

Laboratórne vyšetrovacie metódy na dôkaz *M. tuberculosis* a netuberkulózných mykobaktérií.

Oddelenie klinickej mikrobiológie, NÚTPCHaHCH, Vyšné Hágy 1, 059 84 Vyšné Hágy

Žiadanka: k dispozícii na www.hagy.sk → SVaLZ → OKM →

Nutné údaje: meno a priezvisko, rodné číslo, kód zdravotnej poisťovne, druh vzorky, dátum odberu a druh požadovaného vyšetrenia, pečiatka lekára indikujúceho vyšetrenie.

Vyšetrovaný materiál:

Spútum, BAL, moč, hnis, stery/výtery, likvor, žalúdočný aspirát, krv, kostná dreň, biopsie, punktáty, peroperačný, sekčný materiál

Odber materiálu:

Správny postup pri odbere vzorky, odberové nádoby, dostatočné objemy vzoriek a vhodné prepravné podmienky môžu výrazne ovplyvniť výsledky vyšetrení.

Materiál sa odoberá do sterilnej odberovej nádoby **bez fixatív a konzervantov**, vhodnej na centrifugáciu (so skrutkovacím uzáverom - prevencia vyliatia a znehodnotenia materiálu počas transportu.)

Napríklad:



Skladovanie a transport:

- Vzorky by sa mali po správnom odbere čo najrýchlejšie doručiť do laboratória.
- Teplota uchovávaní vzorky **4°C** (plná krv **sa nedáva do chladničky**)
- Čas od odberu po spracovanie v laboratóriu by nemal presiahnuť **7 dní!**
- Čím je čas dlhší, tým sa znižuje pravdepodobnosť úspešnej kultivácie!
- Odber je vhodné vykonať pred podaním anti-tuberkulotík. Ciprofloxacín, levofloxacín, moxifloxacín, azitromycín, klaritromycín môžu mať signifikantný účinok na mykobaktérie.
- Vzorky a kultúry by mali byť transportované v:
 - skrutkovacia odberová nádoba v nepriepustnom obale(plastové vrečko)
 - sprievodné žiadanky v druhom plastovom vrečku(aby nedošlo k ich kontaminácii v prípade vyliatia vzorky.)

Zásady odberu biologického materiálu:	
Spútum a bronchiálny sekrét	3-5 ml hustého hlienovitého materiálu, alebo tekutého s vločkami hnisu. Možno odobrať aj indukované spútum. Číre sliny, alebo výtok z nosa nie sú na vyšetrenie mykobaktérií vhodné.
Laryngeálny výter	Navlhčený sterilný tampón na drôtku sa vsunie za epiglotis nad vchod do hltana. Pacient zakašle, na tampóne sa zachytí aerosol.
Laváže	Získajú sa po instilácii vlažného fyziologického roztoku pri bronchoskopii. Objem 20-50 ml.
Žalúdočný aspirát	Ráno nalačno sondou a ihneď previezť do laboratória, alebo neutralizovať pridaním 100 mg hydrogénuhličitanu sodného.
Moč	Stredný prúd ráno – 30ml, po umytí genitálií. 3 dni po sebe(3 vzorky)
Likvor, pleurálne, perikardiálne, synoviálne výpotky, ascites, punktáty, gynekologický materiál, kostná dreň	Odobraté za aseptických podmienok do sterilnej odberovej nádoby. Pleurálny výpotok je suboptimálna vzorka, nakoľko tuberkulózne bacily sú hlavne v pleurálnej stene a nie v tekutine. Minimálny objem pre pleurálny výpotok je 20–50 ml. Ideálna je vzorka z pleurálnej biopsie.
Výtery a stery	Z píštal a hnisavých procesov sa odoberá vzorka vlhčenými tampónmi. Najlepšie 3 vzorky pre zvýšenie možnosti záchytu.
Bioptický, sekčný materiál	Oddelenie časti tkaniva do sterilnej odberovej nádoby s pridaním 0,5-1ml sterilného fyziologického roztoku.
Stolica	Odoberá sa v množstve 0,5-1,0 g pri podozrení na TBC GIT, disseminovanú TBC, alebo mykobakteriózu HIV pozitívnych pacientov
Krv	Plná krv sa nechováva v chladničke. Transportuje sa s pridaním antikoagulantu. Sterilný 10 % šťavelan draselný(0,01–0,02 ml/1ml), heparín (0,2mg/ml) alebo 20 % citrát sodný (dve kvapky /10 ml)

Vyšetrovacie metódy: Priama diagnostika

Mikroskopia-

výsledok do 24 hodín - Nerozlišuje MTB od netuberkulózných mykobaktérií

Mikroskopické vyšetrenie moču sa robí na požiadanie.

Hodnotenie:	Počet ARP:
Negatívne	0 ARP v preparáte
Ojedinelý nález	1-19 ARP v preparáte
+	20-199 ARP v preparáte
++	5-50 ARP v zornom poli
+++	>50 ARP v zornom poli

Kultivácia-

Vaječné pôdy(Löwenstein- Jensen, Ogawa) – kultivácia 6 týždňov(pozitivitu hlásime hneď)

Predĺžená kultivácia do 9 týždňov- dodatočný výsledok posielame len pri pozitivite

Zrýchlená kultivácia – automat BACTEC MGIT 960

tekutá pomnožovacia pôda obsahuje rastové aminokyseliny a cukry, antibiotiká a antimykotiká na potlačenie sprievodnej bakteriálnej flóry. Pozitívna kultivácia je detegovaná už za 10-14 dní. Negatívne vzorky sa kultivujú v automate 6 týždňov.

Genetické testy- Nerozlišujú životaschopnosť mykobaktérií.

PCR:

Dôkaz MTB/netuberkulózných mykobaktérií/ MAC(M.avium komplex) vo vzorkách

Identifikácia kmeňov mykobaktérií

Určenie génov rezistencie multirezistentných kmeňov M. tuberculosis

Literatúra:

1. I. Solovič, M. Vašáková: Tuberkulóza ve faktech i obrazech
2. I. Solovič a kolektív: Tuberkulóza, vybrané kapitoly
3. J. Hurych, R. Štícha et al.: Lékařská mikrobiologie, Repetitorium
4. Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union 2022, www.ecdc.europa.eu