legkorszerűbb ellátásában.

Kívánatos lenne, hogy a laboratóriumok saját, jól felfogott érdekükben egyre többen csatlakoznának az OEK által szervezett körvizsgálatokhoz, mivel minden esetben a legaktuálisabb, legújabb tenyésztési és antibiotikum érzékenységi vizsgálatok eredményeit figyelembe véve készülnek a tesztpreparátumok és s a fentiek alapján történik értékülésük is.

A 2007/II jelű körvizsgálat két mintájának értékelését összesítve az alábbi észrevételek tehetők. A korábbiakhoz hasonlóan a kórokozók izolálása és identifikálása - egy-egy érthetetlenül rossz eredmény kivételével - jónak mondható. Szükséges hozzáfűzni, hogy ezekben a mintákban anaerob baktérium nem volt. Az antibiotikum érzékenységi vizsgálatokat tekintve határozott fejlődés látható. A legtöbb hiányosság még mindig az eredmények helyes interpretációjában tapasztalható.

A maximálisan elérhető pontszám 20 volt. Négy laboratórium 20+1 jutalom ponttal kiemelkedő teljesítménnyel végezte el a feladatokat, ezen kívül még három laboratórium ért el 20 pontot hibátlan eredménnyel. Két laboratórium pontszáma volt 5 pont alatt, ez utóbbiak szakmai munkájának javítása feltétlenül indokolt.

Az eredmények részletes tesztkészítmények szerinti értékelése:

**A tesztkészítmény jele: KK 2007. II/2**

A minta megnevezése: ízületi punktatum

A beteg kora, neme: 1 éves fiú

Anamnézis: lázas, étvágytalan, nyugtalan, sokat sír, fejlődése leállt

Klinikai tünetek: jobb csípőizülete kötött, mozgásra fájdalmat jelez,

Hőmérséklete: 38,5

Megelőző antibiotikum: terápia: -

**Tenyésztés, identifikálás eredménye:**

Aerob tenyésztéssel: *Kingella kingae*

Anaerob tenyésztéssel: anaerob baktérium nem tenyésztett ki

**Interpretáció:**

A mintából kitenyésztett baktérium az adott klinikai tünetek mellett kórokozónak tekinthető.

A felső légutakban való előfordulása kisgyermekkorban gyakoribb, s a véráramba kerülve elsősorban a csont-és ízületi szövetekben okoz gyulladós folyamatokat. A *Kingella kingae* a ritkábban előforduló tápigényes Gram-negatív pálcák egyike, az u.n. HACEK csoportba tartozik.

**Megjegyzés:**

Konzultáció a klinikussal

    haemokultura vizsgálata javasolt

    antibiotikum terápia ajánlás adása

A törzs beküldendő, az identifikálás megerősítésére

## Antibiotikum érzékenységi vizsgálat eredménye

### A vizsgált baktérium megnevezése: *Kingella kingae*

A rezisztencia típusa:-

Vizsgált antibiotikumok	Korong koncentráció µg	Zónaméret és/vagy MIC		Értékelés É, M, R
		mm	µg /ml	
ampicillin	10	30		É
ampicillin/clavulanicacid	20/10	30		É
cefuroxim	30	30		É
ceftriaxon	30	30		É
meropenem	10	33		É
gentamicin	10	23		É
ciprofloxacín	5	30		É*
levofloxacin	5	30		É*
trimethoprim/sulfamethoxazole	1.25/23.75	35		É

\*kis gyermekkorban nem adható

## Értékelés

### Tenyésztés, identifikálás:

A tesztkészítmény eredményét egy laboratórium nem küldte be, a többi résztvevő kitenyésztette az aerob baktériumot, két laboratórium a mintában nem lévő anaerobot is izolált.

A laboratóriumok az identifikálás eredményeként egy kivétellel *Kingella kingae*-t közöltek. Egy laboratóriumban súlyosan tévedtek az identifikálás során, s ezt tetőzte még, hogy ugyanez volt egyike annak a két helynek, ahol anaerob baktériumot is identifikáltak, ami nem volt a mintában. Ezek a súlyos hibák felhívják a figyelmet az alapszerveletek (Gram-festés, mikroszkópos vizsgálat, és az identifikálási eredmény egyeztetésére az antibiotikum érzékenységi vizsgálat eredményével) gondos elvégzésének fontosságára.

A laboratóriumok az identifikálást az esetek túlnyomó többségében hagyományos módon végezték, és a különböző tenyésztési és biokémiai sajátosságok alapján (egy kivétellel) helyesen diagnosztizálták a kórokozót. Egy laboratóriumban próbálkoztak a VITEK2 automatával is, de nem sikerült ily módon identifikálni a törzset.

Durva hibának tekinthető, ha olyan baktériumot izolálnak, identifikálnak (2 laboratórium) ami eredetileg nem volt a mintában. Ezekben az esetekben leginkább kontamináció feltételezhető vagy a fakultatív baktérium anaerobként való identifikálása, mindkét lehetőség a laboratórium munkájának hitelességét kérdőjelezi meg.

Formai hibának tekinthető, mégis fontos kérdés az eredményközlés módja. Még mindig vannak laboratóriumok, ahol az eredményszöveg kimerül abban, hogy pl. „*Kingella kingae*”, vagy „anaerob negatív”.

### **Interpretáció és megjegyzések:**

Az eredményhez semmiféle megjegyzést nem fűzött három laboratórium, ketten nagyon szűkszavúan közöltek véleményt, viszont 9 volt azon résztvevők száma, akik jól, s ezek közül néhányan kiválóan interpretálták az eredményt. A laboratóriumok 2/3-a szükségesnek tartotta haemokultura vizsgálatát, s csaknem ugyanennyien a klinikussal való konzultációt. A résztvevők közül 6 laboratórium említette, hogy a *Kingella kingae* a HACEK csoportba tartozik, természetesen ez elsősorban endocarditis vonatkozásában érdekes.

**Antibiotikum érzékenységi vizsgálat.** A vizsgált antibiotikumok köre ebben az esetben is -több résztvevő esetében - szükségtelenül szélesebb volt a kívánatosnál. Egy laboratórium viszont csak három antibiotikum érzékenységét vizsgálta, s ez a három se tartozott a terápiásan elsődlegesen szóba jöhetőkhöz. Nagyon sokan vizsgálták a clindamycint, sőt néhányan még a vancomycint is, amelyek diagnosztikus célból elképzelhetőek ugyan, de ezt csak egy laboratórium tüntette fel, a többiek egyszerűen kiadták a clindamycint rezisztensnek (6), mérsékelten érzékenynek (4) mindenféle megjegyzés nélkül. Egy laboratórium érzékenyként közölte a clindamycint, egy másik a vancomycint adta ki érzékenynek. E két szert szelektív táptalajba használják a kingellák izolálása céljából. A polymyxin B-t többen használták helyesen diagnosztikus célból a béta-haemolizáló streptococcusoktól való elkülönítésre. Egy laboratórium meropenem rezisztens eredményt közölt. Ez komoly hiba. Szokatlan meropenem rezisztencia esetén mindig gondolni kell a korong hatóanyagának esetleges csökkenésére (megfelelő tárolás hiánya).

Béta-laktám termelés előfordulhat a kingellák esetében, de a kiküldött törzs érzékeny volt minden béta-laktám antibiotikumra.

A fluoroquinolonokra érzékeny volt a törzs, de „gyermekkorban nem ajánlott” megjegyzéssel volt célszerű kiadni. A résztvevők mintegy 50%-a fűzött hozzá megjegyzést

A laboratóriumok fele a klinikai kép ismeretében antibiotikum terápiaként nagyon helyesen 3. gen. cefalosporint ajánlott.

### **A tesztkészítmény jele: KK 2007. II/3.**

A minta megnevezése: tamponos törlés

A mintavétel helye: az intenzív újszülött osztály tápfolyadék tartály

A mintavétel indoka: egy újszülött sepsis, meningitis tünetei közt exitált, 3 nappal később két másik újszülött hemokulturájából azonos baktériumot tenyésztettek ki.

### **Tenyésztés, identifikálás eredménye:**

#### ***Pseudomonas aeruginosa* és *Chryseobacterium meningosepticum***

#### **Az eredmény interpretálása:**

A kórházhigiénés mintából kitenyésző mindkét baktériumnak nosocomiális jelentősége van.

Amennyiben a tamponnal vett környezeti mintából izolált baktériumok valamelyike megegyezik az újszülöttek haemokulturájából kitenyésztett kórokozóval, nosocomiális járványról beszélhetünk. A törzsek azonosságának vizsgálatára antibiotikum érzékenységi, s további járványügyi tipizálási vizsgálatok végzése szükséges. A kórházhigiénikust és epidemiológust értesíteni kell. Javasolt további kórházhigiénés bakteriológiai vizsgálatok végzése a betegek, a személyzet körében és a környezetben.

#### **Megjegyzés:**

A mindkét törzs további vizsgálata, így beküldése szükséges. A *P. aeruginosa* esetében a rezisztencia mechanizmus vizsgálatára, fág- és szerotipizálásra. A *B. meningosepticum* esetében az identifikálási és antibiotikum érzékenységi vizsgálat eredményének megerősítésére.

#### **Antibiotikum érzékenységi vizsgálat eredménye**

Kórházhigiénés mintákból izolált baktériumok esetében az antibiotikum érzékenységi vizsgálat terápiás szempontból általában nem lényeges, de fontos a törzs jellemzésére, a rezisztencia fenotípus, és a törzsek azonosságának vizsgálatára.

A vizsgált antibiotikumok köre ez utóbbi szempontokból is érdekes, ugyanakkor jellemzi a vizsgálatot végző szakmai ismereteit.

A vizsgált baktérium megnevezése: ***Pseudomonas aeruginosa***

A rezisztencia típusa: multirezisztens törzs, nem metallo-béta-laktamáz termelő, molekuláris vizsgálatra küldve

Vizsgált antibiotikumok	Korong koncentráció	Zónaméret és/vagy MIC		Értékelés É, M, R
	µg	mm	µg/ml	
imipenem	10	12	32	R
meropenem	10	9	>32	R
ceftazidim	30	6	>256	R
cefepime	30	13	128	R
ciprofloxacin	5	6	>32	R
levofloxacin	5	6	>32	R
gentamicin	10	6	>256	R
tobramycin	10	6	>256	R
netilmicin	30	12	16	M
amikacin	30	20	8	É
piperacillin/tazobactam	100/10	8	256	R
aztreonam	30	11	-	R
colistin	10	13	3	É
polymyxinB	300 units	16	4	É

A *Chryseobacterium meningosepticum* törzsekre vonatkozóan, az aktuálisan érvényes CLSI standard nem tartalmaz határértékeket így az elvégzett vizsgálatok értékelése tájékoztató jellegű, s az antibiotikum ajánlás az irodalmi adatok és a kapott gátlási zónák nagysága alapján valószínűsíthető.

A vizsgált baktérium megnevezése: *Chryseobacterium meningosepticum*

Vizsgált antibiotikumok	Korong koncentráció	Zónaméret és/vagy MIC		Értékelés É, M, R
	µg	mm	µg/ml	
imipenem	10	13	>32	R
meropenem	10	15	>32	R
piperacillin	100	22	-	É
ceftazidim	30	6	>256	R
cefepime	30	13	48	R
ciprofloxacin	5	23	0,75	É
levofloxacin	5	27	0,38	É
gentamicin	10	11	16	R
netilmicin	30	8	48	R
amikacin	30	14	48	R
aztreonam	30	6	-	R
colistin	10	6	256	R
polymyxin-B	300 units	6	1024	R
erythromycin		23	4?	É
clindamycin		25	0,38	É
trimethoprim/sulfamethoxazol		27	0,19	É
vancomycin	30	19	4	É
tetracyclin	30	11	16	R
rifampicin		24	0,25	É

### Értékelés:

#### Tenyésztés, identifikálás:

Két laboratórium volt, amelyik csak egyféle baktériumot izolált ill. identifikált. Az egyik résztvevő csak *Pseudomonas aeruginosa*, a másik csak „*Chryseomonas meningosepticum* (helyesen *Chryseobacterium*)” eredményt küldött vissza, mintha a tesztkészítmény szintenyészet lett volna.

Az identifikálást a laboratóriumok 70 %-a API kittel végezte, ketten csak hagyományos biokémiai vizsgálatokat használtak, s egy laboratórium az eredményt VITEK2-automatával is megerősítette.

Súlyos hibának minősül, ha nem izolálja a laboratórium a mintában lévő és akár klinikailag akár kórházhygiénés szempontból jelentős baktériumokat. A körültekintő, pontos munka minden laboratóriumi tevékenységben életbevágóan fontos. Egy nem izolált kórokozó, emiatt helytelenül, hiányosan megadott



antibiotikum érzékenységi eredmény a terápia eredménytelenségéhez, s emiatt beláthatatlan következményekhez vezethet.

**Interpretálás:** Nagyon pozitívan értékelhető, hogy a laboratóriumok valamivel több, mint fele kitűnően interpretálta a mintából kitenyésztett baktériumokat, kiemelve nozokomiális jelentőségüket. Három résztvevő jó, három gyenge interpretációt küldött. Egy laboratórium nem fűzött semmit az eredményhez, csak remélni lehet, hogy a mindennapi rutinban nem így jár el, mivel ha nem interpretál és konzultál a korrektek eredmények sem igazán értékesek

**Megjegyzés:** Az izolált baktérium törzseket minden laboratórium beküldendőnek jelölte. A beküldés célját a laboratóriumok jelentős többsége nagyon jól határozta meg. Két laboratórium nem jelölte, hogy a *P. aeruginosa*-t multirezisztenciájának molekuláris vizsgálatára is szükséges beküldeni, s ugyancsak két résztvevő volt, aki ugyan beküldendőnek jelölte a törzseket, de nem fűzte hozzá a beküldés célját.

### **Antibiotikum érzékenységi vizsgálatok:**

#### *Chryseobacterium meningosepticum*

A laboratóriumok szinte kivétel nélkül kiegészítették a vizsgált antibiotikumok körét az irodalom alapján, az általában a Gram-pozitív baktériumokra hatásos szerekkel, s az eredmények azt mutatták, hogy ez lényeges is volt.

Egy laboratórium a határértékek hiánya miatt nem végzett vizsgálatokat, irodalmi adatokra utalt a baktérium antibiotikumokra való érzékenységét illetően. Ebben az esetben az antibiotikum érzékenységi vizsgálat hiánya nem teszi lehetővé a törzsek ily módon való azonosítását és konkrét, a törzsre vonatkozó ajánlás nem adható.

Nem javasolnám követendőnek azt a gyakorlatot, (4 laboratórium) hogy a laboratórium csak azokat az antibiotikumokat vizsgálja, amelyekre a baktérium feltehetőleg érzékeny, vagy csak az érzékeny eredményeket adja meg. Amennyiben mégis ezt a gyakorlatot követi, szükséges az eredmény mellett megjegyezni, hogy a baktérium az aminoglikozidokkal és a  $\beta$ -laktámokkal szemben általában rezisztens.

Az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok eredményeiben nagyon kevés volt a kifogásolható. Csak két laboratóriumban volt egy-egy komolyabb hiba. Egy laboratórium ciprofloxacinnal, egy másik trimethoprim/sulfamethoxazollal szemben találta rezisztensnek a törzset.

Az esetlegesen előforduló klinikai esetek terápiájára, az irodalom és a törzs vizsgálata alapján nagyon jó ajánlást adott 4 laboratórium.

### *Pseudomonas aeruginosa*

A törzs multirezisztens volta miatt a metallo- $\beta$ -laktamáz termelés gyanúja több résztvevőben felmerült. A vizsgálók közül 3-an negatívnak találják, 5-en felvetik a lehetőségét, de a rezisztencia mechanizmus további vizsgálatára egy laboratórium kivételével csaknem minden résztvevő tovább küldi. Egy laboratórium nem jegyzi meg, hogy multirezisztens törzsről van szó, s nem indokolja, miért küldi be.

A colistin érzékenységet 4 laboratórium vizsgálta, egy közülük csak korongdiffúzióval, ami, ha terápiás alkalmazásra kerül sor nem elégséges, MIC meghatározás szükséges. Valódi mintánál szükségesnek tartotta vizsgálatát 3 laboratórium. Nem vizsgálta, és nem említette szükségességét 5 laboratórium. Egy laboratórium polymyxinB MIC vizsgálatot végzett, értékét 3  $\mu\text{g}/\text{ml}$ -nek találta.

A vizsgálati eredmények általában megfelelőek, két laboratóriumból az amikacint helytelenül rezisztensként közölték. Nagy hibának tekinthető amiatt is, mivel a colistin mellett csak erre az antibiotikumra volt érzékeny a *P. aeruginosa*.

## A 2007. évi járványügyi-klinikai (enterális) bakteriológiai jártassági körvizsgálat értékelése

Herpay Mária

A 2007. évben megszervezett jártassági körvizsgálat alkalmával az enterális bakteriológiai tevékenységet is végző laboratóriumok két alkalommal kaptak tesztkészítményt, hogy azt a kísérő lapon feltüntetett klinikai anyagnak és a közölt anamnesztikus adatoknak megfelelően, az előírt módon feldolgozzák, közöljék az izolált baktériumok identifikálási és antibiotikum érzékenységi eredményeit és az eredményeket interpretálják.

A körvizsgálatok eredményei az utóbbi években, az OEK-ben működő Enterális megbetegedést okozó aerob baktériumok nemzeti referencia laboratórium (ENRL) tapasztalatait igazolták. A megoldásokban a minta megfelelő feldolgozása, és elsősorban az identifikálás eredményének interpretálása területein vannak hibák és bizonytalanságok. Az antibiotikum rezisztencia vizsgálatok vonatkozásában elsősorban a vizsgált antibiotikumok körének megállapítása, és a campylobacterek antibiotikum rezisztencia vizsgálata területeken fordulnak elő hibák.

Mindemellett az értékelések során tapasztalható az alapismeretek maradéktalan betartásának hiánya: az előírt és megfelelően kontrollált tenyésztő és biokémiai vizsgálat során alkalmazott táptalaj és/vagy diagnosztikus savó használata, az izolált baktériumtörzs továbbküldésének illetve megőrzésének hiányosságai, az eredményközlés, beküldési fegyelem és a jelentési kötelezettség hiányossága.

A maximálisan elérhető pontszám tesztpreparátumonként 10 pont volt.

### A KK 2007 I./1. jelzésű tesztpreparátum körvizsgálatának összefoglaló értékelése:

A körvizsgálat tesztpreparátuma aerob baktériumtörzsek olyan keverékét tartalmazta, mely utánozta a széklet aerob baktérium flóra összetételét. Tartalmazott apatogén *E. coli* baktériumokat, *E. faecalis*, *Pseudomonas spp.*, *Proteus sp.*, *Klebsiella spp.* baktériumokat és egyetlen kórokozót az *Escherichia coli* O26 szerocsoportú törzsét. Az adatok hiányos közlése tudatosan történt. Gyakran előfordul, hogy hiányosan kitöltött beküldőlap áll a laboratórium rendelkezésére. Ebben az esetben mérlegelni kell a helyzetet és – esetenként – a beküldővel történő konzultációt követően történhet meg a minta megfelelő feldolgozása. Ebben az esetben az életkor, a láz nélküli hasmenés és a kis mennyiségű vér jelenléte a székletben indikálja a minta feldolgozását enterovirulens *Escherichia coli* irányába is.

**A minta megnevezése:** székletminta

A beteg kora, neme: 33 éves, férfi

**Anamnézis:** hasmenés, láz nélkül

(megjegyzés: a feldolgozást végző asszisztens a mintában kevés vér jelenlétét tapasztalta)

**Eredmény:**

- *Escherichia coli* O26\* Gyanú. Kórokozó szerepe kétes.
- Enteroinvazív *E. coli*, *E. coli* O157, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Y. enterocolitica*, *Campylobacter* sp., *C. difficile* nem tenyésztett ki.
- *C. difficile* toxin negatív.

**Megjegyzés:**

\*A baktériumtörzset referencia laboratóriumba továbbítottuk megerősítő vizsgálat és/vagy tipizáló vizsgálat és/vagy virulencia marker kimutatás céljából.

**Interpretáció:**

Az izolált baktérium részt vehet a kórfolyamat kialakításában. A potenciálisan verocitotoxintermelő *E. coli* baktérium jelenléte miatt a beteg antibiotikus kezelése kontraindikált.

### **Tenyésztés, identifikálás és interpretáció értékelése**

A körvizsgálatban résztvevő laboratóriumok egyike sem követte a Mikrobiológiai Szakmai kollégium irányelvének (1) a tenyésztést megelőzően a minta festett készítményének mikroszkópos vizsgálatára vonatkozó javaslatát. (Ez természetesen a körvizsgálat körülményei között csak „elméleti” vizsgálatot jelentett volna).

A laboratóriumok 2/3–da a minta feldolgozásakor a Klinikai és járványügy bakteriológia Kézikönyv (2) és a Mikrobiológiai Szakmai kollégium irányelvét követve dolgozta fel a felnőtt beteg, hasmenéses székletmintát. Hangsúlyt fektetett a potenciálisan előforduló, vérest hasmenést okozó enterohemorragiás *E. coli* baktériumok szelektív tenyésztésére: 5 laboratórium SMAC és egy CTSMAC táptalajokra is feldolgozta a tesztpreparátumot. Egy laboratórium jelezte, hogy e baktériumok dúsításra TSB táptalaj használt. Ez utóbbi megfelelése kérdéses, hiszen verocitotoxintermelő *E. coli* baktériumok dúsítására csak az ún. módosított mTSB táptalaj alkalmas, mely a TSB 2 mg novobiocinnel kiegészített változata. További lényeges eleme a dúsításnak a beoltott mTSB táptalaj rázva tenyésztése (100rpm) egy éjszakán át. A laboratórium által beküldött dokumentációs anyagban nem szerepel a módosított TSB-re illetve a speciális tenyésztési módra vonatkozó megjegyzés.

A tenyésztésre és biokémiai azonosításra felhasznált táptalajok vonatkozásában jelentős különbség volt az egyes laboratóriumok között. A laboratóriumok mintegy 1/3-da (1 csoport, 5 laboratórium) Bi, DC, EM, SMAC, SD, CCDA és kiegészítésként Br(3), V(1), anaerob V vagy CM(2), TCBS(1), CCFA(1) táptalajokra dolgozta fel a tesztkészítményt. A laboratóriumok többsége (2. csoport, 9 laboratórium) feldolgozását az XLD, MCK, CCDA és SD táptalajokra végezte és kiegészítésként alkalmazta a V(2), ampV(3), SMAC(2), anaerob V(2), RD(1) táptalajokat is.

A kitenyésztett *E. coli* baktérium azonosítására a laboratóriumok a hagyományos biokémiai vizsgálat és a tárgylemezagglutinációs módszerrel végzett szerológiai meghatározás módszereit alkalmazták. Sajnálatos módon a helyes feldolgozás mellett (EM, SMAC, CTSMAC) 5 laboratórium nem alkalmazta az O157 tárgylemez agglutinációs vizsgálatot a fenti táptalajokon megjelenő laktóz pozitív vagy szorbit negatív *E. coli* telepek vizsgálatára. Az *Escherichia coli* O26 baktériumtörzset valamennyi résztvevő laboratórium helyesen azonosította, de közülük 3 az eredmény kiadásban nem követte a KJB javaslatát: „a korábban B típusú felületi antigén jelzést csecsemők enteritisét ill. dysenteria-szerű hasmenést okozó *E. coli* törzsek szerotípusának jelölésére ne használjuk.” (KJB 361. old.).

Fontos megjegyezni, hogy a laboratóriumok nagy része (12) nem fűzött kiegészítő megjegyzést a kiadott eredményéhez. Négy laboratórium „Kórokozó szerepe kétes” vagy „Gyanú.” kiegészítése pontosította a laboratórium által kiadott eredményt, felhívták a beküldő klinikus és az epidemiológus figyelmét, hogy az izolált baktériumtörzs etiológiai ágens szerepének tisztázása folyamatban van, és a további intézkedések nagymértékben a szerológiai és patogén marker kimutatását végző ENRL laboratórium eredményétől függenek.

A baktérium és antibiotikum helyesírásmódja terén még mindig vannak zavarok.

Például *E. coli* O26 helyett *E. coli* O26 vagy *E. coli* O26:K60, *E. coli* O26 K:60; trimethoprim/sulfamethoxazol helyett; sulphamethoxazole/trimethoprim; tetracyclin helyett tetraciklin szerepel.

Az eredmény interpretálásának fontossága minden egyes értékelés során jelentős hangsúlyt kap. Ezen a téren a legváltozatosabb teljesítményt nyújtották a jártassági körvizsgálat résztvevői.

A résztvevő laboratóriumokban általánosan jelentkező hiba az enterális megbetegedést okozó *E. coli* eredményének interpretálása. Az elvégzett vizsgálatok alapján a diagnosztizáló és izoláló laboratórium nem tudja az *E. coli* izolátumokat patotípusba besorolni, így nem tudja megítélni azok kórfolyamatban játszott szerepét sem. Téves megállapítás, hogy az O26 szerocsoportú *Escherichia coli* baktériumok nem lehetnek felnőtt beteg esetében kórokozók. A megbetegítő képesség bizonyos patogén markerek hordozásával

függ össze és ezek kimutatása Referencia laboratóriumi vizsgálatokkal igazolható (pl. toxinkimutató ELISA, latex vagy PCR módszerrel, felületi adhéziós markerek kimutatása PCR módszerrel stb.)

A laborok 1/3-da nem adta ki valamennyi, általa elvégzett és negatív eredményt adó vizsgálatának eredményét, holott – tekintettel egy feltételezhetően élelmiszer közvetítésével terjedő megbetegedés előfordulására - e laboratóriumi eredmények ismeretének nagy jelentősége van a járvány felderítésében. Például 3 laboratórium végzett *E. coli* O157 savóval tárgyalemez agglutinációt, kizárta e kórokozó jelenlétét, de nem adta ki az eredményt. Egy másik laboratórium feldolgozta mintáját anaerob baktériumok kimutatásának irányába is, de vizsgálatai negatív eredményét nem adta ki.

A bakteriológiai laboratóriumok konzultatív tevékenysége elengedhetetlenül hozzá tartozik a szakmai munka hitelességéhez. A jártassági körvizsgálatban résztvevő laboratóriumok mindegyike – nagyon helyesen - jelezte, hogy konzultációt folytat a beküldő klinikussal és az illetékes ÁNTSZ Epidemiológiai osztályával. Kevésbé hangsúlyosan jelent meg ebben a vonatkozásban az a konzultációs tevékenység, melyet a laboratóriumnak a kiegészítő, megerősítő, tipizáló vizsgálatokat végző laboratóriummal kellene folytatni. Ez utóbbi konzultáció célja a konkrét helyzet együttes elemzését követően meghatározott mintaküldés, a szükséges vizsgálatok körének megállapítása, sürgőssége. E konzultáció segíti a Referencia laboratóriumot, hogy adott esetben munkaidőn túl is fogadja a mintát, illetve a szükséges, de nem rutinszerűen végzett vizsgálatokra előkészülve biztosítsa a gyors laboratóriumi verifikálást, tipizálást.

Mindemellett pozitívan értékelhető, hogy mindegyik laboratórium elküldené megerősítésre, további szerológiai vagy molekuláris vizsgálatra illetve járványügyi célból történő tipizáló vizsgálatra az izolátumokat, 8 esetben helyesen jelölve meg a vizsgálat célját: szerológiai megerősítés, egyéb tipizálás (pl. intimin, toxin), patogén marker kimutató.

### **Antibiotikum érzékenységi vizsgálat értékelése**

Enterális megbetegedés esetében az antibiotikus kezelés akkor indokolt, ha a beteg állapota súlyos, a szisztémás tünetek kifejezettek, a beteg lázas, a széklet véres és/vagy az alapbetegség, életkor miatt a beteg veszélyeztetett. Bizonyos kórokozók esetében az antibiotikus terápia ellenjavallt az antibiotikus kezelés hatására fokozódó toxinhatás megelőzésére pl. EHEC/STEC/VTEC. Két laboratórium előbbi ok miatt nem végzett antibiotikum érzékenységi vizsgálatot. Bár a kontraindikációra vonatkozó megállapításuk helyes, ez nem zárja ki e rezisztencia vizsgálat elvégzésének szükségességét. A megoldás az eredmény megfelelő interpretálása.

Az izolált, aerob baktériumok antibiotikum érzékenységi vizsgálatát a laboratóriumok korong diffúziós módszerrel végezték. A használt táptalaj egységesen a Mueller- Hinton táptalaj volt. A székletmintából izolált *E. coli* baktérium törzs antibiotikum érzékenységi vizsgálatánál a problémát leginkább az okozta, hogy a vizsgálat és megadott antibiotikumok köre sokkal bővebb az ajánlottnál és ez esetenként félrevezetheti a klinikusokat.(3, 4, 5)

Az izolátumok érzékenységét ampicillin, trimethoprim/sulfamethoxazol és kinolon (ciprofloxacin és/vagy norfloxacin, levofloxacin, ofloxacin) antibiotikumokkal szemben szinte valamennyi laboratórium vizsgálta és érzékenynek adta ki minden esetben. Két laboratórium meghatározta az ampicillin és ciprofloxacin MIC értékét is.

Ismert tény, hogy az *E. coli* törzsek között számos, terápiásan alkalmazott antibiotikummal szembeni rezisztencia elterjedőben van hazánkban is. A törzsek több mint 40%-a ampicillinnel, 30%-a tetracyclinnel szemben rezisztens, és emelkedik a ciprofloxacinnal és sumetrolimmal szemben kialakuló rezisztencia is. A laboratóriumok fele ezen antibiotikumokkal szemben érzékenynek találta izolátumát.

Az elmúlt időszakban egyre nagyobb közegészségügyi problémát jelent az ESBL termelő *E. coli* baktériumok elterjedése. A plazmidon elhelyezkedő, rezisztenciáért felelős gén molekuláris módszerrel történő kimutatását megelőzően, a diagnosztikus vizsgálatot végző laboratóriumok a ceftazidim és/vagy cefotaxim, cefpodoxim, ciprofloxacin rezisztencia vizsgálatának eredménye felvetheti ESBL termelő törzs jelenlétének valószínűségét. A laboratóriumok több mint 1/3-da (5) vizsgálta izolátumának érzékenységét 3. generációs cefosporinokkal szemben.

Fentiek mellett 5 laboratórium gentamicinnel, nalidixsavval, chloramphenicollal és amikacinnal szembeni rezisztenciát is vizsgált. Valamennyi antibiotikummal szemben érzékenynek bizonyult a törzs. Egy laboratórium elvégezte a nitrocefín tesztet is.

Valamennyi laboratórium helyesen interpretálta, hogy az EHEC/STEC/VTEC okozta fertőzés esetében az antibiotikum terápia a szövődmények kialakulásának kockázata miatt kontraindikált.

### A KK 2007 II./1. jelzésű tesztpreparátum körvizsgálatának összefoglaló értékelése:

A körvizsgálat tesztpreparátuma aerob baktériumtörzsek keverékét tartalmazta. Az összetétel meghatározásakor a közelmúltban, Dániában lezajlott, ivóvíz által terjesztett járvány epidemiológiai és laboratóriumi adatai szolgáltak alapul (6). A járvány laboratóriumi kivizsgálása során 139 beteg személy székletmintájából 49 esetben aerob baktérium (*Salmonella* Stanley, *Salmonella*

Weltevreden, *Yersinia enterocolitica*, és különféle enterovirulens *Escherichia coli*), 35 esetben vírus (Norovirus, rotavírus), és 13 esetben parazita (*Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica/dispar*, *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*) került izolálásra.

A CDC közlése szerint (7) 2003 és 2005 közötti időszakban az Egyesült Államok területén 2698 víz által terjesztett járvánnyal kapcsolatos megbetegedés történt. A megbetegedések közel  $\frac{3}{4}$ -de (1945 eset) esetében a vezető tünet gastroenteritis volt. A lezajlott 30 gasztroenteritis járványt baktériumok (1/3) vírusok (1/3) és paraziták (elsősorban *Cryptosporidium*) okozták

Ezen túlmenően ismert tény, hogy a vibriók okozta fertőzések száma (és esetenként súlyossága) az elmúlt 25 évben jelentős mértékben emelkedett világszerte. Ez a jelenség részben a globális felmelegedéssel, de emellett jelentős mértékben a megváltozott ökoszociális (logisztikai változások, táplálkozási szokások változása, turizmus fellendülése a melegévi országokban stb.) helyzettel függ össze. A CDC közleménye is felhívja a figyelmet a fenti időszakban diagnosztizált, vibriók által okozott 142 megbetegedésre. A kórokozó leggyakrabban izolált képviselői a *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, és *V. parahaemolyticus* fajok képviselői voltak. E megbetegedések mindegyike víz által terjesztett járvánnyal volt összefüggésben.

#### **A minta megnevezése:**

székletminta (felnőtt, beteg személy)

#### **Anamnézis:**

súlyos tünetekkel járó enterális megbetegedés (hasmenés, hasi görcsök, hányás, láz). A beteg lakóhelye szerinti városrészből számos enterális megbetegedés került bejelentésre az elmúlt napokban. Az adott városrész több pontján bejelentésre került a hálózati ivóvíz elszíneződése, szokatlan illata és íze.

#### **Eredmény: *Salmonella* Stanley\***

*Escherichia coli* O119 \* Gyanú. Kórokozó szerepe kétes.

*Escherichia coli* O55\* Gyanú. Kórokozó szerepe kétes.

*Campylobacter coli*\*

*Shigella* sp., *Y. enterocolitica*, *E. coli* O124 (vagy enteroinvazív) *E. coli*, *V. cholerae* stb. nem tenyésztett ki.

#### **Megjegyzés:**

\*A baktériumtörzset referencia laboratóriumba továbbítottuk megerősítő vizsgálat, virulencia marker kimutatás és járványügyi tipizáló vizsgálat céljából.



A vizsgálati mintát vírus laboratóriumba és parazitológiai laboratóriumba továbbítottuk vagy a beküldővel történt konzultáció során vizsgálati minta beküldését javasoltuk vírus és parazitológiai laboratóriumba.

### **Interpretáció:**

Az izolált baktériumok mindegyike részt vehet a kórfolyamat kialakításában. A többféle enterális kórokozó egyidejű jelenléte a betegből származó székletmintában a feltételezhetően szennyvízbetörés miatt fekálián szennyezett ivóvíz által terjesztett polietiológiás fertőzés következménye. Az *E. coli* baktériumok esetében csak előzetes eredményt adhat ki a laboratórium. Az izolált *E. coli* baktériumok kórokozó szerepének tisztázása szerológiai megerősítő és virulencia marker kimutatására irányuló vizsgálatokkal lehetséges. Ennek érdekében az *E. coli* baktériumokat az OEK Bakteriológiai II osztály Enterális megbetegedést okozó aerob baktériumok Nemzeti Referencia Laboratóriumába (ENRL) kell küldeni. Az aerob enterális kórokozók járványügyi érdekből végzett tipizáló vizsgálatait az OEK Fág- és molekuláris epidemiológiai osztályán működő Enterális és nosocomiális eredetű baktérium fajok járványügyi tipizáló Nemzeti Referencia Laboratóriumában, a campylobacterek tipizáló vizsgálatait az Enterális megbetegedést okozó semianaerob (campylobacter, acrobacter) baktériumok Nemzeti Referencia Laboratóriumában (ÁNTSZ Dél magyarországi Regionális Intézete, Szeged) történnek. A törzseket meg kell őrizni és a területileg illetékes ÁNTSZ Epidemiológiai osztályával és a referencia laboratóriumokkal történt egyeztetést követően, az adott fajba tartozó, megfelelő számú baktériumtörzset járványügyi tipizáló vizsgálatra be kell küldeni a fent nevezett laboratóriumokba. Az antibiotikum terápiára vonatkozóan a klinikussal folytatott konzultáció szükséges. Figyelembe kell venni a fertőzés polietiológiás jellegét. Szükséges a beteg figyelmét felhívni a higiénés szabályok fokozott betartására.

### **Tenyésztés, identifikálás és interpretálás értékelése**

A körvizsgálatban résztvevő laboratóriumok közül csak egy követte a Mikrobiológiai Szakmai kollégium irányelvének javaslatát, és a tenyésztést megelőzően a minta festett készítményének mikroszkópos vizsgálatát elvégezte. Ez természetesen a körvizsgálat körülményei között csak „elméleti” vizsgálat volt.

A laboratóriumok 2/3–da a minta feldolgozásakor a felnőtt beteg, hasmenéses székletminta feldolgozási rutint követte és nem fektetett kellő hangsúlyt egy feltételezhető vízjárvány kivizsgálásakor követendő kiegészítő vizsgálatokra. Csak egy-egy laboratórium gondolt a minta vírus és parazitológiai diagnosztikus vizsgálatának szükségességére. Mindösszesen 6 laboratórium terjesztette ki vizsgálatait a salmonella, *E. coli*, campylobacter, shigella és

yersinia mellett egyéb potenciálisan előforduló bakteriális patogén kimutatására pl. vibrió, aeromonas (1. táblázat).

1. táblázat A laboratóriumok megoszlása a vizsgálat iránya szerint

Vizsgálat iránya	Laboratórium száma
Salmonella	14
Shigella	14
Yersinia	14
enterovirulens <i>E. coli</i>	14
Campylobacter	14
vibrio ( <i>V. cholerae</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> )	4
Aeromonas	7
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1
Anaerob baktérium	3
<i>B. cereus</i>	3
<i>C. perfringens</i>	4
<i>S. aureus</i>	4
vírus (továbbküldés)	1
parazita (továbbküldés)	-

A tesztkészítmény feldolgozása a Klinikai Járványügyi bakteriológiai Kézikönyv és a Mikrobiológiai Szakmai Kollégium által kidolgozott szakmai irányelv szerint történt a laboratóriumokban. A tenyésztésre és biokémiai azonosításra felhasznált táptalajok vonatkozásában ez jelentős különbségeket eredményezett az egyes laboratóriumok között. A laboratóriumok mintegy 1/3-da (1 csoport, 5 laboratórium) Bi, DC, EM, V, SD, CCDA és kiegészítésként SMAC(4), Br(2), anaerob V, CM(2), TCBS(1), ampV(1) táptalajokra dolgozta fel a tesztkészítményt. A laboratóriumok többsége (2. csoport, 9 laboratórium) feldolgozását az XLD, MCK, CCDA és SD táptalajokra végezte és kiegészítésként alkalmazta a V(6), ampV(5), SMAC(3), anaerob V(2), RD(2), TCBS, TTAP (1), PEA(1), és SA(1) táptalajokat is. Az eltérő feldolgozás nem befolyásolta az identifikálás eredményét: mindkét csoportban előfordultak kiváló és sikertelen tenyésztési eredmények. Az 1. csoportban egy laboratórium nem izolálta az *E. coli* O55 és *Campylobacter coli* baktériumokat és egy másik laboratórium nem izolálta az *E. coli* O55 baktériumot. Hasonlóan sikertelen volt az *E. coli* O55 tenyésztése és identifikálása a 2. csoport 3 laboratóriumában. A tesztkészítmény feldolgozásában jelentkező különbség nem befolyásolta az eredménykiadás gyorsaságát sem: 2-2 laboratórium a feldolgozást követő napon kiadta a Salmonella gyanú előzetes eredményét. Az *E. coli* baktériumok esetében a laboratóriumok mintegy fele adott ki előzetes eredményt.

2. táblázat A 2007 II./1. körvizsgálatban izolált és helyesen identifikált specicsenek

Az izolált sepcics identifikálásának eredménye	Laboratóriumok száma
<i>Salmonella Stanley</i>	11
<i>Salmonella sp.</i>	3
<i>Campylobacter coli</i>	2
<i>Campylobacter jejuni</i>	1
<i>Campylobacter sp.</i>	10
<i>Escherichia coli</i> O55	8
<i>Escherichia coli</i> O119	14

A mintában levő valamennyi kórokozó baktériumot 7 laboratórium izolálta sikeresen. Öt laboratórium nem azonosította az *E. coli* O55 baktériumot, egy laboratórium az *E. coli* O55 baktérium mellett a *Campylobacter coli* baktériumot sem mutatta ki. Egy esetben a species meghatározás helytelenül *Campylobacter jejuni* volt. A kitenyésztett salmonella és *E. coli* baktériumok identifikálására a laboratóriumok a hagyományos biokémiai vizsgálat és a tárgylemezagglutinációs módszerrel végzett szerológiai meghatározás módszereit alkalmazták. A salmonella esetében elegendő volt a genus szintű meghatározás, a szerotipizálás nem volt követelmény, de feltétlenül szükséges volt a törzs továbbítása szerotipizálást végző regionális vagy ENRL laboratóriumba. Ennek ellenére a salmonellát csupán 3 laboratórium identifikálta genus szintig, 11 pontosan identifikálta és kiadta a *Salmonella Stanley* eredményét. Egy laboratórium az elvégzett tárgylemezagglutinációs vizsgálata alapján kiadta az O4,5,12:-:1,2 antigénszerkezetet. Ez hibás eredmény. A salmonellák un. első fázisú H antigénjét ugyanis a laboratórium nem határozta meg, azaz az antigénszerkezet helyesen: O4,5,12:\*:1,2. Az *Escherichia coli* O119 baktériumtörzset valamennyi résztvevő laboratórium helyesen identifikálta, de közülük 4 az eredmény kiadásban nem követte a Klinikai és Járványügyi Bakteriológia Kézikönyv (KJB, 1999) iránymutatását: „a korábban B típusú felületi antigén jelzést csecsemők enteritisét ill. dysenteria-szerű hasmenést okozó *E. coli* törzsek szerotípusának jelölésére ne használjuk.” (KJB 361. oldal). Az *Escherichia coli* O55 baktériumtörzset 8 laboratórium identifikálta helyesen, azonban egyikük a fentiekben már jelzett helytelen eredménykiadási gyakorlatot követte.

A campylobacterek azonosítása a tenyésztési, telepmorfológiai és mikroszkóposan meghatározott sejtmorfológiai tulajdonságokon túl a hazai és nemzetközi gyakorlatban alkalmazott biokémiai teszteken alapult (oxidáz reakció, hippurát teszt, indoxil acetát próba). Azonban a campylobacter törzs

esetében 10 laboratórium csak genus szintű meghatározást végzett, és a törzset továbbküldte a *Campylobacter* referencia laboratóriumba.

Fontos megjegyezni, hogy a laboratóriumok egy része (3) egyáltalán nem fűzött kiegészítő megjegyzést a kiadott eredményéhez. További jelentős hibát okozott, hogy az eredményben közölt kiegészítések több laboratórium esetében hibásak voltak. Például „enterotoxintermelő *E. coli* baktérium nem tenyésztett ki”, *E. coli* O119 (EPEC), *E. coli* O55 (EHEC). A laboratórium, az általa elvégzett vizsgálatok eredményének ismeretében az előbbi (patotípusba besorolásra utaló) megjegyzésre nem jogosult, eredménye ebben a formában félrevezetheti a klinikust és az epidemiológust is.

A baktérium és antibiotikum helyesírásmódja terén még mindig vannak zavarok. Például *E. coli* O119 helyett *E. coli* O119:K69 vagy *E. coli* O119(K69); *Salmonella* Stanley helyett *Salmonella* Stanley vagy *Salmonella* Stanley; trimethoprim/sulfamethoxazol helyett; sulphamethoxazole/trimethoprim; Sulfamethox.-trimethoprim; tetracyclin helyett tetraciklin szerepel.

Az eredmény interpretálásának fontossága minden egyes értékelés során jelentős hangsúlyt kap. Ezen a téren a legváltozatosabb teljesítményt nyújtották a jártassági körvizsgálat résztvevői.

A részvevő laboratóriumokban általánosan jelentkező hiba az enterális megbetegedést okozó *E. coli* eredményének interpretálása. Az elvégzett vizsgálatok alapján a diagnosztizáló és izoláló laboratórium nem tudja az *E. coli* izolátumokat patotípusba besorolni, így nem tudja megítélni azok kórfolyamatban játszott szerepét sem. Téves megállapítás, hogy az O55 és/vagy O119 szerocsoportú *Escherichia coli* baktériumok nem lehetnek felnőtt beteg esetében kórokozók. A megbetegítő képesség bizonyos patogén markerek hordozásával függ össze és ezek kimutatása Referencia laboratóriumi vizsgálatokkal igazolható (pl. toxinkimutató ELISA, latex vagy PCR módszerrel, felületi adhéziós markerek kimutatása PCR módszerrel stb).

A laborok 1/3-da nem adta ki valamennyi, általa elvégzett és negatív eredményt adó vizsgálatának eredményét, holott – tekintettel a valószínűsíthető víz terjesztette járványra- e laboratóriumi eredmények ismeretének nagy jelentősége van a járvány felderítésében. Például végzett *E. coli* O124 savóval tárgylemez agglutinációt, kizárta e kórokozó jelenlétét, de nem adta ki az eredményt. Másik laboratórium feldolgozta mintáját anaerob baktériumok kimutatásának irányába is, de vizsgálatai negatív eredményét nem adta ki.

Négy laboratórium nem fűzött kiegészítő megjegyzést a kiadott eredményéhez pl. *E. coli* O119 esetében „Kórokozó szerepe kétes”, „Gyanú.”

Annak ellenére, hogy járvánnyal összefüggő vizsgálati minták esetében a korai eredményközlés fokozott jelentőséggel bír, 4 laboratórium - bár a kórokozó vizsgálatát a szakma szabályainak megfelelően elvégezve helyes eredményt kapott, azt nem adta ki időben „előzetes eredmény” és/vagy „a

baktérium identifikálása /szerotipizálása /antibiotikum érzékenységi vizsgálata folyamatban” megjegyzéssel.

A napi rutinban a laboratóriumok konzultatív tevékenysége elengedhetetlenül hozzá tartozik a szakmai munka hitelességéhez. A jártassági körvizsgálatban résztvevő laboratóriumok döntő többsége jelezte, hogy konzultációt folytat a beküldő klinikussal és az illetékes ÁNTSZ Epidemiológiai osztályával. Kevésbé hangsúlyosan jelent meg ebben a vonatkozásban az a konzultációs tevékenység, melyet a laboratóriumnak a kiegészítő, megerősítő, tipizáló vizsgálatokat végző laboratóriummal kellene folytatni. (lsd. 2007 I/1 értékelést is)

Mindemellett pozitívan értékelhető, hogy a laboratóriumok többsége elküldené megerősítésre, további szerológiai vagy molekuláris vizsgálatra illetve járványügyi célból történő tipizáló vizsgálatra az izolátumokat, helyesen jelölve meg a vizsgálat célját. Sajnálatos módon három laboratórium nem közölt adatokat a baktériumtörzs megőrzésére és/vagy továbbküldésének céljára és helyére vonatkozóan. Öt laboratórium – helytelenül - nem küldené be *E. coli* baktériumtörzseit szerológiai megerősítésre a Referencia laboratóriumba. Egy laboratórium nem jól határozta meg a megerősítő illetve tipizáló vizsgálatot végző, fogadó laboratóriumot.

### **Antibiotikum érzékenységi vizsgálat értékelése**

Az antibiotikus kezelés akkor indokolt, ha a beteg állapota súlyos, a szisztémás tünetek kifejezettek, a beteg lázas, a széklet véres és/vagy az alapbetegség, életkor miatt a beteg veszélyeztetett. Megjegyzendő, hogy a korábban kiterjedten alkalmazott antibiotikumok közül a tetracyclinek a magas rezisztencia miatt már nem javasolhatók, a cotrimoxazol hatékonysága is igen jelentősen csökkent az *E. coli*, *Shigella* speciesekkel szemben. Újabban a flurokinolonok elleni *E. coli* és *Campylobacter jejuni* rezisztencia is emelkedik. A fluorokinolonok alkalmazásánál figyelembe kell venni azok fotoszenzitiváló hatását is. A rifaximin (8) csak véres hasmenéssel nem járó esetekben javasolt és hatékonysága nem bizonyított shigella, campylobacter infekcióban. Az azithromycintől elsősorban *Campylobacter jejuni* infekció esetén várhatunk hatékonyságot. Az antibiotikum kezelés javasolt átlagos időtartama 3 nap.

Az izolált, aerob baktériumok antibiotikum érzékenységi vizsgálatát a laboratóriumok korong diffúziós módszerrel végezték. A használt táptalaj egységesen a Müller- Hinton táptalaj volt. A vizsgálandó antibiotikumok köre még mindig sok esetben kifogásolható. Teljesen hibás az a gyakorlat, hogy salmonellák esetében is vizsgálnak minden általában a Gram negatív baktériumokra hatékony antibiotikumot. Kifogásolható, hogy enterális megbetegedés esetében, a széklet mintából izolált salmonella baktériumok

esetében vizsgálják a szisztémás megbetegedések terápiájában alkalmazandó antibiotikumokkal szembeni érzékenységet is. (6) Sajnálatos, hogy a vizsgálatban résztvevő laboratóriumok többsége (10/14) ezt nem vette figyelembe.

A székletmintából izolált salmonella, *E. coli* baktérium törzsek antibiotikum érzékenységi vizsgálatánál a problémát leginkább az okozta, hogy a vizsgálat és megadott antibiotikumok köre sokkal bővebb az ajánlottnál és ez esetenként félrevezetheti a klinikusokat.

Az izolátumok érzékenységét ampicillin, trimethoprim/sulfamethoxazol és kinolonok (pl. ciprofloxacin, norfloxacin, nalidixsav, ofloxacin) antibiotikumokkal szemben szinte valamennyi laboratórium vizsgálta és érzékenynek adta ki minden esetben. E mellett 6 laboratórium vizsgálta a 3. generációs cephalosporinokkal (ceftazidim, cefotaxim, ceftriaxon, cefixim) szembeni rezisztenciát is. További 6 laboratórium tetracyclin és 1-1 laboratórium chloramphenicol, aminopenicillin (amoxicillin clavulansav), Augmentin, aminoglikozidok (Amikacin, Gentamicin) és karbapenemek (Imipenem), csoportjába tartozó antibiotikumokkal szembeni rezisztenciát is vizsgált.

Helyesen interpretálták a laboratóriumok, hogy az EHEC/STEC/VTEC okozta fertőzés esetében az antibiotikum terápia a szövődmények kialakulásának kockázata miatt kontraindikált.

A mikroaerofil campylobacterek antibiotikum érzékenységi vizsgálataira vonatkoztatható CLSI ajánlás jelenleg nem áll rendelkezésre a módszer reprodukálhatóságának nehézségei és a megfelelő definitív standardok hiánya következtében. Az orvosi mikrobiológia szakterületén megjelenő közlemények, és a konszenzuson alapuló terápiás javaslatok az esetek egy részében szükségtelenné tehetik az antibiotikum érzékenységi vizsgálat elvégzését. Amennyiben a vizsgálat elvégzése mégis szükséges, azt a jelenleg legmegfelelőbb módszernek tekintett un. hígítós módszerrel ajánlott elvégezni. Ennek érdekében a baktériumtörzs Referencia laboratóriumba küldése indokolt lehet. Azonban az eredmény interpretálásakor ebben az esetben is említést kell tenni az antibiotikum érzékenységi vizsgálat eredményének módszerből fakadó korlátaira. (9)

A résztvevő laboratóriumok közül 2 határozta meg a *Campylobacter coli* törzs antibiotikum rezisztenciáját Etest-el, három laboratórium korong diffúziós módszerrel végzett vizsgálatot. Közülük négy laboratórium helyesen interpretálta az eredményét, és megfelelően tájékoztatta a klinikust, azonban az egyik laboratórium eredményét nem interpretálta. Három laboratórium antibiotikum rezisztencia vizsgálatot nem végzett és helyesen, a konszenzuson alapuló makrolid terápiára tett javaslatot. Helyesen járt el a körvizsgálat

résztevői közül az az 5 laboratórium is, amely a javaslatétel mellett izolátumát továbbküldte a Referencia laboratóriumba.

## Referencia

- 1) Czirók É. (szerk) (1999.): Klinikai és járványügyi bakteriológia. Kézikönyv, Melania, Budapest
- 2) Az enterális kórképek bakteriológiai diagnosztikája. Az Orvosi Mikrobiológiai Szakmai Kollégium által összeállított szakmai irányelv. Infektológia, XIII. évf. 3. szám 2006.
- 3) Tóth Á., Gacs M., Végh Zs.: Klebsiella pneumoniae és E. coli baktériumok érzékenysége az OEK Antibiotikum Rezisztencia Surveillance 2005. évi adatai alapján. Mikrobiológiai Körlevél VI. évf. 4. szám, 2006.
- 4) Gacs M., Tóth Á., Tirczka T., Füzi M.: Antibiotikum érzékenységi vizsgálatok. Korongdiffúzió. Mikrobiológiai Körlevél VI. évf. 1. szám, 2006.
- 5) Gacs M., Tirczka T.: Minimális gátló koncentráció meghatározása Etest-el. Mikrobiológiai Körlevél VI. évf. 1. szám, 2006.
- 6) LS Vestergaard, KEP Olsen, R. Stensvold, B. Böttiger, M Adelhardt, M. Lisby, L Mork, K Molbak: Outbreak of severe gastroenteritis with multiple aetiology caused by contaminated drinking water in Denmark, Eurosurveillance weekly release: 2007., Vol 12, Issue 3
- 7) Eric J. Dzinban et al: Surveillance for waterborne disease and outbreak... MMWR, 2006., Vol 55, 31-58.
- 8) Pemintel M., Park S., Mirocja J.: Annals of internal medicine 17 october 2006. Vol. 145. Issue 8, 557-563 (<http://www.annals.org/cgi/abstract/145/8/557>)
- 9) Performance standars for antimicrobial susceptibility testing, CLSI, Vol. 27, Number 1, 13 oldal; 19-20. oldal; 83-84. oldal, 2007.

## A 2007. évi *Borrelia* szerológiai jártassági körvizsgálat értékelése

Kienle Zsuzsa, Boross Katalin

*Borrelia* szerológiai körvizsgálatra 2007-ben elsőként került sor. A vizsgálat tervezése során azt a célt tartottuk szem előtt, hogy a résztvevő laboratóriumok munkája során egységes irányelvek érvényesüljenek a leletértékelés, az alkalmazott protokollok az európai irányelvek alkalmazása tekintetében.

Az egyes fordulóiban két-két mintát juttattunk el a laboratóriumokhoz, rövid esetismertetéssel együtt. Ennek tükrében kellett meghatározniuk a vizsgálatok irányát, az alkalmazott módszereket. Arra kértük a résztvevőket, szöveges értékelést is mellékeljenek a laboratóriumi eredményekhez.

### **I. A beérkezett eredmények általános értékelési/pontozási szempontjai:**

#### **1. ELISA szűrővizsgálat:**

**A laboratórium a vizsgált ellenanyag-izotípusok helyes értékelésétől függően vizsgálatonként az alábbi pontszámot kaphatta:**

	<b>IgM</b>	<b>IgG</b>
<b>Borrelia 2007/1</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
<b>Borrelia 2007/2</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
<b>Borrelia 2007/3</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
<b>Borrelia 2007/4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

Helyes értékelés esetén **4 x 10 pont** volt az elérhető maximális pontszám.

Eltérő, azaz helytelen értékelésnél az adott vizsgálatra nem adtunk pontot.

#### **2. Western blot megerősítő vizsgálat:**

**A laboratórium a vizsgált ellenanyag-izotípusok helyes értékelésétől függően vizsgálatonként 5 pontot szerezhettek (Megerősítő vizsgálat csak pozitív/kétes ELISA esetében volt indokolt.).**

	<b>IgM</b>	<b>IgG</b>
<b>Borrelia 2007/1</b>	<b>5</b>	<b>-</b>
<b>Borrelia 2007/2</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
<b>Borrelia 2007/3</b>	<b>-</b>	<b>5</b>
<b>Borrelia 2007/4</b>	<b>-</b>	<b>5</b>

Helyes értékelés esetén tehát **25 pont** volt az elérhető maximális pontszám.

Ettől eltérő, azaz helytelen értékelésnél az adott vizsgálatra nem adtunk pontot.



Egy laboratórium egy egyértelműen eldönthető esetben bizonytalan (kétes/pozitív) eredményt adott meg, ebben az esetben a vizsgálatot 2,5 ponttal értékeltük.

**3. A laboratórium a vizsgált ellenanyag-izotípusok eredményeinek összesített interpretációjára mintánként az alábbi pontszámot kaphatta:**

<b>Borrelia 2007/1</b>	<b>10 pont</b>
<b>Borrelia 2007/2</b>	<b>10 pont</b>
<b>Borrelia 2007/3</b>	<b>10 pont</b>
<b>Borrelia 2007/4</b>	<b>10 pont</b>

**A fenti értékelési szempontoknak megfelelően a két fordulóban az elérhető maximális pontszám: 105 pont volt.**

**A laboratóriumok teljesítményét a pontszámok alapján a következőképpen értékeltük:**

(A kiküldő laboratórium a vizsgálati eredményeket többféle kit alkalmazásával ellenőrizte, a minták pozitivitása és negativitása egyértelműen eldönthető volt, a különböző tesztekkel ellentmondásos eredményeket nem kapott.)

**Emlékeztető:**

**Bor 2007/1:** 45 éves férfi Foglalkozása földmérő, sokszor érte kullancscsípés. Bőrtünetekre nem emlékszik. Korábban Borrelia szerológiai vizsgálat nem történt nála. Betegségi tünetei nincsenek.

**Bor 2007/2:** 15 éves lány Tünetei: tíz napja kezdődtek; terjedő erythemás folt a lábszáron, amely jelenleg 10 cm átmérőjű, enyhén viszket. Kullancscsípésre nem emlékszik, de kb. egy hónappal ezelőtt osztálykiránduláson vett részt Zircen.

## A szervező laboratórium vizsgálatai alapján várt eredmények és interpretációk

### 2007 I forduló

Borrelia	Vizsgált ellenanyagok	Eredmény	Immuno bloton látható specifikus csíkok	Megerősítő vizsgálat eredménye
<b>Borrelia 2007/1</b>	<b>IgM</b>	negatív	-	(negatív)
	<b>IgG</b>	pozitív	p100, VlsE, p41, OspC, p41i, p18	pozitív
<b>Borrelia 2007/2</b>	<b>IgM</b>	pozitív	VlsE, p41, OspC, p41i	pozitív
	<b>IgG</b>	pozitív	VlsE, p41, (p39+/-), OspC, (p41i+/-)	pozitív

Mely minták illetve immunglobulin alosztályok esetében volt indokolt megerősítő vizsgálat elvégzése?

Bor 2007/1: IgG

Bor 2007/2: IgM, IgG

(Mi a biztonság kedvéért elvégeztük a negatív ELISA eredmények esetében is, de ez a rutin gyakorlatban nem volt szükséges vagy elvárható).

### Interpretáció:

#### **Borrelia 2007/1**

Az IgG emelkedés nem utal friss fertőzésre. Lezajlott fertőzést követően ellenanyagok hosszú ideig perzisztálhatnak. Tünetmentesség esetén sem terápia, sem további kontroll nem indokolt.

#### **Borrelia 2007/2**

A szerológiai kép friss/közelmúltban zajlott fertőzésnek megfelel. Megjegyzés: 1. Típusos ECM szerológiai megerősítése nem szükséges. 2. Tünetmentesség esetén, a terápiát követően szerológiai kontrollra nincs szükség.

## A beérkezett eredmények értékelése:

### 1. résztvevő

A laboratórium vizsgálatait Biomedica Borrelia IgM/IgG rekombináns ELISA és recomBlot Borrelia NB (Mikrogen) teszttel végezte. Mind a szűrő ELISA, mind a Western blot vizsgálatok esetében maximális pontszámot érték el.

#### Interpretáció:

**Borrelia 2007/1:** Az 1. mintát helyesen régebbi fertőzésből eredőként értékelték, és jelezték, hogy tünetek nélkül a szerológiai pozitivitás kezelést nem igényel.

**Borrelia 2007/2:** A 2. minta esetében korrekten valószínűsítik a friss fertőzést.

### 2. résztvevő

A laboratórium az ELISA vizsgálatok esetében helyes eredményeket adott meg. Vizsgálatait Mikrogen recomWell Borrelia IgG/IgM teszttel végezte. Megerősítő Western blotot az indokolt esetekben végeztek, a 2. minta IgG ellenanyag-izotípus esetében bizonytalan, kétes/pozitív minősítést adtak meg (nem sikerült valamennyi csíkot detektálni).

#### Interpretáció:

**Borrelia 2007/1:** Az 1. minta vizsgálati eredményeiből helyesen azt a következtetést vonták le, hogy korábbi fertőzésről van szó, és jegyezték meg, hogy az eredményeket a klinikai tünetek függvényében kell értékelni. Tartózkodtak viszont attól, hogy a kapott információk alapján ezt ők megtegyék, azaz nem jelezték, hogy az ellenanyagok jelenléte nem feltétlenül utal aktív betegségre, tünetek hiányában terápiára nincs szükség.

**Borrelia 2007/2:** A 2. minta interpretálása helyes, azaz friss fertőzést valószínűsít.

A vizsgálatok kísérő dokumentációja teljességre törekvő, kiváló.

### 3. résztvevő

A laboratórium a vizsgálatokat rekombináns Mikrogen ELISA és Western blot teszttel végezte. Az ELISA vizsgálatokhoz MiniBos automatát használt. Valamennyi ELISA és Western blot vizsgálat eredménye megegyezik a kiküldő laboratórium vizsgálatai szerint várt eredményekkel.

## **Interpretáció:**

**Borrelia 2007/1:** Az 1. minta interpretációja teljes, kiváló. Tartalmazza a fertőzés idejére vonatkozó következtetést, és jelzi a klinikus felé, hogy a szerológiai pozitivitás önmagában kezelést nem indokol.

**Borrelia 2007/2:** A 2. minta eredményének interpretálásakor helyesen aktuális Borrelia fertőzést valószínűsít, és gyógyszeres terápiát javasol. Egyetlen megjegyzésünk, hogy 2-3 hét múlva kontroll vérminta beküldését kéri, amelynek eredménye, az esetleges pozitívástól függetlenül további kezelést nem indokol. A sikeres kezelést követően ellenanyagok hosszú ideig perzisztálhatnak, tünetmentesség esetében további vizsgálatra nincs szükség..

## **4. résztvevő**

A laboratórium az ELISA vizsgálatokat Borrelia rekombináns ELISA (IgG/IgM; Biomedica) teszttel végezte. A vizsgálatok kivitelezéshez Mini BOS automatát használt. Valamennyi ellenanyag-izotípus esetében helyes eredményt adtak meg.

Megerősítő Western blotot indokolt esetekben végeztek, Mikrogen recomBlot teszttel. A WB eredmények ugyancsak megfeleltek az előzetes vizsgálatok alapján vártaknak.

### **Interpretáció:**

**Borrelia 2007/1:** Az 1. minta interpretációja kimerítően teljes, következtetései helyesek. Az értékelés kitér arra, hogy a kezelés klinikai tünetek hiányában nem ajánlott, Kiemelendő és örvendetes, hogy a mintát el kívánják bankolni, gondolva arra, hogy egy esetleges későbbi összehasonlító vizsgálatban informatív lehet. (Reméljük, hogy valóban van a laboratóriumnak kapacitása a minták tárolására, és a gyakorlatban is elteszik azokat).

**Borrelia 2007/2:** A 2. minta értékelésénél jelzik, hogy az eredmény alátámasztja a tünetek alapján felállított diagnózist, és a terápia indokolt. Kontrollt helyesen nem kérnek.

## 2007 II. forduló

### Emlékeztető:

#### **Bor 2007/3:**

Középkorú nőbeteg, akit fél éve kezeltek bőrgyógyászaton klinikai tünetek alapján diagnosztizált típusos ECM miatt. Szerológiai vizsgálat akkor nem történt. A beteg három hétig kapott doxyciklint, a kezelést követően tünetmentessé vált, jelenleg is az. Háziorvosa kontroll szerológiai vizsgálatot kért.

#### **Bor 2007/4:**

Fiatal férfibeteg, hobbi a tájfutás. Öt napja egy oldali térdízületi duzzanattal jelentkezett a reumatológián. Kullancscsípés után megjelenő bőrtünetre nem emlékszik, antibiotikumot feltételezett Lyme kór kezelésére nem kapott.

### A szervező laboratórium vizsgálatait alapján várt eredmények és interpretációk

Borrelia	Vizsgált ellenanyagok	Eredmény	Immunobloton látható specifikus csíkok	Megerősítő vizsgálat eredménye
<b>Borrelia 2007/3</b>	<b>IgM</b>	negatív	-	(negatív)
	<b>IgG</b>	pozitív	VlsE +/-, p41, OspC B. garinii 1, OspC B. garinii	pozitív
<b>Borrelia 2007/4</b>	<b>IgM</b>	negatív	-	(negatív)
	<b>IgG</b>	pozitív (erős)	p100 +++, VlsE +++, p41++, p39 ++, OspA +, p41/i B. garinii +/-, p41 B. afzelii ++, p18 ++	(erős) pozitív

Mely minták illetve immunoglobulin alosztályok esetében volt indokolt megerősítő vizsgálat elvégzése?

Bor 2007/3: IgG

Bor 2007/4: IgG

## Interpretáció:

### 1. Borrelia 2007/3

A szerológiai kép közelmúltban zajlott fertőzésnek megfelel. Lezajlott fertőzést követően ellenanyagok hosszú ideig perzisztálhatnak, jelenlétük nem feltétlenül utal aktív fertőzésre Tünetmentesség esetén szerológiai kontroll nem szükséges. (A vizsgálatkérés nem volt indokolt.)

### 2. Borrelia 2007/4

Disszeminált/késői Lyme borreliosis esetén az IgG emelkedett lehet. A tünetek, erős szerológiai reaktivitás és az expozíciós lehetőség fényében késői Lyme betegség valószínű.

## A beérkezett eredmények értékelése:

### 1. résztvevő

A laboratórium vizsgálatait ELISA Borrelia IgM/IgG recombinant (Biomedica) és RecomBlot Borrelia NB IgG (Mikrogen) teszttel végezte. Mind a szűrő ELISA, mind a Western blot vizsgálatok esetében helyes eredményt adtak, maximális pontszámot érték el.

## Interpretáció:

**Borrelia 2007/3:** Megállapítások: A megerősített IgG pozitivitást lezajlott fertőzést követően megmaradt immunválasznak tartják, és megjegyzik, hogy specifikus immunglobulinok kezelés után is több hónapig kimutathatók.

**Borrelia 2007/4:** Megállapítások: Figyelembe véve a beteg hobbiját a klinikai tünetek és szerológiai vizsgálatok eredményeit nagy valószínűséggel, a betegnél késői típusú Borrelia fertőzéssel összefüggő arthritis alakult ki. Kiemelendő, és követendő eljárás, hogy a mintát esetleges későbbi összehasonlító vizsgálat céljából fagyasztva tárolják.

### 2. résztvevő

A laboratórium vizsgálatait recomWell és recomBlot Borrelia IgG/IgM teszttel végezte (Mikrogen). Valamennyi esetben helyes eredményt adtak meg, maximális pontot érték el.

## Interpretáció:

**Borrelia 2007/3:** Megállapítás: Az anamnesztikus adatok és a szerológia együtt lezajlott Borrelia fertőzésre utalnak.

**Borrelia 2007/4:** Megállapítás: A klinikum és a szerológia Lyme arthritis lehetőségét támasztja alá, amely kezelést igényel.

### 3. résztvevő

A laboratórium a vizsgálatokat recomWell Borrelia ELISA és recomBlot Borrelia NB Western blot teszttel végezte (Mikrogen). A vizsgálatokat MiniBos és TKA automatával végezte Valamennyi ELISA és Western blot vizsgálat eredménye megegyezik a kiküldő laboratórium vizsgálatai szerint várt eredményekkel.

#### Interpretáció:

**Borrelia 2007/3:** Megállapítások: Borrelia fertőzésen átesett, gyógyult. A lezajlott fertőzést követően az ellenanyagok hosszú ideig perzisztálhatnak. Tünetmentesség esetén további kezelést és kontrollt nem igényel. Tartalmában mindenre kiterjedő, kiváló.

**Borrelia 2007/4:** Megállapítások: A klinikai tünetek késői Lyme betegségekre utalnak. Gyógyszeres terápia javasolható.

### 4. résztvevő

A laboratórium az ELISA vizsgálatokat Borrelia rekombináns ELISA (IgG/IgM; Biomedica) teszttel végezte. A vizsgálatok kivitelezéshez Mini BOS automatát használt. Megerősítő Western blotot Mikrogen recomBlot teszttel végeztek.

#### Interpretáció:

**Borrelia 2007/3:** Technikai hiba vagy az alkalmazott teszt nem kellő érzékenysége miatt a szűrő ELISA vizsgálatban negatív eredményt kaptak. A fenti okból a Bor 2007/3 minta esetében IgG megerősítő vizsgálatra sem került sor. Az értékelésre adott 3 pont azért jár, mivel az eset leírásából helyesen állapították meg, hogy a vizsgálatkérés a klinikai tünetek hiányában a vizsgálatkérés nem volt indokolt.

**Borrelia 2007/4:** Megállapítások: Az ELISA és immunoblot vizsgálat a klinikai tünetekkel együttesen késői Lyme borreliosis diagnózisát megerősítik. Terápiát tartanak szükségesnek.

## Összesített értékelő táblázat:

Résztevő laboratórium	Elért összpontszám	Minősítés
<b>2007. I. forduló</b>		
1	55	kiváló
2	50	jó
3	54	kiváló
4	55	kiváló
<b>2007. II. forduló</b>		
1	50	kiváló
2	50	kiváló
3	50	kiváló
4	33	–*

\*ebben a fordulóban nem minősített

Összességében, valamennyi résztvevő laboratórium jó teljesítményt nyújtott. Minden laboratórium végzett szűrő és indokolt esetben megerősítő vizsgálatokat. Valamennyi labor külön határozta meg az IgM és IgG ellenanyagokat, ami lehetővé tette, hogy következetést vonjanak le a betegség/fertőzés idejére.

Amennyiben a laboratórium kvantitatív eredményeket is megadott, azok összehasonlítását két okból nem végeztük el: A Borrelia ELISA vizsgálatok esetében az OD vagy Unit (Egység) az egyes antigénekre adott összesített válaszról ad információt, a megerősítő Western blot segít abban, hogy a specifikus antigénekre adott választ a kevésbé specifikustól elkülönítsük. Másrészt, a laboratóriumok által használt eltérő tesztekkel önkényes egységekben megadott értékeket határozunk meg, ezek abszolút értékeinek összehasonlítása nem lehetséges.

Kiemelten fontosnak tartottuk az eredmények interpretációját. Az értékelők az eredményeket különböző részletességgel, általában helyesen értelmezik. Reméljük, hogy ezeket az elveket a gyakorlatban, leleteik kiadásánál is érvényesítik.

Valamennyi laboratórium számára fontos, hogy teljesítményét rendszeres körvizsgálatokban értékelje. A részvételi arány növelésére lenne szükség átfogóbb, országos kép kialakításához.



## A 2007. évi hepatitisz szerológiai jártassági körvizsgálat értékelése

Rusvai Erzsébet, Takács Mária

A 2005. óta bevezetett hepatitisz szerológiai körvizsgálatra minden évben nagy az érdeklődés, ezért az Országos Epidemiológiai Központ Minőségbiztosítási osztálya 2007. év folyamán is meghirdette és megszervezte a hepatitisz szerológiai jártassági körvizsgálatot.

A minták összeállítását és az eredmények értékelését a Hepatitisz vírusok Nemzeti Referencia laboratóriumának munkatársai végezték.

A kiküldött vizsgálati mintasorozatok mintánként az 1. táblázatban jelölt térfogatot tartalmazták. Ez a mennyiség elegendő volt a tesztek többszöri elvégzésére, ill. a konfirmációs vizsgálatok elvégzésére is. Egy mintasorozat 2-4 mintából állt, mely tartalmazott pozitív és negatív mintákat is.

1. táblázat A meghatározandó minták és kiadott térfogatuk

Jel	Meghatározandó marker	térfogat
HA	Anti-HAVIgM	50 $\mu$ l
HB	HBsAg	600 $\mu$ l
HC	Anti-HCV	100 $\mu$ l
HD	Anti-HBs	300 $\mu$ l
HE	Anti-HAVAb	300 $\mu$ l
HF	Anti-HBcAb	300 $\mu$ l
HG	Anti-HBcIgM	50 $\mu$ l

A vizsgálatokra összesen 14 laboratórium jelentkezett, az egyes laborok maguk határozták meg, melyik vizsgálatokban vesznek részt. A körvizsgálat két fordulóban zajlott le. A 2. táblázatban összefoglaltuk, hogy az egyes laboratóriumok milyen vizsgálatban vettek részt és az eredményeket milyen kitékkel kapták.

2. táblázat A résztvevő laboratóriumok által használt kitek

	HA	HB	HC	HD	HE	HF	HG
1	HAV IgM capture ELISA DiaPro	Hepanostika HBsAg Uni-Form II BioMérieux	HCV Ab ELISA DiaPro	anti- HBs Dia-Sorin (LIASON CLIA)	HAV Ab kompetitív ELISA DiaPro	anti-HBc Dia-Sorin (LIASON CLIA)	anti-HBc IgM Dia-Sorin (LIASON CLIA)
2	ETI-HAV-IgMk Plus Dia-Sorin	Hepanostika HBsAg Uni-Form II BioMérieux	HCV Ab ELISA DiaPro	HBs Ab kvantitatív ELISA DiaPro	HAV Ab kompetitív ELISA DiaPro		ETI-CORE-IGMK PLUS ELISA Dia-Sorin
3	HAV IgM capture ELISA DiaPro	Hepanostika HBsAg Uni-Form II BioMérieux	HCV Ab ELISA DiaPro	HBs Ab kvantitatív ELISA DiaPro	HAV Ab kompetitív ELISA DiaPro		anti HBc IgM capture ELISA DiaPro
4	ETI-HAV-IgMk Plus Dia-Sorin	Hepanostika HBsAg Uni-Form II BioMérieux	MONOLISA anti-HCV Plus Bio-Rad			Hepanostika anti-HBc Uni-Form BioMérieux	
5	Bioelisa HAV IgM Biokit	Hepanostika HBsAg Uni-Form II BioMérieux	HCV Ab ELISA DiaPro	Bioelisa anti-HBs Biokit	HAV Ab kompetitív ELISA DiaPro	Hepanostika anti-HBc Uni-Form BioMérieux	anti HBc IgM capture ELISA DiaPro
6	Bioelisa HAV IgM Biokit	Hepanostika HBsAg Uni-Form II BioMérieux	HCV Ab ELISA DiaPro, bioelisa HCV 4,0 Biokit				
7	mini VIDAS HAV IgM BioMérieux	Hepanostika HBsAg Uni-Form II BioMérieux, mini VIDAS HBsAG BioMérieux	bioelisa HCV 4,0 Biokit	mini VIDAS anti-Hbs Total Quick BioMérieux			
8	Bioelisa HAV IgM Biokit	Hepanostika HBsAg Uni-Form II BioMérieux	bioelisa HCV 4,0 Biokit	HBs Ab kvantitatív ELISA DiaPro			anti HBc IgM capture ELISA DiaPro
9	HAV IgM capture ELISA DiaPro	Hepanostika HBsAg Ultra BioMérieux	bioelisa HCV 4,0 Biokit	Bioelisa anti-HBs Biokit			

2. táblázat A résztvevő laboratóriumok által használt kitek (folytatás)

	HA	HB	HC	HD	HE	HF	HG
10	Bioelisa HAV IgM Biokit	Hepanostika HBsAg Uni- Form II BioMérieux	HCV Ab ELISA DiaPro, bioelisa HCV 4,0 Biokit	Bioelisa anti-HBs Biokit			
11	HAV IgM capture ELISA DiaPro	Hepanostika HBsAg Uni- Form II BioMérieux	bioelisa HCV 4,0 Biokit	Bioelisa anti-HBs Biokit			
12	Bioelisa HAV IgM Biokit	Hepanostika HBsAg Uni- Form II BioMérieux					
13	HAV IgM capture ELISA DiaPro	Hepanostika HBsAg Uni- Form II BioMérieux	bioelisa HCV 4,0 Biokit	Bioelisa anti-HBs Biokit			
14		ETI-MAK-4 ELISA Dia- Sorin					

### A beérkezett eredmények általános értékelési szempontjai

A HD (aHBs) minta esetén meg kellett határozni az ellenanyag mennyiségét, és értékelni, hogy védett vagy nem védett az illető hepatitis B vírus fertőzés ellen. A többi minta esetében a pozitív vagy negatív értéket kellett megadni. HBsAg és aHCV esetében konfirmálni kellett az eredményt vagy megemlíteni, hogy referencialaborba küldené konfirmálni.

### A laboratóriumok eredményeinek értékelése

A 1. laboratórium eredményei megfelelőek. Az első fordulóban nem jelezte, hogy konfirmálni kell az aHCV pozitív mintákat.

A 2. laboratórium eredményei megfelelőek. A labor minden pozitív mintát referencia laborba küld verifikálni. Az aHBs eredmény interpretálása hiányzott az első fordulóban.

A 3. laboratórium eredményei megfelelőek. Az aHBs eredmény interpretálása hiányzott az első fordulóban.

A 4. laboratórium eredményei nem mind megfelelőek, az első körben nem küldené az aHCV pozitív mintát referencia laborba verifikálni, s a pozitív HBsAg eredményt nem konfirmálja. A második körben az aHCV pozitív mintát nem találta meg, a HC4. számú minta esetében közölt anti-HCV negatív eredmény nem felel meg a minta elvárt pozitív eredményének.

A 5. laboratórium eredményei megfelelőek, az értékelésben voltak hiányosságok. Nem értékelte az antiHBs eredményt. és 2 mintát referencia laborba küldene verifikálni, de nem derül ki, melyeket. A második körben az aHCV pozitív mintánál nem jelezte, hogy verifikálta vagy a referencialaborba küldené.

A 6. laboratórium eredményei az első körben nem mind megfelelőek, az aHBs értékek nem feleltek meg az elvártnak. Második körre ezt a hibát kijavította. Az eredmények értékelése mindenütt megfelelő volt.

A 7. laboratórium eredményei megfelelőek, értékelés megfelelő.

A 8. laboratórium egyik aHBs eredménye az első fordulóban nem megfelelő. A többi eredménye helyes, az értékelés megfelelő.

A 9. laboratórium eredményei megfelelőek. Az aHBs eredmény interpretálása hiányzott az első fordulóban.

A 10. laboratórium eredményei megfelelőek. Az aHBs eredmény interpretálása hiányzott az első fordulóban.

A 11., 12., 13. laboratórium eredményei megfelelőek, értékelés mindenütt megfelelő

A 14. laboratórium HBsAg eredménye ugyan megfelelő, de nem konfirmálja ill. nem küldi fel referencia laborba a HBsAg pozitív mintákat.

## Összefoglaló értékelés

Elsődleges értékelési szempont volt a megadott értékek helyessége. HBsAg és aHCV vizsgálat esetén feltétlenül szükséges a konfirmálás konfirmáló vagy más kittel, vagy a referencia laboratóriumba küldéssel. Nem követelmény, hogy a laboratóriumok rendelkezzenek az aHCV és HBsAg pozitív eredményt megerősítő vizsgálattal, de követelmény, ha a rendelkezésre álló módszerek elvégzése után az eredmény megerősítésre szorul, akkor a kiadott lelet tartalmazza az erre vonatkozó utalást pl. továbbküldés referencia laboratóriumba. Többen írták, hogy az aHCV pozitivitást PCR-rel verifikálnák, ez pozitív PCR esetében verifikál is. Ha azonban negatív lesz a PCR eredménye, akkor ez nem jelenti azt, hogy HCV ellenanyag nincs jelen, ekkor más módszerrel (pl. másik ELISA kittel, Western-blottal) kell konfirmálni.

A többi marker esetén akkor kell konfirmálni, ha a klinikai adatokkal nehezen egyeztethető össze a kapott eredmény (pl. anti-HAV IgM pozitivitást egyértelműen hepatitisre utaló tünetekben szenvedő gyereknél nem kell konfirmálni, de egy 80 éves, nem jellegzetes tünetekkel rendelkező személynél konfirmálni kell.)

A helyesen meghatározott pozitív vagy negatív értékek mellett elvártuk az eredmények értékelését. Az aHBs esetén értékelni kell, mit jelent a meghatározott aHBs titer: nem védett vagy védett.

A körvizsgálat során nyert tapasztalatokat az alábbiakban foglalhatjuk össze:

A HBsAG meghatározás során nem mindegyik laboratórium konfirmálta, ill. konfirmáltatta az eredményét.

Az anti-HCV meghatározás során egyetlen hibás érték született. Ebben a laboratóriumban szükséges a vizsgálat során adódható esetleges hibaforrások felderítése, esetleg kit váltás. A tévesen negatív eredmény nem derül ki, míg az ál pozitívnak mért eredmények tisztázódnak a konfirmálás során. Két labor nem konfirmálta az eredményt és nem is jelezte, hogy konfirmálásra küldené. Két laboratórium - helyesen - ismételt mintát kérne a negatív, de a cut off értékhez közel eső OD érték alapján, feltételezve, hogy a megbetegedés korai szakaszában levett mintát vizsgáltak.

Az anti-HBs meghatározás során egyes laboratóriumok nem értékelték a meghatározott anti-HBs titer értékeket, nem adták meg, védett-e az illető.

Az anti-HAVIgM, anti-HAVAb, anti-HBcAb, anti-HBcIgM meghatározás során a résztvevő laboratóriumok kiváló teljesítményt nyújtottak.

Úgy gondoljuk, hogy a résztvevő laboratóriumok számára hasznos volt a hepatitis körvizsgálat. Több labor jobban szerepelt a második fordulóban, mint az elsőben, jól hasznosították az előző körben nyert tapasztalataikat. Minden

laboratóriumot arra szeretnénk ösztönözni, hogy vegyenek részt a hepatitis szerológiai körvizsgálatokon, így is ellenőrizzék saját munkájukat, a használt vizsgáló eljárásokat. A korrekt, jól értelmezett eredmények kiadása nagyon fontos mind a szűrővizsgálatok (terhesek, munkavállalók szűrése), mind a járványügyi vizsgálatok esetében, valamint a hepatitis differenciáldiagnosztikában is.

A Hepatitis Vírusok Nemzeti Referencialaboratóriumában sok olyan hepatitis vírus vizsgálatra van lehetőség, ami más laborokban esetleg nem lehetséges. Minden klasszikus hepatitis vírus esetében lehetőség van szerológiai és molekuláris virológiai vizsgálatokra is, beleértve a genotípus meghatározásokat is. Ha a klasszikus hepatitis vírusok kóroki szerepe kizárható, az Országos Epidemiológiai Virológiai Főosztályán lehetőség van más hepatitiszt okozó vírusok vizsgálatára is. A Hepatitis Vírusok Nemzeti Referencialaboratóriuma örömmel áll rendelkezésre minden olyan esetben, amikor a laboratóriumok nem tudják elvégezni az igényelt vizsgálatot, vagy kétes, nem értelmezhető eredményt kapnak.

## A 2007. évi EBV és CMV szerológiai körvizsgálatok értékelése

Csire Márta, Barcsay Erzsébet

Intézetünk 2007-ben is az Epstein-Barr vírus (EBV; Humán herpeszvírus 4 [HHV-4]) és Cytomegalovírus (CMV; Humán herpeszvírus 5 [HHV-5]) specifikus vírusszerológiai vizsgálatokból a hagyományoknak (2005-ben történt bevezetés óta) megfelelően két körvizsgálatot szervezett. Mindkét körvizsgálatban négy-négy vérsavó, vírus vizsgálatokként két-két minta került kiküldésre a vírus specifikus IgM és IgG típusú ellenanyagok kimutatására. Az első félévi (2007/I.) körvizsgálatban két laboratórium, míg a második félévi (2007/II.) körvizsgálatban három laboratórium vett részt. A két forduló kiértékelését külön-külön tesszük meg, azonos elvek alapján.

### 2007/I.

A vizsgálati minták jelei:

- EBV I./1 (csak IgM kimutatásra),
- EBV I./2 (csak IgG-re),
- EBV II./3 (csak IgM-re),
- EBV II./4 (csak IgG-re).
- CMV I./1 (csak IgM vizsgálatra),
- CMV I./2 (csak IgG-re),
- CMV II./3 (csak IgM-re),
- CMV II./4 (csak IgG-re).

A minta megnevezése: **vérsavó**, mennyisége vizsgálatonként **200 µl**. A minták HIV, HBsAg, antiHCV negatívak.

**EBV I.** 8 éves kisfiút a szülei a következő tünetekkel vitték be a háziorvosi rendelőbe: garatban *tonsillopharyngitis* képe, láz, duzzadt submandibuláris nyirokcsomók, jobb hypochondriális érzékenység. A háziorvos egyéb labor vizsgálatok mellett EBV fertőzés gyanúja miatt szerológiai vizsgálatokat is kért. Milyen eredményeket kapott vissza a háziorvos a laboratóriumból?

**EBV II.** A kezelőorvos egy májtranszplantációra váró 4-5 éves gyermek szerológiai státuszának meghatározása érdekében a laboratóriumtól EBV IgM és IgG vizsgálatokat kért. Laboratóriumi eredmények?

**Elvárt eredmények:**

EBV	Minta		OD	Cut-off	Eredmény	Interpretálás
I.	1.	IgM			Pozitív	Friss/akut fertőzés igazolható.
	2.	IgG			Negatív	
II.	3.	IgM			Negatív	Aktuális EBV fertőzés nem igazolható.
	4.	IgG			Pozitív	Korábban átvészelt fertőzés igazolható.

**CMV I.** Egy szülészeti klinika intenzív osztályán a kéthetes újszülöttnél sárgaság, máj enzimek emelkedése miatt CMV vizsgálatra került sor.

**CMV II.** Az anyától is küldtek savót a laboratóriumba CMV IgM és IgG meghatározásra. Kérdés: CMV fertőzés?

**Elvárt eredmények:**

CMV	Minta		OD	Cut-off	Eredmény	Interpretálás
I.	1.	IgM			Pozitív	Aktuális CMV fertőzés valószínűsíthető.
	2.	IgG			Pozitív	
II.	3.	IgM			Negatív	Aktuális CMV fertőzés nem igazolható.
	4.	IgG			Pozitív	Korábban átvészelt fertőzés igazolható.

Az első fordulóban két laboratórium vett részt, akik mindkét vírushoz tartozó szerológiai vizsgálatokat elvégezték. Mindketten antiEBV VCA IgM, IgG Trinity illetve antiCMV IgM, IgG Trinity kitet használtak.

**Eredményeik 100%-ban megegyeztek az elvárt eredményekkel és az interpretációik is helyesek voltak.**

Mindkét laboratórium javasolta az újszülöttől CMV PCR vizsgálat elvégzését vizeletből, illetve egyiknél felmerült a PCR vizsgálat elvégzése szérumból, a másikonál a víruskimutatása a torokmosófolyadék mintából.

A congenitalis CMV fertőzés során a kórokozó a méhlepényen keresztül jut át a magzatba. Ezen fertőzés felderítése vagy gyanújának megerősítése az alábbi módokon lehetséges:

- kórokozó direkt kimutatásával (pl: vírusizolálás, „Shell-vial” módszer),



- nukleinsav alapú technikák (PCR, nested-PCR, real-time PCR, DNS hibridizáció)
- specifikus antigén ELISA, és/vagy indirekt (pl: IgM, IgG szerológiai vizsgálatok)

A CMV fertőzések leginkább specifikus és szenzitív direkt diagnosztikus módszere a vírus izolálása szövetkultúrában. Lényeges, hogy a vírustenyésztést az újszülött kéthetes életkorán belül kell elvégezni! Az ezen időszak után észlelt vírusürítés már intra- vagy posztnatálisan elszenvedett fertőzésre is utalhat. A CMV tenyésztésre a vizelet a leginkább alkalmas minta, egyrészt a magas vírustartalma miatt. A vizsgálatra levett vizelet tárolását és szállítását, amennyiben annak feldolgozása nem lehetséges azonnal, szigorúan +2-8°C között, hűtve kell biztosítani. Ez megakadályozza a vizeletben jelenlévő baktériumok túlnövekedést, de a vírustiter nem csökken jelentősen a vizeletben. A vírusizolálásra szánt mintát fagyasztani tilos! Ezen módszer szenzitivitása 90 % körüli, specifitása 100%.

A vírusizolálásnál gyorsabb diagnosztikus módszer a „Shell-vial” módszer. Ezen módszer alkalmazása esetében, kis üvegkorongokra növesztett fibroblaszt tenyésztetre rácentrifugáljuk a beteg vizeletét, a fibroblasztsejtek magjaiba bekerülő CMV indukálja az „immediate early” és az „early” antigének produkcióját. Ezen antigéneket immunfluoreszcens módszerrel detektálhatók inoculatio után már 24-48 órával.

A CMV megbízható és gyors kimutatására mind kiterjedtebben alkalmazzák a PCR technikákat (PCR, nested-PCR, real-time PCR). Ebben az esetben a vizsgálati minta lehet szérum, vizelet és nyál. A születést követően 2-3 héten belül kimutatott CMV specifikus DNS a mintákból congenitális fertőzést igazol. A vizsgálatok szenzitivitása 90% körüli, specifitása 98% feletti. A PCR vizsgálatokhoz a natív vért, vizeletet és a nyálmintát mihamarabb (lehetőleg 6 órán belül) a vizsgálatot végző laboratóriumba kell juttatni, amennyiben ez nem megoldható a vérsavót, vizeletet és nyál mintát –20°C kell tárolni és fagyasztva szállítani.

Kétségtelen, hogy a CMV izolálása vagy PCR-rel történő kimutatása az élet első két hetében congenitális fertőzést igazol, ez azonban nem jelenti szükségszerűen betegség fennállását is, hiszen a congenitálisan fertőzöttek túlnyomó többsége újszülött korban tünetmentes marad, de kis százalékban, körülbelül az ötödik életévig kialakulhatnak különböző károsodások.

A congenitális CMV fertőzések jelentős hányadában (30-50%) az újszülöttben nem mutatható ki IgM típusú ellenanyag. **Ezért azokban az esetekben, ahol az elhúzódó sárgaság vagy bizonyos fejlődési rendellenességek okát nem sikerül tisztázni, az újszülött követései szerológiai vizsgálata javasolt.**

Már az első minta levételekor célszerű az **anyától is mintát** küldeni szerológiai vizsgálatokra, hiszen az anya szerológiai státusza sok mindent elárulhat a betegség lehetséges kórokáról. Ha az anya nem hordoz IgG típusú ellenanyagokat CMV vagy akár más (EBV, HSV, VZV) vírusokkal szemben, kizárható a gyermek congenitális fertőzése az adott vírussal.

Az újszülött gyermeknél található IgG típusú ellenanyag valószínűleg maternális eredetű. Ezek az ellenanyagok normál esetben a 4-5. hónap környékére a kimutathatósági szint alá kerülnek, de legalábbis szignifikánsan csökkennek a gyermek vérében. Javasolható újabb minta küldése az első minta beküldését követően 4-5 hónappal később. Ilyenkor a két mintát, ha van az anyai mintát is párhuzamosan beállítva, az extinkció változásból is következtethetünk az ellenanyagok eredetére.

Ha a gyermek második vérmintájában az IgG extinkciója azonos, esetleg magasabb is, mint az első mintában volt, akkor nagy valószínűséggel állíthatjuk, hogy congenitális fertőzéssel állunk szemben. Ha a második mintában jelentősen kevesebb vagy nincs is IgG aktivitás, akkor az első mintában lévő IgG kizárólag anyai eredetű volt, a congenitális fertőzés kizárható.

Az egyik laboratórium felvetette az anyánál CMV IgG aviditás vizsgálatát. Ezt ebben az esetben indokolatlannak tartjuk. Az aviditási vizsgálattal a közelmúltban (4 hónapon belül), illetve régebben (4 hónapon túl), történt fertőzésre tudunk következtetni. A kérdéses esetben ezzel a vizsgálattal nem lehet kizárni, de megerősíteni sem a terhesség alatti primer CMV fertőzés lehetőségét. Az aviditási vizsgálatnak igazi jelentősége a korai terhességben van, amikor eldönthető, hogy az anya CMV fertőzése primer vagy reaktiváció következménye. Ez azért fontos, mert a magzatra nézve a primer CMV fertőzés nagyobb veszélyt jelent, mint a reaktiválódás. Ráadásul terhésekben gyakran előfordul, hogy az IgM aspecifikus reakciót ad. **Ezért antiCMV IgM pozitív terheseknél minden esetben javasolt a minta továbbítása a referencia laboratóriumba.**

**2007/II.**

A vizsgálati minták jele:

- **EBV A/1** (csak IgG kimutatásra),
- **EBV A/2** (csak IgM-re),
- **EBV B/1** (csak IgG-re),
- **EBV B/2** (csak IgM-re).
- **CMV A/3** (csak IgG vizsgálatra),
- **CMV A/4** (csak IgM-re),
- **CMV B/3** (csak IgG-re),
- **CMV B/4** (csak IgM-re).

A minta megnevezése: **vérsavó**, mennyisége vizsgálatonként **150 µl**. A minták HIV, HBsAg és antiHCV negatívak.

### EBV-CMV esetleírás:

Két fiatal katonától (A és B beteg), akik 3 hónapja ugyanannál az egységnél szolgálnak, *mononucleosis syndrome* miatt érkezik vér a mikrobiológiai laboratóriumba. A beküldő orvos kérése: EBV és CMV szerológiai vizsgálatok.

### Elvárt eredmények:

EBV	Minta	OD	Cut-off	Eredmény	Interpretálás
A beteg	1. IgG			Pozitív	Aktuális EBV fertőzés valószínűsíthető.
	2. IgM			Pozitív	
B beteg	1. IgG			Pozitív	Aktuális EBV fertőzés nem igazolható. Korábban átvészelt fertőzés igazolható.
	2. IgM			Negatív	

CMV	Minta	OD	Cut-off	Eredmény	Interpretálás
A beteg	3. IgG			Pozitív	Aktuális CMV fertőzés nem igazolható. Korábban átvészelt fertőzés igazolható.
	4. IgM			Negatív	
B beteg	3. IgG			Pozitív	Aktuális CMV fertőzés igazolható.
	4. IgM			Pozitív	

A második fordulóban három laboratórium vett részt, kettő laboratórium mindkét vírushoz tartozó szerológiai vizsgálatokat elvégezte és egy, aki csak CMV szerológiát végzett. A két laboratórium antiEBV VCA IgM, IgG Trinity illetve antiCMV IgM, IgG Trinity kitet, a harmadik laboratórium antiCMV IgM és IgG DiaSorin kitet használt.

**Eredményeik 100%-ban megegyeztek az elvárt eredményekkel és az interpretációik is helyesek voltak.**



**Irodalom:**

Berencsi György: Orvosi molekuláris virológia, Convention Budapest Kft., Budapest; 2005.

Hajdi György: Intrauterin és neonatális fertőzések, EOS 2000 Kft, Veszprém, 2006.

## 2007. évi Rubeola szerológiai jártassági körvizsgálat értékelése

Némethné Szomor Katalin, Rigó Zita

Az OEK Kiütéses vírusbetegségek Nemzeti Referencia Laboratóriuma kezdeményezi a hazánk területén működő azon mikrobiológiai feladatokat ellátó laboratóriumok feltérképezését, amelyek rubeolával, mumpsszal és kanyaróval szembeni védettséget kimutató szűrővizsgálatokkal és/vagy a megbetegedések diagnosztikájával foglalkoznak. Ennek az ad különös hangsúlyt, hogy Magyarország kapcsolódott a WHO Kanyaró/Rubeola eliminációs és kongenitális rubeola szindróma (KRS) megelőző programjához, melynek célja az Európai régió 2010-re történő kanyaró és rubeola mentesítése, valamint a KRS esetek megelőzése.

Az eliminációs programban történő hatékony részvétel megvalósíthatatlan összefogott laboratóriumi munka nélkül. Éppen ezért, a WHO felé vállalt feladataink elindításához és sikeres teljesítéséhez hivatkozási háttérként szükséges pontosan ismertetnünk a mikrobiológiai feladatokat ellátó laboratóriumokkal a rubeola és a kanyaró vírusok eliminációs programjával kapcsolatos megegyezést a magyar állam és a WHO között, valamint a program kivitelezését meghatározó hazai jogszabályi vonatkozásokat.

A magyar állam vállalta, hogy

- kijelöl egy nemzeti szinten működtetett Referencia Laboratóriumot, amely az epidemiológiai hálózatba jelentett kanyaró/rubeola gyanú esetén vagy a klinikailag felállított diagnózis alapján elvégzi a szükséges virológiai vizsgálatokat (vírusizolálás, szerológia, molekuláris vizsgálatok, genotípus feltérképezés), és a WHO által meghatározott módon végzi a kiütéses vírusbetegségek monitorozását (Kanyaró/Rubeola surveillance)
- a kijelölt Nemzeti Referencia Laboratórium az elvégzett vizsgálatokról, azok eredményeiről havi bontásban jelentést küld a WHO Regionális Referencia Laboratóriumába (Robert Koch Institut, Berlin)
- a kijelölt Nemzeti Referencia Laboratórium évente részt vesz a WHO által szervezett nemzetközi jártassági körvizsgálatban, valamint eleget tesz a WHO akkreditációs feltételeinek.

Felhívjuk a laboratóriumok figyelmét a hazai jogszabályi háttérre:

- a **63/1997. (XII. 21.) NM rendelet** „*A fertőző betegségek jelentésének rendjéről*” értelmében, amennyiben a mikrobiológiai vizsgálatot végző laboratórium vezetője a laboratóriumban olyan mikrobiológiai laboratóriumi vizsgálati eredményt állapít meg, amely közvetlenül vagy közvetetten bizonyítja a rendelet 6. számú mellékletében felsorolt, fertőző betegségeket okozó mikroorganizmusok valamelyikének jelenlétét a

vizsgált egyén szervezetében, köteles 24 órán belül jelenteni az érintett személy egészségügyi és személyazonosító adatait az ÁNTSZ - laboratórium telephelye szerint illetékes - megyei intézetének.

- a többszörösen módosított **18/1998.(VI.3.) NM rendelet** „*A fertőző betegségek és a járványok megelőzése érdekében szükséges járványügyi intézkedésekről*” értelmében minden akut morbilli, rubeola, kongenitális rubeola szindróma (KRS) és mumpsz megbetegedés, továbbá oltás ellenére bekövetkező reinfekció, illetve ezek gyanúja esetén **kötelező a mikrobiológiai laboratóriumi vizsgálat.**

A mikrobiológiai laboratóriumi vizsgálatokra kijelölt laboratórium az **OEK Általános vírusdiagnosztikai osztályán** működő **Kiütéses vírusbetegségek Nemzeti Referencia Laboratóriuma**. Az OEK Virologiai főosztályának laboratóriumai, ezen belül a **Kiütéses vírusbetegségek Nemzeti Referencia Laboratóriuma**, mint a WHO együttműködő laboratóriuma, évente részt vesz nemzetközi szervezetek által szervezett jártassági vizsgálatokon<sup>1</sup> a WHO jártassági körvizsgálatain, évek óta sikeresen teljesíti a WHO akkreditációs feltételeit<sup>2</sup> valamint az OEK Virologiai főosztályának egyik, a Nemzeti Akkreditációs Testület által akkreditált vizsgálatokat végző laboratóriuma<sup>3</sup>.

A rendeletek alapján, amennyiben tünetmentes esetekben végzett rutin szűrővizsgálat során a vizsgálati eredmény alapján felmerül az akut fertőzés, vagy KRS gyanúja, haladék nélkül kötelező a minták továbbítása a kijelölt referencia laboratóriumba, diagnosztikus és megerősítő vizsgálatok elvégzése céljából, valamint kötelező a megbetegedés gyanúját, vagy tényét 24 órán belül jelenteni az illetékes járványügyi hatóságoknak.

A **Kiütéses vírusbetegségek Nemzeti Referencia Laboratóriumában** többféle módszer áll rendelkezésre a betegek mintáinak vizsgálatára és/vagy korábbi eredmények verifikálására:

- vírusizolálás
- haemagglutináció-gátlás,
- IgM és IgG kvalitatív és kvantitatív kimutatás ELISA technikával,
- direkt és indirekt immunfluoreszcenciás vizsgálatok,
- molekuláris vizsgálatok (PCR, szekvenálás)

A kiütéses megbetegedések esetében a WHO által meghatározott egyéb -differenciáldiagnosztikai szempontból számításba vehető- szerológiai és egyes esetekben molekuláris vizsgálat elvégzésére is lehetőség van (pl.: Human parvovírus B19, Herpeszvírusok -HSV, VZV, EBV, CMV Human herpesvírus 6, 7- West-Nile és Dengue vírusok.

<sup>1</sup> INSTAND (Institute for Standardization and Documentation in Medical Laboratory, Düsseldorf, Germany); EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare), Strasbourg, France

<sup>2</sup> European Regional Measles/Rubella Laboratory Network Letter of Laboratory Accreditation, Head office: **World Health Organization - Regional Office for Europe**, Scherfigsvej 8; DK-2100 Copenhagen, Denmark

<sup>3</sup> NAT-1-1473/2006

Kérjük azon orvosi mikrobiológiai vizsgálólaboratóriumokat, vagy mikrobiológiai vizsgálatokat is végző laboratóriumokat, amelyek rubeolával és kanyaróval szembeni védettséget kimutató szűrővizsgálatokkal foglalkoznak, hogy kísérik fokozott figyelemmel: megfelelő hatékonysággal betartásra kerül-e az említett rendelet, amelyben foglaltak megvalósítása szorosan összefügg a vállalt célok elérésével. Az OEK **Kiütéses vírusbetegségek Nemzeti Referencia Laboratóriumának** munkatársai messzemenően rendelkezésre állnak, mind a vizsgálatok elvégzésében, mind pedig szóbeli véleménycserében, amely a mintabeküldést megelőzően segítséget nyújthat a diagnosztikában is.

## 1. Szerológiai jártassági körvizsgálat

Arra szeretnénk ösztönözni a laboratóriumokat, hogy vegyenek részt a körvizsgálatokban ezzel is ellenőrizve az általuk alkalmazott vizsgálo eljárásokat, valamint a szerológiai eredmények értékelésében tanúsított jártasságukat.

A körkísérletekben szerzett tapasztalatok, és levont következtetések valamennyi laboratórium számára hasznos információ lehet, illetve hozzájárulnak a megfelelő diagnosztikus szemlélet kialakításához.

Laboratóriumunk által 2007. év folyamán szervezett rubeola szerológiai jártassági körvizsgálatra egy laboratórium jelentkezett. A körvizsgálat két fordulóban zajlott le.

A kiküldött vizsgálati minták minőségileg szigorúan ellenőrzött gyári törzspreparátumokból készültek, melyek mintánként 100 µl-t tartalmaztak.

## 1.1 A beérkezett eredmények általános értékelési/pontozási szempontjai:

A megfelelő eredményeket mintánként 5 pontra értékeltük. Tehát fordulónként a négy megvizsgált és helyes eredményt mutató minta esetében összesen 20 pontot lehetett szerezni.

## 1.2 A szerológiai jártassági vizsgálatok I-II. fordulójában felhasznált minták elvárt eredményeinek összefoglalása:

### 1.2.1. 2007/I. jelű Rubeola szerológiai jártassági körvizsgálatban felhasznált minták várható eredményeiről

A minta megnevezése: savó  
 Mennyisége vizsgálatonként: 100 µl  
 Vizsgálati eredmények:

A minta kódja	Eredmény
Rubeola 1.	IgM pozitív
Rubeola 2.	IgM negatív
Rubeola 3.	IgG pozitív
Rubeola 4.	IgG negatív

### 1.2.2. 2007/II. jelű Rubeola szerológiai jártassági körvizsgálatban felhasznált minták várható eredményeiről

A minta megnevezése: savó  
 Mennyisége vizsgálatonként: 100 µl  
 Vizsgálati eredmények:

A minta kódja	Eredmény
Rubeola 1.	IgM pozitív
Rubeola 2.	IgM negatív
Rubeola 3.	IgG pozitív
Rubeola 4.	IgG negatív

## 1.3 A körvizsgálatban résztvevő laboratóriumokból beérkezett eredmények részletes értékelésének táblázati összefoglalása:



### 1.3.1. 2007/I. virológiai szerológiai jártassági körvizsgálat eredménye:

A laboratórium kódja: 284

A minta kódja	Eredmény	Értékelés
Rubeola 1.	IgM negatív	elvárásnak nem megfelelő
Rubeola 2.	IgM negatív	elvárásnak megfelelő
Rubeola 3.	-	-
Rubeola 4.	-	-

Vizsgálat megnevezése	Minta mennyisége	A laboratórium teljesítménye
Vírus szerológiai vizsgálat <i>Rubeola</i> IgM, IgG	2-2 db szérum minta	IgM: 50% IgG: 0%

Megjegyzés: A Rubeola 1. jelű minta IgM pozitív.

### 1.3.2. 2007/II. virológiai szerológiai jártassági körvizsgálat eredménye

A laboratórium kódja: 284

A minta kódja	Eredmény	Értékelés
Rubeola 1.	IgM negatív	elvárásnak nem megfelelő
Rubeola 2.	IgM negatív	elvárásnak megfelelő
Rubeola 3.	IgG pozitív	elvárásnak megfelelő
Rubeola 4.	IgG negatív	elvárásnak megfelelő

Vizsgálat megnevezése	Minta mennyisége	A laboratórium teljesítménye
Vírus szerológiai vizsgálat <i>Rubeola</i> IgM, IgG	2-2 db szérum minta	Össz: 75 %

Megjegyzés: A Rubeola 1. jelű minta IgM pozitív.

## 2. A körvizsgálat eredményeinek szöveges kiértékelése:

Szakmai szempontok szigorú szem előtt tartásával szükséges a 284-es kóddal jelölt laboratórium diagnosztikus módszerének átgondolása (kit váltás?), illetve a vizsgálat során adódható esetleges hibaforrások felderítése. Míg az ál pozitív eredmények biztonsággal kiszűrhetők időben levett vérminták, savó párok, verifikálásra alkalmas vizsgálati módszerek segítségével, addig a tévesen negatívnak mért és értékelt eredményeknek komoly egyéni és járványügyi, valamint nem kívánt szövödményekkel járó következményei lehetnek.

### **2.1. 2007/I. jelű első forduló eredményeinek értékelése:**

A 284-es kóddal megjelölt laboratórium kettő darab vérsavó mintát vizsgált meg rubeola IgM típusú specifikus ellenanyag jelenlétének eldöntése céljából, Novatech gyártmányú ELISA kit alkalmazásával.

Az 1. számú minta esetében közölt negatív eredmény nem felel meg a minőségileg szigorúan ellenőrzött minta elvárt pozitív eredményének.

A 2. számú minta megfelelő negatív eredményt adott.

Sajnos az IgG típusú ellenanyagszint vizsgálatára nem került sor az erre a célra kiküldött kettő darab vérsavó beszáradt, nem megfelelő állapotban érkezett.

### **2.2. 2007/II. jelű második forduló eredményeinek értékelése:**

A második forduló során laboratóriumunk 2-2 vérsavót küldött ki rubeola IgM és IgG ellenanyag szintek meghatározására. A 284-es kódjelű laboratórium mind a négy kiküldött vérsavó mintát ezúttal is Novatech gyártmányú ELISA kittel vizsgálta.

Az IgM kimutatás:

Az 1. számú minta esetében közölt negatív eredmény ez esetben sem felel meg az elvárt pozitív eredménynek.

A 2. számú minta megfelelő negatív eredményt adott.

Az IgG kimutatás:

A 3. számú minta megfelelő pozitív eredményként, a 4. számú minta, pedig megfelelő negatív eredményként lett értékelve.

### **3. Javaslat a laboratóriumi eredmények kiadására**

Szűrővizsgálat során észlelt rubeola IgM pozitivitás esetében a rendelet értelmében kérjük a következő módon eljárni:

- a mintát haladéktalanul továbbítani kell az Országos Epidemiológiai Központ Általános vírusdiagnosztikai osztályára
- a megbetegedés gyanúját jelenteni kell az ÁNTSZ felé

A helyi labor által kiadott leleten az IgM pozitivitás tényét a félreértések és az esetleges átgondolatlan klinikai döntések elkerülése végett /pl. fennálló graviditás esetében/, az alábbi megfogalmazással kell kiadni:

„A többszörösen módosított 18/1998 NM rendelet alapján az adott savó mintát akut fertőzés kizárása, ill. megerősítése céljából a végleges vizsgálati eredmény kiadására jogosult Országos Epidemiológiai Központ Általános vírusdiagnosztikai osztályán működő Kiütéses vírusbetegségek Nemzeti Referencia Laboratóriumába továbbítjuk.”

## A 2007. évi HIV szerológiai jártassági körvizsgálat értékelése

Győri Zoltán, Minárovits János

### Bevezetés

Magyarországon az első HIV pozitív személyt 1985-ben diagnosztizálták. A laboratóriumi háttér már ekkor rendelkezésre állt a megfelelő vizsgálatok elvégzéséhez.

Azóta az évente felismert új pozitív személyek száma sokáig közel azonos szinten mozgott (50-80 fő/év), az utóbbi években azonban emelkedés tapasztalható.

Tekintettel arra, hogy hazánktól nyugatra és keletre is magas a HIV fertőzöttség, rendkívül fontos a járványügyi felügyelet éberségének fenntartása, az új fertőzések minél korábbi felismerése.

A HIV fertőzés bejelentési kötelezettség alá tartozik, a szűrő és megerősítő vizsgálatokat az arra jogosult, jogszabály által kijelölt laboratóriumok végzik.

A szándékosan túlérzékenyített szűrőtesztek használata miatt minden a szűrés során reaktív eredményt adó minta megerősítő vizsgálatát el kell végezni.

Az Országos Epidemiológiai Központ Mikrobiológiai Kutatócsoportjában működő Humán Immundeficiencia Vírus (HIV) Nemzeti Referencia Laboratóriuma a megerősítő vizsgálatok elvégzésére jogosult laboratóriumok közé tartozik. Az Országos Bőr- és Nemikórtani Intézet (OBNI) AIDS Laboratóriumának megszűnését követően a bőr és nemibeteg-gondozó intézményekben végzett anonim szűrővizsgálatok megerősítése is itt történik.

A Mikrobiológiai Kutatócsoport 2006. óta vesz részt az OEK Minőségbiztosítási osztályával közösen a HIV szerológiai jártassági körvizsgálatok szervezésében. A minták összeállítását és az eredmények értékelését a Kutatócsoport munkatársai végzik. Az eredmények értékelése során szerzett tapasztalatok valamennyi résztvevő laboratórium számára hasznos visszajelzést jelentenek.

A 2007. évi mindkét körvizsgálatban 8 laboratórium vett részt.

Valamennyi laboratórium a Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab ELISA tesztet használta.

A minták vizsgálatát két egymást követő napon megismételve végezték.

### Körvizsgálati minták

A kiküldött minták az OEK Mikrobiológiai Kutatócsoport HIV Nemzeti Referencia Laboratóriumában tárolt, előzetesen bevizsgált savókból származtak.

A körvizsgálatra csak a HBsAg negatív és anti-HCV negatív minták lettek felhasználva.

A minták alikvotjai egyedi jelöléssel ellátva kerültek szétosztásra.

Minden laboratórium 4 mintát kapott, a vizsgálati minták térfogata csövenként 200–200 µl.

### Eredmények

A vizsgálatban résztvevő laboratóriumok mérési eredményeinek összehasonlítása:

#### OD/Cut-off értékek (két mérés átlaga)

Minta kódja	Labor kódja								
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	
2221	0,60	0,30	0,33	0,44	0,30	0,18	0,34	0,40	2007/ I.
5259	1,30	1,19	1,78	1,23	0,91	1,32	>19	0,94	
5317	17,38	20,92	>18	>12	>20	>20	>19	>16	
5346	17,80	20,50	>18	>12	>20	>20	1,40	>16	

05-1453	21,92	24,02	>16	>15	>20	>19	>19	>16	2007/ II.
06-2352	21,80	24,33	>16	>15	>20	>19	>19	>16	
07-2959	21,82	23,73	>16	>15	>20	>19	>19	>14,8	
D2248	0,30	0,19	0,23	0,46	0,23	0,29	0,40	0,22	

### Értékelés

A különböző gyártási számú ELISA kitek használata valamint a módszer mérési bizonytalansága következtében az egyes laboratóriumokban mért optikai denzitások és Cut-off értékek hányadosa eltér egymástól.

Az eredmények minősítésénél az alábbi értékeket tekintettük elfogadhatónak:

	Minta jele	Várható eredmény	Elfogadhatósági értékek (OD/Cut-off)
2007/I.	2221	negatív	0,10 - 0,70
	5259	negatív / gyengén pozitív	0,80 – 1,90
	5317	pozitív	> 10,0
	5346	pozitív	> 10,0
2007/II.	05-1453	pozitív	> 15,0
	06-2352	pozitív	> 15,0
	07-2959	pozitív	> 14,8
	D-2248	negatív	0,10 – 0,70



Végső soron megállapíthatjuk, hogy valamennyi laboratóriumból az elvárásnak megfelelő mérési eredményeket kaptuk, de egy laboratórium esetében két minta felcserélése valószínűsíthető a 2007/I. körvizsgálatban.

## A 2007. évi Toxoplasmosis szerológiai jártassági körvizsgálat értékelése

Danka József, Kucsera István

A toxoplasmosis körvizsgálatokban a laboratóriumok specifikus ellenanyag kimutatás vizsgálatainak kvalitatív eredményeit és az összefoglaló véleményadást értékeltük.

A toxoplasmosis esetében a fertőzött/nem fertőzött státusz megállapításán kívül, – különösen várandós kismamáknál – fontos a primer fertőzés hozzávetőleges időpontjának a becslése is. Ennek érdekében ellenanyag izotípus specifikus módszereket kell kombináltan alkalmazni, szükség esetén IgG aviditás vizsgálattal is kiegészítve.

Az IgG és IgM szeroprofil vizsgálatával az esetek legalább 90%-ában már adekvát véleményt lehet adni, ezért a részvétel minimum feltétele az volt, hogy a laboratórium legalább ennek a két ellenanyag izotípusnak a kimutatását rutinszerűen végzi.

A munkánk során nap, mint nap szembesülünk anyagi gondokkal. Az Országos Epidemiológiai Központ Parazitológiai osztályán működő Toxoplasmosis Nemzeti Referencia Laboratórium (TpNRL) mindig azt az álláspontot képviselte, hogy nem szükséges minden laboratóriumnak rendelkeznie a vizsgálati spektrum teljes skálájával (ez a kitek kihasználtsága szempontjából nem is lenne gazdaságos), de kívánatos és elvárt, hogy a toxoplasmosis vizsgálatokra vállalkozók: 1) legyenek tisztában a módszereik diagnosztikus értékével, 2) a módszerek legalább egy előzetes, de megalapozott vélemény adását tegyék lehetővé, 3) problémás esetben vegyék igénybe a TpNRL segítségét, de indokolatlanul ne terheljék annak kapacitását.

Az értékelések során a fentiek szellemében igyekeztünk eljárni. A választható interpretációk felsorolásakor alapvetően az Orvosi Mikrobiológiai Szakmai Kollégium ajánlásában<sup>4</sup> szereplő kategóriákat adtuk meg. Némi egyszerűsítést azért tartottunk szükségesnek, mert a körvizsgálatokban nincs mód savópár vizsgálatával pontosítani az első vizsgálat eredményét. Az összefoglaló vélemény értékelése során figyelembe vettük a résztvevők vizsgálati spektrumát, vagyis azt a tényt, hogy IgG és IgM pozitív esetekben több módszer kombinációjával megbízhatóbb eredmény adható. A minta továbbküldésére vagy további vizsgálatának szükségességére utaló bejegyzést az 1. fordulóban csak szövegesen, a 2.-ban már kódolva lehetett megadni. A résztvevők a körvizsgálat egészére vonatkozó általános értékelő dokumentumon kívül, egyéni értékelőlapokon kaptak tájékoztatást.

<sup>4</sup> Klin. Kísérl. Lab. Med. 28. 115-131. (2001)  
Mikrobiológiai Fórum, Nagy Erzsébet összeállítása  
Folyamatábrák: Szénási Zsuzsanna: *Toxoplasma gondii*

### Körvizsgálati minták

Mindkét körben 3-3 szérumminta kiküldésére került sor, egy eredményközlő lap és egy részletes kitöltési útmutató kíséretében. A körvizsgálati mintákat a TpNRL, hasonló szeroprofílt (friss vagy látens fertőzés vagy szeronegatív) mutató, korábbi vizsgálati anyagaiból poolozott törzspreparátumok keverésével állítottuk elő. Kiszerezés előtt a poolokat újra megvizsgáltuk a rendelkezésre álló módszerekkel. A korábbi évek gyakorlatától eltérően, 2007-ben minden laboratórium azonos mintasorozatot kapott az eredmények jobb összehasonlíthatósága érdekében.

Mindkét esetben azt kértük, hogy a vizsgálatok és az eredmény értelmezés során úgy járjanak el, mintha a minták tünetmentes, 16. heti gesztációs időben lévő gravidáktól származnának, akiknek ez az első toxoplasmosisra irányuló vizsgálatuk.

#### 1.sz. táblázat. A körvizsgálati minták jellemző tulajdonságai

Forduló	Körvizsgálati minta No	Jellemzés
<b>TK5 (2007/1)</b>	<b>1</b>	A szeroprofíl alapján a friss, (3-4 hónapon belüli) fertőzés kizárható (IgG viszonylag magas koncentrációban pozitív, IgM és IgA negatív, IgG aviditás magas)
	<b>2</b>	Az 1-es minta <b>NEGATÍV</b> poolal történt 1:2 arányú hígításával készült. A szeroprofíl ugyanaz, mint az 1-es mintáé, de az IgG koncentráció annak a fele
	<b>3</b>	Az 1-es minta <b>NEGATÍV</b> poolal történt 1:4 arányú hígításával készült. A szeroprofíl ugyanaz, mint az 1-es mintáé, de az IgG koncentráció annak a negyede
<b>TK6 (2007/2)</b>	<b>1</b>	A szeroprofíl alapján a friss, primer fertőzés gyakorlatilag kizárható (IgG közepes koncentrációban pozitív, IgM és IgA negatív, IgG aviditás magas)
	<b>2</b>	Friss (3-4 hónapon belüli) fertőzés valószínűsíthető (IgG, IgM, IgA pozitív, IgG aviditás alacsony)
	<b>3</b>	Nem fertőzött (IgG, IgM, IgA negatív)

#### Elvárt eredmények és interpretációk

## 2.sz. táblázat. A kvalitatív eredmények és az interpretációk célértékei

Forduló	Körvizsg. minta No	IgG	IgM	IgA	IgG aviditás	Interpretáció*
TK5 (2007/1)	1	pozitív	negatív	negatív	magas	Friss (3-4 hónapon belüli) fertőzés nem valószínű
	2	pozitív	negatív	negatív	magas	Friss (3-4 hónapon belüli) fertőzés nem valószínű
	3	pozitív	negatív	negatív	magas	Friss (3-4 hónapon belüli) fertőzés nem valószínű
TK6 (2007/2)	1	pozitív	negatív	negatív	magas	Látens (legalább 3-4 hónapnál régebbi) fertőzésre utaló eredmények
	2	pozitív	pozitív	pozitív	alacsony	Friss (3-4 hónapon belüli) fertőzés valószínű/lehetséges
	3	negatív	negatív	negatív	XXX	Negatív, nem fertőzött

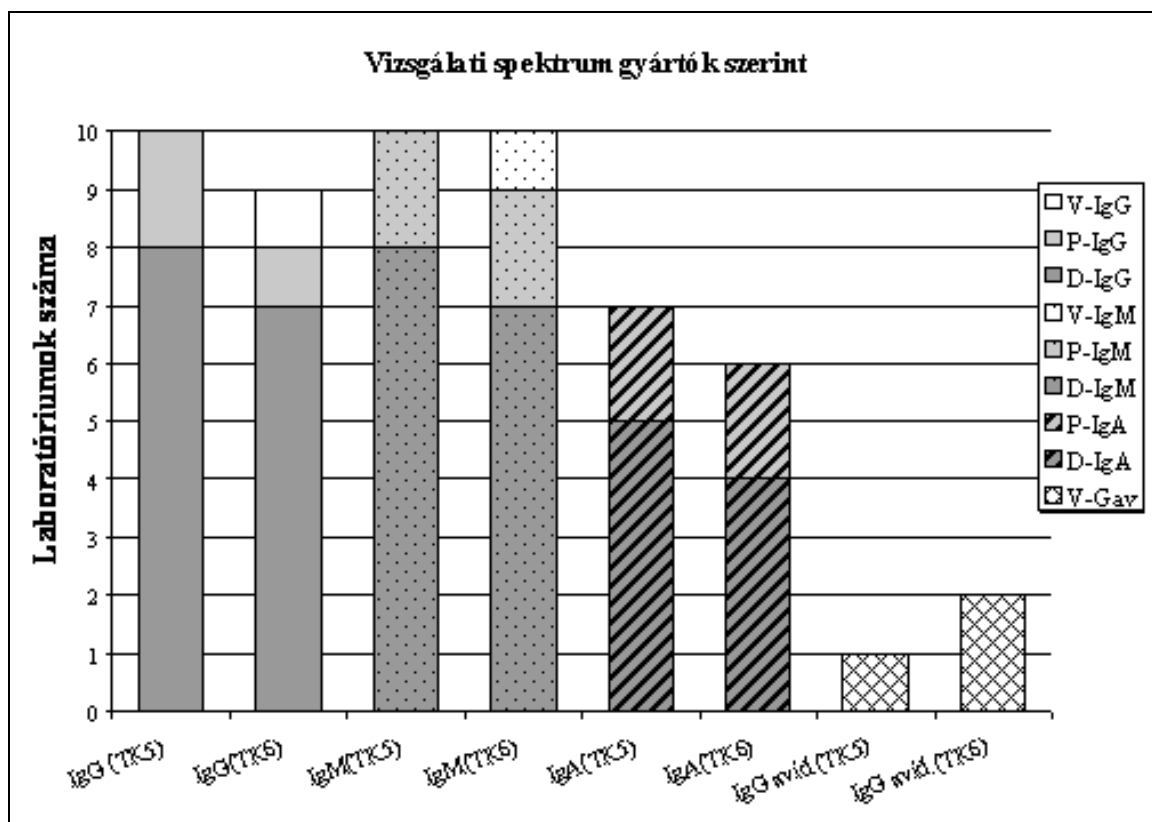
\*A táblázatban jelzett „ideális” interpretációs célértékek arra az esetre vonatkoznak, ha a laboratórium minden vizsgálat elvégzésére felkészült. A tényleges értékelés során az interpretáció célértékeit a laboratórium vizsgálati spektrumához igazítottuk.

### Laboratóriumi részvétel és vizsgálati spektrum

A két fordulóban összesen 11 laboratórium vett részt, közülük 9 mindkét körben. A résztvevők EIA elvű módszereket használtak. Az IgG, IgM és IgA vizsgálatokban, mindkét fordulóban a DiaSorin gyártmányú kitek domináltak. IgA vizsgálatokat a résztvevők több, mint fele végzett, IgG aviditás eredményt pedig 1, illetve 2 laboratórium küldött vissza (1.sz. ábra).

#### 1.sz. ábra





V-IgG	BioMerieux Vidas Toxo IgG II
P-IgG	Bio-Rad Platelia Toxo IgG TMB
D-IgG	DiaSorin ETI-TOXOK G Plus
V-IgM	BioMerieux Vidas Toxo IgM
P-IgM	Bio-Rad Platelia Toxo IgM TMB
D-IgM	DiaSorin ETI-TOXOK M reverse Plus
P-IgA	Bio-Rad Platelia Toxo IgA TMB
D-IgA	DiaSorin ETI-TOXOK A reverse Plus
V-Gav	BioMerieux Vidas Toxo IgG Avidity

### Kvantitatív és kvalitatív IgG eredmények

Csak a módszerekhez tartozó minőségi eredményeket (negatív, kétes, pozitív) értékeltük. A kvantitatív eredmények megadását is kértük ugyan, de az ismert gyártóspecifikus eltérések miatt ezeket nem minősítettük, hanem csak bizonyos gyártóspecifikus összehasonlítást végeztünk. Ugyanez a gyakorlat a hazai QualiCont Kht. és a német Instand eV. toxoplasmosis körvizsgálataiban is.

A D-IgG kitek általában magasabb értékeket mérnek ugyanarra a mintára, mint a P-IgG kitek. Ezt tükrözik a 3.sz. táblázat (TK5 forduló) mennyiségi eredményei is.

3.sz. táblázat. D-IgG és P-IgG kiteket használó laboratóriumok kvantitatív IgG (IU/ml) eredményei

Laboratórium	Reagens	Lot	TK5/1	TK5/2	TK5/3
1	D-IgG	2400400A/1	>250	239	139
2	D-IgG	2400400A	>250	>250	179
3	D-IgG	2400400A	455	233	97
4	D-IgG	2400400A	121	112	49
5	D-IgG	2400400A	525	197	99
6	D-IgG	2400400A/1	>250	>250	150
7	D-IgG	2400400A	>250	>250	147
8	D-IgG	24000390A	118	60	25
9	P-IgG	6F2131	238	150	89
10	P-IgG	5J2029	221	85	40

A fenti összesítés másik komoly tanulsága, hogy az egyes laboratóriumok mérési eredményei igen széles tartományban szóródnak, még az azonos lot számú kitek használók körében is. Ez sajnos alátámasztja azt a tényt, hogy a különböző laboratóriumok által kiadott mennyiségi eredmények csak nagyon korlátozott mértékben hasonlíthatók össze.

A TK5 forduló mintái egy 2-es léptékű hígítási sorozatba illeszkedtek (1.sz. táblázat), az 1-es, 2-es és 3-as minták relatív IgG koncentrációi 4:2:1 arányban viszonyultak egymáshoz. E speciális mintasorozat kiküldésekor az volt a célunk, hogy a résztvevők ellenőrizhessék a kalibrációs görbe linearitását is. A 3.sz. táblázat értékei azt mutatják, hogy a kalibrációs görbéből kalkulált koncentrációk többé-kevésbé követik is ezt az arányt, legalább is egy-egy konkrét laboratóriumon belül. A laboratóriumoktól lehetőség szerint végpontosan meghatározott eredményeket kértünk, amit nem mindenki teljesített, így a >250 IU/ml értékek a linearitás vizsgálata szempontjából nem használhatók.

A kvalitatív IgG eredményeket minden résztvevő, mindkét fordulóban, minden mintára helyesen adta meg.

### **Szemi-kvantitatív, kvalitatív IgM**

A toxoplasmosis IgM EIA kitek alapvetően csak minőségi eredményt adnak. A vizsgálat végeredménye ugyan egy szám, amivel a kontroll(ok)ra mért hasonló típusú szám(ok)kal, kettől függő, különböző típusú matematikai műveleteket javasolt végezni a minta besorolásának (negatív, kétes vagy pozitív) megállapítására vagy a pozitivitás mértékének becslésére, de ezek a kalkulációs algoritmusok annyira gyártóspecifikusak, hogy az eredmények csak azonos gyártmányú kitek estében hasonlíthatók össze. A 2007-es vizsgálatsorozatokban csak egy minta (TK6/2) volt IgM pozitív. A „mennyiségi” eredmények

hosszvetőleges összehasonlíthatóságának biztosítása érdekében a laboratóriumoktól a leguniverzálisabbnak tekinthető, minta OD/cut-off OD arány megadását kértük, de a V-IgM kitnél ez a módszer nem alkalmazható (4.sz. táblázat).

Laboratórium	Reagens	Menny.	Minősítés
1	D-IgM	3,62	pozitív
2	D-IgM	2,84	pozitív
3	D-IgM	3,3	pozitív
4	D-IgM	2,98	pozitív
5	D-IgM	3,432	pozitív
6	D-IgM	0,2	negatív
7	D-IgM	3,546	pozitív
8	P-IgM	3,26	pozitív
9	P-IgM	4,58	pozitív
10	V-IgM	2,26	pozitív

4.sz. táblázat. „Kvantitatív” és kvalitatív IgM eredmények laboratóriumonként a TK6/2 minta esetében (D,P-IgM-nél minta OD/cut-off OD arány, V-IgM-nél TV)

A pozitív kvalitatív minősítést – 1 laboratórium kivételével – mindenki helyesen adta meg, Hasonló módon, az IgM negatív eredmények is – 1 kivételével – megfelelőek voltak. Mindkét esetben ugyanaz a laboratórium hibázott, de ennek a laboratóriumnak az eredményei inkább mintacserére vagy az eredményközlő figyelmetlen kitöltésére utaltak.

### **Kvantitatív, szemi-quantitatív, kvalitatív IgA**

Az IgA esetében, az IgM vizsgálatoknál leírt gyártóspecifikus sajátosságok és a „mennyiségi” eredmények összehasonlíthatóságának problémái még halmozottabban jelentkeznek, mert a D-IgA kit egy sajátos kalibrációs görbét használ és az eredményt egy önkényes (arbitrary) egységben fejezi ki. A kvalitatív eredmények megadása során, az IgA vizsgálatokat végző laboratóriumok – 1 értékelhetetlen eredmény kivételével – hibátlanul tejesítettek.

### **IgG aviditás**

Mindkét laboratórium megfelelő eredményeket közölt. Egyikük csak az IgM-re is pozitív mintából végzett ilyen vizsgálatot. Így az el nem végzett vizsgálat „eredményét” nem lehet ugyan minősíteni, de feltételezve, hogy a körvizsgálat éles helyzetet szimulál, a döntést – miszerint IgG pozitív, de IgM negatív (teljesen szintelen) esetben az IgG aviditás végzése nem indokolt – elfogadhatónak ítéltük, feltéve, hogy a résztvevők ezt jelezték.

### **Eredmény interpretáció és szabad szöveges megjegyzés**

A résztvevők által megadott összefoglaló interpretációs kód, a laboratórium vizsgálati spektrumát is figyelembe véve – 1-2 kivételtől eltekintve – elfogadható volt.

## A TpNRL észrevételei, javaslatai

A 2007. évi fordulókban az egyik laboratóriumnál előfordult téves minősítést, vagy figyelmetlen eredményközlést leszámítva, durva nem megfelelést nem tapasztaltunk és a résztvevők teljesítményét összességében kielégítőnek ítéljük.

Alapigazság, hogy az ellenanyag vizsgálattal nem a kórokozót, hanem csak a fertőzésre adott válaszreakciók valamilyen „terméké(i)t” keressük. Sok-sok hasonló státuszú ember különböző módszerekkel történt vizsgálati eredményeiből leszűrt általános tapasztalatok felhasználásával próbálunk egy-egy konkrét személy vizsgálati eredményeiből visszakövetkeztetni az ő aktuális státuszára (nem fertőzött, fertőzött és mikor fertőződött, a magzat veszélyeztetett-e stb.). Az individuális válaszreakciók lehetséges kimenetelét befolyásoló ismert és még ismeretlen okok, illetve a módszerekben rejlő hibalehetőségek miatt a végkövetkeztetések nem lehetnek 100%-osak. A *Toxoplasma* fertőzés akut voltának igazolására/kizárására hivatott tesztekéről is tudjuk, hogy pl. az IgM, de IgA is hosszú ideig, akár évekig perzisztálhat, az alacsony vagy közepes IgG aviditás önmagában nem bizonyítja a 4 hónapon belüli fertőzést, és ezeknek az általános sémába nem illeszkedő eredményeknek a részaránya több százalék. Tapasztalataink szerint a fentebb hivatkozott, szakmai protokoll javaslat gravidákra vonatkozó részének az egyik legproblematisabb része a vizsgálatok ismétlésének kérdése, illetve az, hogy milyen esetekben szükséges az IgG és IgM eredmények kiegészítése IgA vagy IgG aviditás vizsgálattal. A congenitalis toxoplasmosis súlyos veleszületett rendellenességeket okozhat, de számos esetben csak 10-20 év múlva alakulnak ki a tünetek. A protokoll indokoltan óvatos, amikor szinte minden pozitív eredményt további, néha 2 további minta vizsgálatával javasol megerősíteni. A tapasztalatok ugyanakkor azt mutatják, hogy közepes és magas IgG, negatív IgM (teljesen szintelen) esetén további ismétlés vagy egyéb kiegészítő vizsgálatok elvégzése nem ad megbízhatóbb eredményt, ráadásul egy esetlegesen előforduló IgA reaktivitás (nagy valószínűséggel aspecifikus) vagy egy közepes IgG aviditás elbizonytalanítja az interpretációt. Hasonlóképpen nem látjuk szükségesnek a teljes vizsgálati spektrum felvonultatását olyan esetekben, amikor az adatbázisaink szerint, az adott személy fertőzöttségét már évekként ezelőtt igazoltuk. Az irodalomban található olyan közleményeket is, amelyek több hónappal, vagy évekként a fogantatás előtt lezajlott anyai fertőzést követően bekövetkezett congenitalis toxoplasmosist írnak le. A laboratórium a fertőzés „régí” voltának valószínűsítésével nem tudja garantálni a magzat védettségét (ezért nem tartjuk szerencsésnek a leleten a „védett” jelzést). Ugyanakkor a fertőzést követően évekig perzisztáló IgM, vagy a tartósan alacsony IgG aviditás, önmagában nem jelent nagyobb kockázatot (legalább is egyelőre, erre nincs bizonyíték). A fertőzés időpontjának a meghatározása nem

teljesen azonos az anya→magzat átvitel kockázatával. Vannak próbálkozások, de jelenleg nincs olyan módszer, amivel a tényleges kockázatot egészen pontosan mérni tudnánk.

Feltétlenül szükséges lenne, hogy a gravidáktól legkésőbb a 16. gesztációs héten megkapjuk az első mintát. A terhesség vége felé kiadott, IgA, IgG aviditás vizsgálattal megerősített *4 hónapon belüli fertőzés nem valószínű* lelet már hatályon kívüli. A friss fertőzésre gyanús, a TpNRL-ba verifikálásra továbbküldött minták esetében mindig azt szoktuk kérni, hogy azonnal intézkedjenek a továbbküldésről. Ez elsősorban a kezelés szükségességének szempontjából fontos, de adminisztratív okai is vannak. A laboratóriumunk az OEP felé a mintavétel dátuma szerinti dátumon jelent, így a lehetséges pótjelentés időszakánál régebbi minták vizsgálatát kénytelenek vagyunk visszautasítani. A kéréshez mindig csatolják az eredeti beutaló olvasható másolatát és a saját eredményük másolatát, mert a TpNRL leletét az eredeti beküldőnek küldjük, de a mintát továbbító laboratórium is kap másolatot.

## A 2007. évi gomba azonosítás és érzékenység meghatározása jártassági körvizsgálat értékelése

Zala Judit, Kiss Katalin, Darvas Eszter

### 2007/I. körvizsgálat

A 2007. évi I. számú körvizsgálatban 8 laboratórium vett részt.

Három ampullát küldtünk (10767/1/05, 10293/05, 9863/06), melyek mindegyike liofilizált gombatörzset tartalmazott. A feladat a gombatörzsek azonosítása volt faj szintig, illetve antimikotikumokkal szembeni érzékenységük meghatározása, a laboratóriumok által használt rutin diagnosztikai módszerekkel!

A **10767/1/05** törzs egy 69 éves nőbeteg bronchus váladékából származik, akinél perifériás árnyékokat láttak a tüdön, diagnózisában asztma szerepel, szteroid terápiaiban részesül.

A **10293/05** törzs egy köröm kaparékából izolált gomba.

A **9863/06** törzs egy vese dializáló oldatból izolált gomba.

### Az értékelés szempontjai

#### Identifikálás

jó species név	5 pont
még akceptálható species név	3 pont
genus név jó, de a species nem	1 pont

A 9863/06 számú mintánál a *Cladosporium sp.*-t még akceptálhatóan 3 pontra értékeltük.

Elérhető maximum pontszám: 15 pont

#### Érzékenység meghatározás

minden jó válasz (É, M vagy S-DD, R)	2 pont
ha É helyett M szerepelt, ill. fordítva	1 pont
rossz válasz	0 pont

Az értékelésnél Fluconazol, Itraconazol értékeit vettük figyelembe, de csak a sarjadzó gombák esetén.

Így az elérhető maximum pontszám: 8 pont

Az identifikálásért és a Fluconazol, Itraconazol érzékenységi vizsgálatokért kapott pontszám maximum 23 lehet. 10 pont felett a laboratórium a körvizsgálat feladatait megfelelően végezte el.

**Eredmények összegzése:**

	Laboratóriumok száma	%	
<i>Candida kefyr</i> 10767/1/05			
<b><i>Candida kefyr</i></b>	7	87,5 %	API Candida ID32C, Auxacolor, API 20C AUX, VITEK2
<b><i>Candida rugosa</i></b>	1	12,5 %	Auxacolor

	Laboratóriumok száma	%	
<i>Cryptococcus albidus</i> 10293/05			
<b><i>Cryptococcus albidus</i></b>	1	12,5 %	Auxacolor
<b><i>Cryptococcus</i></b>	1	12,5 %	API 20C AUX
<b><i>Cryptococcus neoformans</i></b>	2	25 %	API Candida ID32C, API 20C AUX
<b><i>Candida famata</i></b>	1	12,5 %	Auxacolor
<b><i>Candida albicans</i></b>	1	12,5 %	API 20C AUX
<b><i>Dermatophyton</i> tenyésztést nem végez</b>	1	12,5 %	-
<b><i>Nem volt kitenyésztethető</i></b>	1	12,5 %	-

<i>Cladosporium sphaerospermum</i> 9863/06	Laboratóriumok száma	%
<b><i>Cladosporium spp.</i></b>	6	75 %
<b><i>Hormodendrum spp.</i></b>	1	12,5 %
<i>Lassú növekedés miatt nem tudta identifikálni</i>	1	12,5 %

A fenti táblázatokból látható, hogy a 10767/1/05-ös *Candida kefyr* törzs meghatározása a laboratóriumoknak egy kivétellel nem okozott gondot. Habár morfológiailag a *C. kefyr* és *C. rugosa* törzsek hasonlóak, a szénhidrát asszimilációjuk eltérő. *C. kefyr*-nél a szacharóz, raffinóz mindig pozitív, és a laktóz is általában pozitív, ezzel szemben a *C. rugosa*-nál ezek negatívak. (G. S. de Hoog, J. Guarro, J. Gené & M. J. Figueras: Atlas of Clinical Fungi – 2000, 2. kiadás alapján)

A *Cryptococcus albidus* malátakivonatós agaron fényes, sima, nyálkás, krémszínű telepeket képez. A *Cr. neoformans*-tól való elkülönítés: nigermagos agaron nem képez barna pigmentet. Az élesztősejtek inkább vastag falúak, gömb vagy ovális alakúak 5-10×3,5-8,0 µm nagyságúak, tussal vékony tok látható a sejtek körül. Hifa vagy pszeudohifa nincs. A *C. albidus*-t régebbi irodalmakban többször is leírták onychomycosis kórokozójaként. (G. S. de Hoog, J. Guarro, J. Gené & M. J. Figueras: Atlas of Clinical Fungi – 2000, 2. kiadás alapján)

A *Cladosporium sphaerospermum* 2%-os malátakivonatós agaron közepesen gyorsan nő, bársonyostól porosig változhat a felülete, a színe olíva-olívabarna, a hátoldala zöldes fekete. A konídiofórumok nagysága változatos egészen 300 µm hosszúak is lehetnek, 3-5 µm szélesek, halvány vagy közepes olívabarnák, simafalúak vagy szemölcsösek. A ramokonídiumok lehetnek szeptáltak 1-2 szeptummal, vagy nem szeptáltak, megnyúltak, simafalúak, vagy szemölcsösek. A konídiumok kerek, középestől a sötétolívabarnáig színezettek, szemölcsösek, 3-5 µm-esek. (G. S. de Hoog, J. Guarro, J. Gené & M. J. Figueras: Atlas of Clinical Fungi – 2000, 2. kiadás alapján).



## Rezisztencia vizsgálatok eredményei

Rezisztencia vizsgálatot 1 laboratórium egyáltalán nem végez. A 9863/06-os mintából, mivel az dializáló folyadékából izolált minta, helyesen, senki nem végzett. A 10293/05-ös dermatológiai mintából kitenyésztett gombából pedig 4 laboratórium végzett antimikotikum érzékenységi vizsgálatot.

### Érzékenységi vizsgálatokhoz alkalmazott módszerek:

Módszer	E-teszt	ATB Fungus	Fungitest	Korongdiffúziós teszt
Laboratóriumok száma	3	4	1	1

(2 laboratórium többféle módszert is alkalmazott.)

A MIC értékek az alábbi tartományokba estek:

		AMB	FLU	ITR	VOR
10767/1/05	<i>C. kefyr</i>	1 – 4	2 – 8		0,023 – 0,125
10293/05	<i>C. albidus</i>		>256	0,125 – 0,5	
OEK Mikológia	<i>C. kefyr</i>	1,5	3		0,047
	<i>C. albidus</i>		>256	0,25	
G. S de Hoog	<i>C. kefyr</i>	0,5-2	0,5-4		<0,03-0,06
	<i>C. albidus</i>				

## **2007/II. körvizsgálat**

A 2007. évi II. számú körvizsgálatban 8 laboratórium vett részt.

Három ampullát küldtünk (1021207, 1027007, 1025007), melyek mindegyike liofilizált gombatörzset tartalmazott. A feladat a gombatörzsek azonosítás volt faj szintig, illetve antimikotikumokkal szembeni érzékenységük meghatározása, a laboratóriumuk által használt rutin diagnosztikai módszerekkel!

A **1021207** törzs egy 70 éves férfi beteg bronchusából származik, akinek jobb oldali üreges tüdőinfiltrátumot észleltek a Rtg. felvételén.

A **1027007** törzs egy 65 éves férfi bronchusából származik, aki folyamatos szteroid kezelésben részesül.

A **1025007** törzs egy 68 éves nő tracheájából származik, aki hasi műtéte után intenzív ellátásban részesült.

### ***Az értékelés szempontjai***

A pontozás korábbi körvizsgálatokhoz hasonlóan történt.

Az értékelésnél Fluconazol, Itraconazol, Amphotericin B értékeit vettük figyelembe, de csak a sarjadzó gombák esetén.

Így az elérhető maximum pontszám: 12 pont

Az identifikálásért és az Amphotericin B, Fluconazol, Itraconazol érzékenységi vizsgálatokért kapott pontszám maximum 27 lehet. 12 pont felett a laboratórium a körvizsgálat feladatait megfelelően végezte el.

### Eredmények összegzése:

<i>Candida glabrata</i> 1021207	Laboratóriumok száma	%	Vizsgáló módszerek
<i>C. glabrata</i>	8	100	API Candida ID32C, Auxacolor, API 20C AUX, VITEK2
<i>B. capitatus/ G. capitatum</i> 1027007			
<i>G. capitatum</i>	3	37,5	Auxacolor, VITEK2
<i>C. lipolytica</i>	2	25	API 20C AUX, VITEK2, API Candida, Auxacolor
<i>C. krusei</i>	1	12,5	API 20C AUX
<i>C. parapsilosis</i>	1	12,5	API Candida ID32C
<i>C. rugosa</i>	1	12,5	Auxacolor
<i>Aspergillus terreus</i> 1025007			
<i>A. terreus</i>	4	50	-
<i>A. fumigatus</i>	2	25	-
<i>A. flavus</i>	1	12,5	-
<i>Aspergillus sp.</i>	1	12,5	-

### Az identifikálás eredményeinek értékelése:

A *C. glabrata* identifikálása nem okozott gondot, annál inkább a *G. capitatum*, mely más szinonim néven is ismert, mint *Trichosporon capitatum* vagy *Blastoschizomyces capitatus*. A *C. lipolytica*, *C. krusei*, *C. rugosa* szénhidrát asszimilációját tekintve ugyan hasonlít a *G. capitatum*-ra, de jellegzetes mikroszkópi képe téglaszerű arthrokonidiumaival elkülöníthetővé teszi.

(G. S. de Hoog, J. Guarro, J. Gené & M. J. Figueras: Atlas of Clinical Fungi – 2000, 2. kiadás alapján)

Az *A. terreus* identifikálása is problémát okozott a laborok felénél, az *A. terreus* telepei Czapek-agaron sárgától egészen fahéjbarnáig lehetnek színezettek. A telepek hátoldala narancssárga vagy barna. A konidióforumok simák,

színtelenek. A vezikulumok félgömb alakúak, az átmérőjük 10-20 $\mu$ m. A konídiumos fejcskék oszlopszerűek.

(G. S. de Hoog, J. Guarro, J. Gené & M. J. Figueras: Atlas of Clinical Fungi – 2000, 2. kiadás alapján)

### Rezisztencia vizsgálatok eredményei

Rezisztencia vizsgálatot 1 laboratórium kivételével mindenki végzett a 1021207-es mintából. Az antimikotikum vizsgálatot 1027007-es mintából mindenki elvégezte. A 1025007-es mintából, csak 2 labor végzett rezisztencia vizsgálatot.

### Érzékenységi vizsgálatokhoz alkalmazott módszerek:

Módszer	E-teszt	ATB Fungus	Fungitest	Korongdiffúziós teszt
Laboratóriumok száma	3	3	1	1

A MIC értékek az alábbi tartományokba estek:

		AMB	ITR	VOR
1021207	<i>C. glabrata</i>	0,38-2	0,5-32	0,25-8
1027007	<i>G. capitatum</i>	0,125-8	0,125-4	>0,5
OEK Mikológia	<i>C. glabrata</i>	0,064	32	0,5
	<i>G. capitatum</i>	0,75	0,047	0,047
G. S. de Hoog	<i>C. glabrata</i>	0,06-2	0,5->16	0,03-8
	<i>G. capitatum</i>	0,15-0,62	0,25-0,5	0,06-0,25

### A táblázatokban használt rövidítések:

amb: amphotericin B

flu: fluconazole

itr: itraconazole

vor: voriconazole