

IRÁNYELVEK

IRÁNYELV A NEISSERIA GONORRHOEAE FERTŐZÉS LABORATÓRIUMI DIAGNOSZTIKÁJÁHOZ A KELET-EURÓPAI ORSZÁGOKBAN

LEVELEZÉSI CÍM

Dr. Deák Judit

Szegedi Tudományegyetem,
Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ,
Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet
6725 Szeged Somogyi Béla tér 1.

Fax: 62 545959

E-mail: Deak@mlab.SZOTE.U-Szeged.HU

II. RÉSZ. TENYÉSZTÉSEN ALAPULÓ, NEM TENYÉSZTÉSEN ALAPULÓ MÓDSZEREK, ANTIBIOTIKUM-ÉRZÉKENYSÉG MEGHATÁROZÁS ÉS MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

GUIDELINES FOR LABORATORY DIAGNOSIS OF NEISSERIA GONORRHOEAE IN EAST-EUROPEAN COUNTRIES

PART 2. CULTURE, NON-CULTURE METHODS, DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESISTANCE, AND QUALITY ASSURANCE

Angolból fordította: Rátkai Csilla PhD
A fordítást lektorálta: Deák Judit MD, PhD

DEÁK JUDIT¹, ALEVTINA SAVICHEVA², EVGENIJ SOKOLOVSKY³, NATALIA FRIGO⁴, TANYA PRIPUTNEVICH⁴, TATJANA BRILENE⁵, RON BALLARD⁶, CATHY ISON⁷, ANDERS HALLÉN⁸, MARIUS DOMEIKA⁹, MAGNUS UNEMO¹⁰

Department of Clinical Microbiology, University of Szeged, Szeged, Hungary¹, Microbiology Laboratory, DO Ott Institute for Obstetrics and Gynecology, RAMS, St. Petersburg, Russia², Department of Dermatology and Venereology, Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russia³, Microbiology Laboratory, Central Institute for Skin and Venereal Diseases, Moscow, Russia⁴, Department of Microbiology, University of Tartu, Tartu, Estonia⁵, National Centre for HIV, STD, and TB Prevention, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, USA⁶, Sexually Transmitted Bacteria Reference Laboratory, Health Protection Agency (HPA), London, United Kingdom⁷, Department of Dermatology and Venereology, Uppsala University Hospital, Uppsala, Sweden⁸, Department of Medical Sciences, Uppsala University, Uppsala, Sweden⁹, Department of Clinical Microbiology, Örebro University Hospital, Örebro, Sweden¹⁰

KULCSSZAVAK: *Neisseria gonorrhoeae*, irányelv, tenyésztés, nem tenyésztésen alapuló módszerek, antibiotikum-érzékenység, minőségbiztosítás

KEY WORDS: *Neisseria gonorrhoeae*, guideline, culture methods, non-culture methods, antibiotic resistance, quality assurance

BEVEZETÉS

A jelenlegi irányelvek célja, hogy átfogó és pontos információt nyújtsanak a szexuálisan terjedő infekcióról (STI), a gonorrhoeáról, és a betegség etiológiai ágensének, a *Neisseria gonorrhoeae*-nek (*N. gonorrhoeae*, gonococcus) laboratóriumi diagnosztizálásáról a kelet-európai országokban. Az ajánlások fontos és alapvető információt tartalmaznak mind az orvosok, mind a laboratóriumi személyzet számára, akik STI és/vagy STI-vel kapcsolatos kérdésekkel foglalkoznak. A különböző kelet-európai országok-

ban a jelenlegi irányelvek kisebb helyi módosításokat igényelhetnek a követelmények betartásáért, például néhány reagens és berendezés hozzáférhetőségének hiánya miatt. A gonorrhoea infekcióról, a mintavételről, a klinikai minták szállításáról, valamint a mikroszkópos diagnosztizálásról szóló információkat lásd az „Útmutatók a *Neisseria gonorrhoeae* laboratóriumi diagnosztizálásához a kelet-európai országokban” 1. részében (STD és Genitális Infektológia 2008; 2 (1)). A jelenlegi irányelveket a Sexual and Reproductive Health and Rights (SRHR) Network, STI Diagnosz-

GYN07/003



GYNOFLOR

hüvelytabletta



MEDICO UNO

tikai Csoport tagjai írták, melyet az East Europe Committee of the Swedish Health Care Community, Swedish International Development Cooperation Agency (SIDA) támogatott. Projekt koordinátor Marius Domeika.

A gonorrhoea esetdefiníciója az Európai Unióban:

KLINIKAI LEÍRÁS

- a klinikai kép megegyezik a gonorrhoeával, urethritis, cervicitis, vagy salpingitis

A DIAGNÓZIS LABORÁTORIUMI KRITÉRIUMAI

- a *Neisseria gonorrhoeae* izolálása a klinikai mintából
- *N. gonorrhoeae* antigénjének vagy nukleinsavának kimutatása
- Gram-negatív intracelluláris diplococcusok kimutatása férfi húgycsőváladékból.

A *N. GONORRHOEA*E TENYÉSZTÉSE

A FESTETT KENETEK MIKROSKÓPPAL TÖRTÉNŐ VIZSGÁLATÁN FELÜL A *N. GONORRHOEA*E TENYÉSZTÉSÉT EL KELLENE VÉGEZNI MINDEN ESETBEN, HA

- gyerekekben, ahol nem-pathogén kommenzális *Neisseria* fajok izolálhatók nagy számban, különösen a szájüregből, garatból és akár a nemi szervekből is,
- ha lehetséges, a nőbetegek mintáiból történő megbízhatóbb diagnózisért a diagnosztikára használt festett kenetek alacsony diagnosztikus szenzitivitása és szuboptimális specifitása miatt,
- korai, tünetmentes és extragenitális gonorrhoeás páciensekben (garat, végbél, conjunctiva, stb.),
- konfirmált gonorrhoeás páciensek szexuális kontaktjaival, és akiknél a mikroszkópos vizsgálat nem erősítette meg a *N. gonorrhoeae* jelenlétét,
- a kezelés befejezése után a bizonyítottan gonorrhoeás páciensekben (nem korábban, mint 8-10 nap eltelté után), és mikor a nyilvántartásból kikerülnek,
- a gonorrhoea definitív diagnózisa érdekében,
- *N. gonorrhoeae* antibiotikum-érzékenysége meghatározása miatt,
- a *N. gonorrhoeae* fenotípus és/vagy genotípus jellemzéséhez,
- szexuális zaklatás előfordulásakor, vagy más, vizsgáló hatóságok és / vagy törvényszéki szakértők által kért esetekben.

A mintavételt követően a tenyésztési eredményeket 2-3 nap alatt általában közölni kell, a szintenyészet izolálása, a végleges fajsztípusú identifikálás, illetve az antibiotikum-érzékenység meghatározása további néhány napot igénybe vehet.

A MÓDSZER ELVE

A *N. gonorrhoeae* táptalajon történő izolálása a megfelelő morfológiai, biokémiai, és fajspecifikus jellemzők figyelembe vételével.

A *N. GONORRHOEA*E TENYÉSZTÉSSEL TÖRTÉNŐ IDENTIFIKÁLÁSÁNAK ELŐNYEI

- magas érzékenység,
- magas specifitás,
- alkalmas a legtöbb típus azonosítására,
- a NAAT módszereivel összehasonlítva költségkímélő
- antibiotikum érzékenységi vizsgálatok és fenotípus- és / vagy genotípusvizsgálás is lehetséges.

A *N. GONORRHOEA*E TENYÉSZTÉSSEL TÖRTÉNŐ IDENTIFIKÁLÁSÁNAK HÁTRÁNYAI:

- alacsonyabb érzékenység nem-optimalizált feltételek esetén,
- alacsonyabb specifitás nem-optimalizált feltételek esetén,
- idő-igényesebb, mint a mikroszkópos vizsgálatok, illetve a DNS / RNS – vizsgálaton alapuló módszerek, például a NAAT (nukleinsav amplifikáción alapuló technika),
- drágább a mikroszkópos vizsgálatoknál, habár a mikroszkópia nem helyettesítheti a *N. gonorrhoeae* fajsztípusú, végleges diagnosztizálását lehetővé tévő módszereket (lásd: lent)

MINTAVÉTEL

(lásd: Útmutatók a *Neisseria gonorrhoeae* laboratóriumi diagnosztizálásához a kelet-európai országokban" 1. rész).

A MINTÁK SZÁLLÍTÁSA

(Lásd: Útmutatók a *Neisseria gonorrhoeae* laboratóriumi diagnosztizálásához a kelet-európai országokban" 1. rész). Mivel a gonococcusok érzékenyek a kiszáradással, extrém hőmérséklettel, valamint az oxidatív hatásokkal szemben, a betegektől származó tamponos mintákat ideális esetben azonnal táptalajra kellene oltani. Ha ez nem lehetséges, megfelelő transzport-médi-umok használata ajánlott (lásd: Útmutatók a *Neisseria gonorrhoeae* laboratóriumi diagnosztizálásához a kelet-európai országokban" 1. rész). Az inokulált transzportcsöveket hűtőszekrényben kell tárolni. A mintákat a laboratóriumba kell szállítani, amilyen hamar csak lehetséges, és optimálisan 24 órán belül (maximum 48) fel kell dolgozni a laboratóriumnak. A szállítási hőmérséklet nem szabad, hogy 18 °C-nál alacsonyabb legyen.

TÁPTALAJOK

A gonococcusok igen igényes baktériumok, többek között például a táptalaj összetételére. Olyan tápanyagokkal dúsított táptalajokra van szükség, me-



GYNOFLOR
hüvelytabletta

GYNOFLOR

hüvelytabletta



MEDICO UNO

lyek egy bizonyos koncentrációban tartalmaznak esszenciális aminosavakat, mint például a ciszteint, purinokat, pirimidineket csakúgy, mint hasznosítható energiaforrásokat (például glükóz, piroszölősav vagy tejsav) ahhoz, hogy minden gonococcus törzset ki lehessen tenyészteni. A gonococcusok jobb kitenyészhetőségének érdekében olyan antibiotikumokat adunk a táptalajhoz, melyek elnyomják az egyéb baktériumok, illetve gombák növekedését. Ilyenek például a lincomycin és/vagy vancomycin, colistin, nystatin, anisomycin, vagy amphotericin B és a trimethoprim.

Tehát, a patogén *Neisseria sp.*-ek, például a *N. gonorrhoeae* és a *N. meningitidis* izolálására egy szelektív táptalaj, mint például módosított Thayer-Martin, (MTM), Martin-Lewis (ML), New York City (NYC), vagy GC-Lect médium (vagy erre a célra kifejlesztett egyéb szelektív táptalaj) használható. Ezek közül a táptalajok közül mindegyik tartalmaz gátlószereket, melyek a szaprofita mikroflóra növekedését gátolják (lásd fent). Természetesen szükség van olyan szelektív táptalajok használatára, melyek az adott országban a *N. gonorrhoeae* tenyésztésére hitelesítettek. Ideális esetben egy nem-szelektív táptalajt is kellene használni abban az esetben, ha a minta egy kevésbé kontaminált helyről származik, illetve a ritka, vancomycin és/vagy trimethoprim érzékeny *N. gonorrhoeae* speciesek izolálására, habár e törzsek előfordulása elhanyagolható a legtöbb országban. Különbőle kereskedelembe kapható, előkészített táptalajok léteznek, melyek a különböző *Neisseria sp.*-ek kitenyészhetőségében, illetve a kontaminánsok visszaszorításában különböznek.

TOXIKUS FAKTOROK

A gonococcusok tenyésztését különböző tényezők befolyásolhatják, mint például a beteg antimikrobiális kezelése csakúgy, mint a különböző hüvelykenőcsök, irrigátorok valamint a spermicid készítmények. A *pamut*, *kalcium-alginát* illetve a *dakron-szálas tamponok mind toxikusak a N. gonorrhoeae-ra*. A toxicitás annak köszönhető, hogy a baktérium érzékeny a pamutszálak között található telítetlen zsírsavakra, a klór-alapú fehérítő anyagokra, a fanyélben található gyantára, valamint a ragasztóanyagra, amit arra használnak, hogy a tampon fejét a nyélhez erősítsék. Következésképpen a minták közvetlen kioltása ideális, hiszen a baktérium rövidebb ideig van kitéve a toxikus anyagoknak. A megfelelő tamponok kiválasztása döntő fontosságú, aktív szénbevonatú mintavevők használata az ideális, ha a transzport-médium nem tartalmaz aktív szenet. Az olyan összetevők, mint például a keményítő, az aktív szén, valamint a vér alapú transzport táptalajok nagyban megnövelik a *N. gonorrhoeae* túlélésének esélyét a szállítás alatt.

A *N. GONORRHOAE* TENYÉSZTÉSÉHEZ ÉS IDENTIFIKÁLÁSÁHOZ SZÜKSÉGES ESZKÖZÖK, REAGENSEK

- szelektív, és ideális esetben nem-szelektív táptalajok
- 37 °C-os CO₂ termosztát vagy gyertyával (elsősorban fehér, vagy méhviaszból készült) ellátott inkubációs kamra, és egy hagyományos 37 °C-os termosztát,
- üveg tárgylemezek, a Gram-festéshez szükséges eszközök és reagensek,
- mikroszkóp,
- steril kacs
- oxidáz reagens (1%-os vízben oldott tetrametil-p-feniléndiamin dihidroklorid)
- A *N. gonorrhoeae* fajsztíntú identifikálásához szükséges útmutatók.

A TENYÉSZTÉS KIVITELEZÉSE

A *N. GONORRHOAE* AGAR-TÁPTALAJON (PETRI-CSÉSZÉBEN) TÖRTÉNŐ TENYÉSZTÉSE

A klinikai mintákat azonnal oltuk le 90 vagy 100 mm átmérőjű, 20-25 ml táptalajt tartalmazó lemezekre. Ha ekkora átmérőjű lemezek nem állnak rendelkezésre, használhatunk 60 mm átmérőjű lemezt is, melynek azonban legalább 4 - 4,5 mm vastagságban kell tartalmaznia az agart. Agartartalmú kémcsövek nem alkalmasak tenyésztésre. Az agar táptalajok előkészítése során a lecsapódott kondenzvíz eltávolítása érdekében a lemezeket az agar megszilárdulása után tegyük 36 ± 1 °C-os termosztátba megfordítva a fedelüket, vagy hagyjuk szobahőmérsékleten egy éjszakán át száradni. A lemezek kiszáritását kerüljük, hiszen ez a *N. gonorrhoeae* kitenyészhetőségének csökkenéséhez vezet. Az elkészült táptalajokat hűtőszekrényben 6 ± 2 °C-on tárolhatjuk legfeljebb 3 hétig tiszta, légmentesen zárt műanyag zacskókban. A gyártók utasításait minden esetben tartsuk be. A lejárt szavatosságú táptalajok használata kerülendő. A táptalajokat használat előtt ideális esetben 36 ± 1 °C-ra kell melegíteni.

Egy betegtől származó különböző klinikai mintákat különböző táptalajokra kell oltani. Abban az esetben, ha nagy, 90-100 mm átmérőjű lemez áll a rendelkezésünkre, a nőbetegek húgycső és cervixváladékát olthatjuk egy ugyanazon lemezre, ha a különböző szektorok egyértelműen el vannak választva. Férfiak húgycsőváladékát egy egész lemezre oltuk.

A tamponos mintát egyenesen vigyük fel a lemez felületének kb. ¼-re. Ezután steril kacs segítségével határozott mozdulatokkal szélesszűk szét a mintát a táptalaj egész felületén 3-4 irányban az izolált telepek kitenyésztesének érdekében. A lemezeket ezután helyezzük $5 \pm 2\%$ CO₂-ot tartalmazó, kb. 70% páratartalommal rendelkező, 36 ± 1 °C-os termosztátba. A gyertyával ellátott inkubációs kamrát, mely benedvesített papírvattát tartalmaz a megfelelő páratartalom



GYN07/003

GYNOFLOR

hüvelytabletta



MEDICO UNO

biztosításához, helyezzük $36 \pm 1^\circ\text{C}$ -os termosztátba. A növekedést 18-24, majd 48 óra elteltével ellenőrizzük.

- Ha 72 óra elteltével sincs jele növekedésnek, az inkubációt fejezzük be, a mintát negatívnak kell tekinteni.
- A *N. gonorrhoea*-gyanús telepeket preszumptíve identifikáljuk (lásd lent).
- Ha szükséges, species-szintű identifikálást is alkalmazzunk (lásd lent).

A KERESKEDELEMBEN KAPHATÓ KITEK (PÉLDÁUL BIOCULT)

ALKALMAZÁSA A *N. GONORRHOEA* TENYÉSZTÉSÉRE:

- hagyjuk az agart tartalmazó tárolóedényt szobahőmérsékletűre melegedni,
- óvatosan vegyük ki az agart az edényből úgy, hogy közben ne okozunk kárt az agar lemezben,
- vigyük fel a klinikai mintát az agarlemez felületére a mintavevő tampont megforgatva (minden mintához külön elhatárolt részt használjunk),
- steril kaccsal szélesszük a mintát,
- steril csipesz segítségével helyezzünk egy CO_2 -fejlesztő tablettát aseptikusan az edénybe,
- a nedves légkör az edény belsejében a tablettából CO_2 gázt fog felszabadítani, mely szükséges a *N. gonorrhoeae* növekedéséhez,
- a klinikai mintákat tartalmazó lemezeket helyezzük az edénybe anélkül, hogy a tablettához hozzányérnénk,
- az edényeket egyértelmű jelöléssel lássuk el,
- inkubáljuk $36 \pm 1^\circ\text{C}$ -on 48 óráig.

A *N. gonorrhoea*-gyanús telepeket preszumptíve identifikáljuk (lásd lent). Ha szükséges, species-szintű identifikálást is alkalmazzunk (lásd lent). Nagy méretű, 90-100 mm átmérőjű lemezeken történő tenyésztéssel összehasonlítva a Biocult lemezekben a *N. gonorrhoeae* növekedése szignifikánsan alacsonyabb.

A *N. GONORRHOEA* IDENTIFIKÁLÁSA

A *N. GONORRHOEA* PRESZUMPTÍV IDENTIFIKÁLÁSA A KÖVETKEZŐKÖN ALAPSZIK

- a jellegzetes *N. gonorrhoeae* telepek azonosítása,
- pozitív gyors oxidáz-teszt,
- a gyanús telepekből tipikus Gram-negatív diplococcusok azonosítása.

A JELLEGZETES *N. GONORRHOEA* TELEPEK AZONOSÍTÁSA

A 18-24 órás inkubálást követően a tipikus *N. gonorrhoeae* telepek szürke vagy fehér színűek, átlátszóak vagy opálosak, domborúak vagy laposak, és kb. 0,5-1,0 mm átmérőjűek. Ha tovább inkubáljuk, a telepek akár 3,0 mm átmérőjűek is lehetnek, kevésbé simává, laposabbá válnak. Gyakran különböző telepmorfológiájú *N. gonorrhoeae* törzsek, vagy különböző speciesek is izolálhatók egy ugyanazon lemezen. A kitenyésztett telepek azonosítá-

sa nagy nehézségekbe ütközhet, főként az orofaringeális régiókból származó mintákban, hiszen itt nem-pathogén neisseriák, valamint meningococcusok is előfordulhatnak, melyek telepmorfológiailag hasonlítanak a *N. gonorrhoeae* telepekhez. E speciesek mérete, színe, morfológiája valamint konzisztenciája különböző, ha eltérő táptalajokat alkalmazunk. A *N. gonorrhoeae* definitív diagnózisa csak akkor lehetséges, ha a telepeket további vizsgálatoknak vetjük alá, például biokémiai próbákat vagy egyéb species szintű identifikáláshoz szükséges tesztekhez hajtunk végre.

AZ OXIDÁZ TESZT

A rutin diagnosztikában az oxidáz pozitív Gram-negatív diplococcusok detektálása elegendő *N. gonorrhoeae* preszumptív identifikálásához.

A CITOKRÓM-C OXIDÁZ JELENLÉTÉNEK DETEKTÁLÁSÁRA AZ

ALÁBBIKABAN FELSOROLT, GYAKORI MÓDSZEREK ALKALMAZHATÓAK

- cseppentsünk egy csepp oxidáz reagenst (1%-os vízben oldott tetrametil-p-feniléndiamin dihidroklorid) egy gyanús telepre. Ha gyorsan, 5-10 másodpercen belül a telep színe sötét kékes-lilára változik, mely színváltozás 30 másodpercig is megmarad, a teszt pozitívnak tekintendő. Ha nincs színváltozás, a teszt negatív. Az oxidáz reagens elpusztítja a *N. gonorrhoeae* baktériumokat, így a telep további, élő baktériumokat igénylő vizsgálatokra nem alkalmas. Következésképpen szerencsésebb, ha a reagenst szűrőpapírra cseppentjük, és steril kaccsal egy *N. gonorrhoeae*-ra gyanús telepet viszünk a szűrőpapírra. A teszt igen érzékeny, viszont nem specifikus, hiszen számos más baktérium, köztük egyéb neisseriák is oxidázpozitívak, ezért minden oxidázpozitív telepet Gram-szerint meg kell festeni.
- kereskedelmi forgalomban is kapható törhető üvegampullákban (például BACTIDROP) oxidáz reagens, melyet a fent leírt módon alkalmazzunk.
- a kereskedelmi forgalomban oxidázreagenssel átitatott lemezek, illetve csíkok is kaphatók. Egy izolált telepet, steril desztillált vízben oldva vigyünk a lemez vagy a csík felületére. Pozitív reakció esetén sötét-lila vagy kék színváltozást kell tapasztalnunk 10-20 másodpercen belül. Ha nincs színváltozás, a teszt negatív.

Figyelem! Az ál-pozitív reakciók elkerülése érdekében az oxidázreakció kivitelezéséhez acél vagy nikkkel-króm kacsokat ne használjunk, mert előfordulhat a fémek oxidálódása a kacs felületén. Steril platina, műanyag vagy üveg kacsok használata javasolt. A 10-30 másodperces időintervallum kivárása nagyon fontos.

GYANÚS TELEPEKBŐL GRAM-FESTÉS KÉSZÍTÉSE

A gyanús telepekből egyet fiziológiás sóoldatban felfuszpendálunk, üveg tárgylemezre kenjük, levegőn szárítjuk, majd lánggal fixáljuk és Gram szerint festjük (lásd:

Útmutatók a *Neisseria gonorrhoeae* laboratóriumi diagnosztizálásához a kelet-európai országokban” 1. rész). A baktériumok morfológiáját, elrendeződését valamint színét vizsgáljuk. A következő 18-24 órás inkubálás során a gonococcusok Gram-negatívan festődő (piros) jellegzetes diplococcusok csoportokba rendeződve.

Idősebb tenyészetekből (48 óránál idősebb) készült festett kenet értékelése nehézségekbe ütközhet, mivel nagy számú megduzzadt vagy teljesen lizált sejtek fordulhatnak elő. A tenyészet előregedésével a polimorf diplococcusok száma növekszik.

Figyelem! Az elsődleges tenyészetekben a *Neisseria sp.*-ek mellett előfordulhatnak olyan staphylococcusok vagy streptococcusok, melyek nem a rájuk jellemző Gram-pozitív festődést mutatják, főleg akkor, ha túl sokáig differenciálunk alkohollal. Ilyenkor ezek a baktériumok könnyen összetéveszthetők a Gram-negatív diplococcusokkal. Fiatal tenyészetekben a gonococcusok gyakran négyesével rendeződnek, ami miatt könnyen összetéveszthetők a staphylococcusokkal. Az olyan keneteket, melyekben Gram-negatív diplococcusok láthatók, a laboratóriumnak 3 hónapig meg kell őrizni.

SPECIES-SZINTŰ IDENTIFIKÁLÁS

A *N. gonorrhoeae* definitív diagnózisára akkor van szükség, ha oxidáz pozitív, Gram-negatív diplococcusok tenyészen ki a klinikai mintákból, különösen, ha azok extragenitális infekciókból származnak. Fajsztíű identifikálás szükséges abban az esetben is, ha a baktériumot további vizsgálatoknak, fenotipizálás, szerológiai vizsgálatok, genotipizálás és/vagy antibiotikum-érzékenység vizsgálatoknak vetjük alá. Teljes bizonyossággal akkor állíthatjuk egy baktériumról, hogy *N. gonorrhoeae*, ha legalább két, egymástól különböző elven alapuló identifikálási eljárás is ugyanarra az eredményre vezet (magas specificitás és szenzitivitás).

ELJÁRÁSOK SPECIES-SZINTŰ IDENTIFIKÁLÁSRA

- biokémiai próbák (cukrok hasznosítása) és / vagy kromogén enzim-szubsztrát tesztek,
- immunológiai tesztek (direkt immunfluoreszcencia, ko-agglutináció),
- DNS/RNS alapú módszerek (például NAAT-nukleinsav amplifikáción alapuló technika).

BIOKÉMIAI PRÓBÁK (CUKROK HASZNOSÍTÁSA) ÉS / VAGY KROMOGÉN ENZIM-SZUBSZTRÁT TESZTEK

A vizsgálatokat, melyeket minden esetben tiszta baktériumtenyészetből kell végezni, alkalmasak a különböző *Neisseria sp.*-ek elkülönítésére, köztük a *N. gonorrhoeae* elkülönítésére. A reakció fals-pozitív eredményhez vezethet, ha a gonococcus tenyészetet valamilyen egyéb bak-

térium befertőzte, fals-negatív eredményt kaphatunk, ha a gonococcus tenyészetet tovább inkubáljuk, mint 24 óra (hiszen ez a sejtek autolíziséhez vezet), valamint ha valamilyen inhibítor kerül az elsődleges tenyészetbe. Ezek elkerülése érdekében fontos, hogy tiszta gonococcus kultúrával dolgozzunk, amely szintenyésze egy izolált telepnek az eredeti lemezről.

A *N. gonorrhoeae* biokémiai próbák növekedéstől függő és/vagy független tesztekben is elvégezhetők. A növekedéstől függő tesztekben a cukrok és egyéb reagensek (pH indikátor, pl. fenol-vörös) a táptalajban találhatók. A növekedéstől független tesztek jóval szélesebb körben használhatók, mivel jóval gyorsabbak (1-4 óra alatt), olcsóbbak és specifikusabbak. Ezekben a tesztekben a *N. gonorrhoeae* enzim-profilját vizsgálhatjuk tiszta inokulumokban. Számos „házilag készített” és kereskedelmi forgalomban kapható teszt létezik, melyek a *N. gonorrhoeae* enzimaktivitását és cukorfelhasználását vizsgálják. A tesztek különbözhetnek szenzitivitásukban és specificitásukban. A cukorpróbák általában színváltozást okoznak a médiumban, pl. ha fenolvöröst használunk pH indikátorként, a pozitív tesztben a savas metabolitok felhasználásának köszönhetően piros-sárga színváltozást tapasztalhatunk. A kromogén enzim-szubsztrát tesztekkel, melyek néhány specifikus enzim jelenlétét detektálják (o-nitrofenil- β -galaktozidáz (ONPG), γ -glutamil-aminopeptidáz (GLU-AMP), proliminopeptidáz (Pro-AP)), a *N. gonorrhoeae* gyors elkülönítését teszik lehetővé olyan egyéb *Neisseria* (*N. meningitidis*, *N. lactamica*, *N. cinerea*) vagy *Moraxella catarrhalis* speciesektől, melyek képesek kitenyészni a szelektív táptalajon. Az enzimek jelenlétének detektálásához szükséges szubsztrát-korongok illetve tabletták számos gyártó által kaphatók. Színtelenből sárgává történő színváltozás ONPG esetében, és általában világos-sárgából intenzív narancssárgává történő változás GLU-AMP és PIP esetében jelentik a pozitív reakciót. A gyors tesztek szenzitivitása és specificitása viszont az elvárható szint alatt marad. A különböző oxidáz pozitív *Neisseria*, *Moraxella catarrhalis* és *Kingella denitrificans* speciesek biokémiai jellemzőit az 1. táblázat mutatja.

SZEROLÓGIAI SPECIES SZINTŰ IDENTIFIKÁLÁSI MÓDSZER

A ma kereskedelembe kapható immunológiai tesztek monoklonális ellenanyagot használnak direkt immunfluoreszcencián alapuló tesztekben, és a ko-agglutinációban. Az immun-enzim-tesztek általában elég specifikusak és szenzitívek a *N. gonorrhoeae* fajsztíű identifikálására. Sőt, ezek a tesztek igen gyorsak, kis mennyiségű baktériumot igényelnek, valamint alkalmazhatók a klinikai minták elsődleges leoltásából származó tenyészetekben is. Következésképpen, tiszta *N. gonorrhoeae* tenyészetre nincs szükség, így a diagnó-



GYNOFLOR
hüvelytabletta



1. táblázat. A különböző *Neisseria* sp.-ek és egyéb oxidáz-pozitív specíesek, mint a *Moraxella catarrhalis* és a *Kingella denitrificans* biokémiai aktivitása és cukorfelhasználása. (Sugar utilization and enzyme production of different *Neisseria* species and other oxidase-positive species such as *Moraxella catarrhalis* and *Kingella denitrificans*)

SPECIES	BIOKÉMIAI AKTIVITÁS							
	Glükóz	Maltóz	Laktóz	Szaccharóz (Sucrose)	Fruktóz	ONPG*	GLU- AMP**	PIP***
<i>N. gonorrhoeae</i>	+	-	-	-	-	-	-	+
<i>N. meningitidis</i>	+	+	-	-	-	-	+	(+/-)
<i>N. lactamica</i>	+	+	+	-	-	+	-	+
<i>N. cinerea</i>	(+/-)	-	-	-	-	-	-	+
<i>N. polysaccharea</i>	+	+	-	-	-	-	-	+
<i>N. sicca</i>	+	+	-	+	+	-	-	-
<i>N. mucosa</i>	+	+	-	+	+	-	-	-
<i>N. subflava</i> ****	+	+	-	+/-	+/-	-	-	-
<i>N. flavescens</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>M. catarrhalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. denitrificans</i>	+	-	-	-	-	-	-	-

* ONPG, o-nitrofenil-béta-galactozidáz

** Glu-AMP, gamma-glutamil-aminopeptidáz

*** PIP, proliminopeptidáz

**** subflava, flava és perflava biovariánsok, melyek a szaccharóz és fruktózbontásban különböznek

+ színváltozás

- nincs színváltozás

+/- nem egységes a fajra nézve

zis 18-24 órával hamarabb felállítható, mintha biokémiai próbákat vagy enzim-szubsztrát teszteket használnánk. Viszont a szerológiai módszerek általában jóval drágábbak.

DIREKT IMMUNFLUORESCENCIA

Ez a teszt leggyakrabban fluoreszceinnel jelölt monoklonális antitesteket használ, melyek a PorB proteinnel, vagy régi nevén a protein I, illetve a gonococcus nagy külső membrán proteinjével reagálnak. A gyártó utasításainak pontos betartása nagyon fontos.

„MIKROTRAK” DIREKT IMMUNFLUORESCENCIA TESZT

- kacs segítségével vegyünk le 5 típusos telepet,
- a baktériumokat szuszpendáljuk fel egy csepp fiziológiás sóoldatban vagy desztillált vízben egy üveg tárgylemez felületén,
- levegőn szárítsuk, lánggal fixáljuk,
- 30 µl fluoreszceinnel (fluoreszcein izotiocianát) jelölt monoklonális antitestet alkalmazzunk,
- 15 percig 36 ± 1 °C-on inkubáljuk nedves kamrában,
- mossuk desztillált vízzel,
- levegőn szárítsuk,
- a gyártó által biztosított folyadékot (pufferolt glicerint) alkalmazzunk,
- fedjük le üveg fedőlemezzel,

- fluoreszcens mikroszkóppal vizsgáljuk 1000x-es nagyítással. Pozitív eredményt adhatunk ki, ha tipikus diplococcusokat látunk almazöld színű fluoreszcenciával.

A MikroTrak teszt érzékenysége és specificitása 99-100% között van, habár az eredmény nagyban függ a laboratórium személyzetétől, a használt tesztől, a különböző klinikai törzsektől valamint attól, hogy pontosan betartjuk-e a gyártó utasításait.

KO-AGGLUTINÁCIÓS TESZT

A *Staphylococcus aureus* (Cowan törzs) sejtfalában számos sejt felszíni protein található, melyek a 2, illetve 4 osztályba tartozó immunglobulin G Fc-egységéhez képesek kötődni, szabadon hagyva a Fab fragmentet antigének kötődéséhez. Ha hővel előlt staphylococcusokat, melyek anti-gonococcális ellenanyaggal vannak borítva, felforalt gonococcus szuszpenzióval elegyítünk, a folyamat flokkulációhoz (agglutinációhoz) vezet. A *N. gonorrhoeae* külső membrán fehérjéje, a PorB ellen termeltetett monoklonális ellenanyag olyan szenzitív és igen specifikus, kereskedelmi forgalomban is kapható tesztekben használatos, mint a Phadebact GC Monoclonal Test, GonoGen I, és GonoGen II. A GonoGen II esetében a staphylococcus sejtek helyett kolloid aranyat alkalmazzunk. A gyártó utasításainak pontos betartása nagyon fontos



GYNOFLOL
hüvelytabletta



PHADEBACT KO-AGGLUTINÁCIÓS TESZT

- körülbelül 10 *N. gonorrhoeae* telepet szuszpendáljunk fel 0,5 ml fiziológiás sóoldatban,
- 5-10 percig forraljuk a szuszpenziót,
- tárgylemezre cseppentsünk egy csepp forralt baktérium-szuszpenziót,
- egy csepp ko-agglutinációs reagenst adjunk hozzá,
- 1-2 percig finoman rázogassuk a lemezt,
- pozitív a reakció, ha agglutinációt tapasztalunk, negatív teszt esetén nincs agglutináció.

Figyelem! A ko-agglutinációs tesztekhez 18-24 órás baktérium tenyészetekre van szükség. 48 óráig inkubált tenyészetekből nehéz homogén szuszpenziót készíteni, például a lizált sejtekből felszabadult nukleoproteinek miatt. Fontos, hogy a gyártó utasításait pontosan betartsuk minden lépésben, úgymint például a kontrollok használata, valamint az eredmények interpretálása. Néhány *N. gonorrhoeae* törzs gyenge agglutinációt mutat, mely reakciót nehéz elkülöníteni a fals-pozitív reakciótól, amit a spontán agglutináció is okozhat.

A KO-AGGLUTINÁCIÓS TESZTEK SZENZITIVITÁSA ÉS SPECIFICITÁSA

A kereskedelembe is kapható tesztek specificitása és szenzitivitása akár 100% is lehet, habár az eredmény nagyban függ a laboratórium személyzetétől, a használt tesztől, a tenyészet korától valamint attól, hogy pontosan betartjuk-e a gyártó utasításait. Néhány olyan gonococcus törzset is leírtak, melyek nem, vagy csak gyengén adnak pozitív reakciót ezekben a tesztekben. Fals-pozitív reakciók is előfordulhatnak *N. meningitidis*, *N. lactamica*, és *N. cinerea* törzsekkel, de a baktérium szuszpenzió spontán agglutinációját is leírták már.

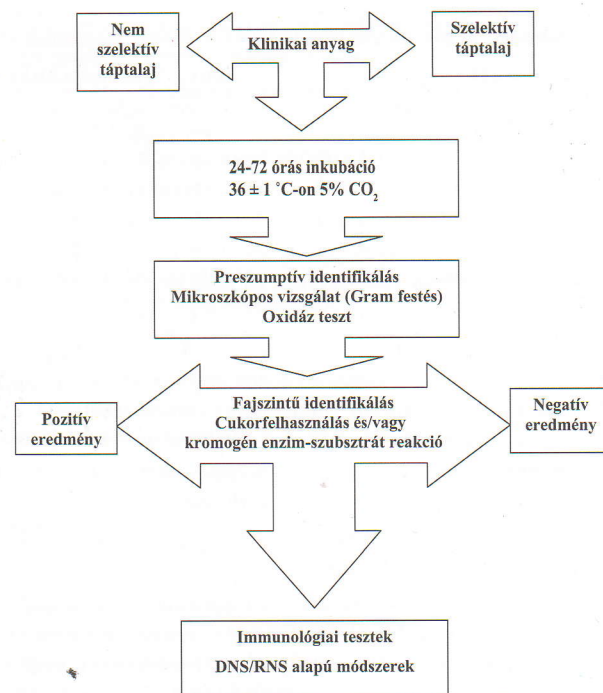
A *N. GONORRHOEAE* ISOLÁLÁSÁNAK ÉS IDENTIFIKÁLÁSÁNAK ALGORITMUSA

A következő algoritmust alkalmazhatjuk a *N. gonorrhoeae* preszumptív és fajsztintú identifikálására. (1. ábra)

A *N. GONORRHOEAE* TENYÉSZETEK MINŐSÉGÉNEK BIZTOSÍTÁSA

SZÁMOS FAKTOR BEFOLYÁSOLJA A MINŐSÉG BIZTOSÍTÁSÁT

- a klinikus és a laboratóriumi személyzet képesítése,
- a megfelelő minta kiválasztása, a minták száma,
- a minta levételének módja,
- a minták transzportja,
- a megfelelő táptalaj használata (lásd fent),
- a minta leoltása és inkubálása (lásd fent),
- a baktérium tenyésztéséhez és identifikálásához szükséges eszközök (lásd fent),
- a laboratórium által használt tesztek interpretálása,
- a tenyésztés minőségének biztosításához szükséges feltételek megléte (lásd lent),
- kontroll törzsek és egyéb minőségbiztosításhoz szükséges eszközök megléte (lásd lent),



1. ábra. A *N. gonorrhoeae* izolálásának és identifikálásának algoritmusai. (Algorithm of isolation and identification of *N. gonorrhoeae*)

A 2. táblázatban néhány felmerülő probléma és azok megoldásai láthatók.

A TÁPTALAJOK MINŐSÉGÉNEK BIZTOSÍTÁSA

Minden táptalaj-sarzsot használat előtt ellenőrizzünk le, hogy alkalmas-e a *N. gonorrhoeae* tenyésztésére. Ez a következőképpen történik: Egy vagy több tápigényes referencia-törzset, vagy ha ilyennel nem rendelkezünk, akkor egy klinikai mintából származó *N. gonorrhoeae* törzset oltunk le a táptalajra. Ezek mellett ellenőrizzünk le minden sarzsot, hogy valóban képesek-e gátolni egyéb baktériumok illetve gombák növekedését azzal, hogy ráoltjuk például a következő törzseket: *E. coli*, *S. epidermidis*, *N. sicca*, *C. albicans*. Ellenőrizzük le a sterilitást egy lemez 48 órán át $36 \pm 1^\circ\text{C}$ -on történő inkubálásával.

A GRAM-FESTÉS MINŐSÉGÉNEK BIZTOSÍTÁSA

Minden reagenst ellenőrizzünk le használat előtt egy Gram-negatív és egy Gram-pozitív kontrolltörzs megfestésével, valamint minden festésnél (vagy ha kevés minta érkezik a laboratóriumba, akkor egy héten legalább egyszer) ezeket a törzseket használjuk kontrollként.

AZ OXIDÁZ TESZT MINŐSÉGÉNEK BIZTOSÍTÁSA

Minden reagenst ellenőrizzünk le használat előtt egy oxidáz pozitív és egy oxidáz negatív kontroll törzssel. Pozitív kontrollként használhatunk *P. aeruginosa* vagy

2. táblázat. *N. gonorrhoeae* tenyésztésének problémái, megoldások. (*N. gonorrhoeae* culture: possible problems and recommended solutions)

A RENDSZER	LEHETSÉGES PROBLÉMÁK	AJÁNLOTT MEGOLDÁSOK
Mintavétel, transzport, leoltás táptalajra	- nem megfelelő minta - nem megfelelő mintavétel - nem megfelelő transzport táptalaj - nem megfelelő szállítás - nem megfelelő leoltás - későn történő leoltás	- a mintavételi előírások szigorú betartása - a szállításra vonatkozó előírások betartása - a leoltásra vonatkozó előírások betartása
Szelektív táptalaj	- a táptalaj összetétele nem megfelelő - a szelektivitást biztosító antibiotikumok koncentrációja nem megfelelő - az agar toxicitása - nem megfelelő a táptalaj mennyisége - az agar kiszáradása - lejárton túl használt táptalaj	- a táptalaj készítésére vonatkozó előírások betartása - <i>N. gonorrhoeae</i> növekedési kontroll használata - kontroll törzsek használatával a táptalaj növekedésre gyakorolt hatásának vizsgálata (pl. <i>E. coli</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>N. sicca</i> , <i>C. albicans</i>)
Inkubáció	- túl magas/alacsony CO ₂ koncentráció - túl magas/alacsony hőmérséklet - túl alacsony páratartalom - túl rövid inkubációs idő	- az inkubációs előírások szigorú betartása - a CO ₂ koncentráció ellenőrzése - a hőmérséklet ellenőrzése - a nedvességtartalom ellenőrzése
Az eredmények értékelése	- nem tipikus <i>N. gonorrhoeae</i> telepek - kísérő mikroflóra növekedése - az oxidáz teszt nem megfelelő értékelése - a mikroszkópos vizsgálatok nem megfelelő értékelése - az identifikálás nem megfelelő kiértékelése	- a táptalaj készítésére vonatkozó előírások szigorú betartása - a gonococcus identifikálására vonatkozó előírások betartása - az identifikáláshoz szükséges reagensek minőségének ellenőrzése

N. gonorrhoeae törzset. Negatív kontrollként *S. aureus* vagy *E. coli* törzset.

A BIKÉMIAI PRÓBÁK ÉS ENZIM-SZUBSZTRÁT REAKCIÓK MINŐSÉGÉNEK BIZTOSÍTÁSA

Minden házilag előállított illetve kereskedelmi forgalomban kapható reagenst ellenőrizzünk le megfelelő kontrolltörzsek, mint *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *N. sicca*, *N. lactamica* és *Moraxella catarrhalis* használatával, valamint minden esetben, amikor használjuk a teszteket, ezeket a törzseket használjuk kontrollként.

A SZEROLÓGIAI PRÓBÁK MINŐSÉGÉNEK BIZTOSÍTÁSA

Minden házilag előállított illetve kereskedelmi forgalomban kapható reagenst ellenőrizzünk le használat előtt. Pozitív kontrollként *N. gonorrhoeae* törzset, negatív kontrollként egy másik baktériumtörzset használunk, valamint minden esetben, amikor használjuk a teszteket, ezeket a törzseket használjuk kontrollként.

A SZEMÉLYZET BIZTONSÁGA

Ezeknek a feltételeknek minden laboratóriumban biztosítottak kell legyenek, ahol fertőző anyagokkal dolgoznak (például kesztyű, sterilfülke dezinficiáló szerek, UV-lámpa, stb.).

A TENYÉSZTÉS EREDMÉNYE

- *N. gonorrhoeae* tenyésztett
- *N. gonorrhoeae* nem tenyésztett.

A *N. GONORRHOEAE* DETEKTÁLÁSÁNAK NEM TENYÉSZTÉSEN ALAPULÓ MÓDSZEREI

A *N. gonorrhoeae* identifikálására számos DNS/RNS alapú módszer (nukleinsav amplifikáción alapuló (NAAT), polimeráz láncreakció (PCR), transzkripció-mediált amplifikáció (TMA), strand-displacement amplifikáció (SDA), hibridizációs módszer létezik. Számos, kereskedelmi forgalomban kapható teszt specifitása és szenzitivitása igen magas. A költségek csökkentése érdekében házilag home-made módszereket is alkalmazhatunk. A molekuláris módszerek interpretálását viszont nagy körültekintéssel és a klinikai diagnózis figyelembevételével végezzük, hiszen egy sikeres antibiotikum kezelt páciens mintájában még mindig jelen lehet *N. gonorrhoeae* DNS 2-3 hétig. Tünetekkel rendelkező páciensek esetében a tenyésztésen alapuló módszer ajánlott, hiszen csak így végezhető el a baktérium antibiotikum-érzékenységének vizsgálata, habár a DNS/RNS kimutatáson alapuló módszerek néha sokkal érzékenyebbek a tenyésztésnél. A módszer érzékenysége azonban nagyban függ az alkalmazott tenyésztési módszertől és a minta transzportjától. Ha a minta transzportja, valamint a laboratóriumi tenyésztéshez szükséges feltételek megfelelőek, a tenyésztéses módszer az ajánlott. Ha a minta szállítása túl sok időt venne igénybe, és a tenyésztéshez szükséges eszközök nem állnak rendelkezésre, a nukleinsav-kimutatáson alapuló módszerek javasoltak. A magas rizikó típusú populációk invazív mintáinak feldolgozásánál szin-



GYNOFLOL
hüvelytabletta



medico hung

tén a tenyésztésen alapuló módszer az elsődleges. Az alacsony rizikó típusú populációk non-invazív mintái esetében a NAAT módszerek a javasoltak, például vizelet minta férfiaknál, nőknél hüvelyváladék vagy vizelet. Az alacsony kockázatú csoportoknál viszont ha az alkalmazott módszer érzékenysége nem megfelelő, nagy számban fals-pozitív eredményt kapunk. Összefoglalva, nukleinsav kimutatáson alapuló módszerek használatosak a non-invazív minták esetében, bár a szenzitivitásuk és specifikitásuk változhat. A NAAT módszerek szenzitivitása általában magasabb a férfiak, mint a nők vizeleténél. Az alacsony rizikó típusú populációba tartozó nők esetében a szükséges minta a hüvelyváladék, melyet a beteg saját maga is levehet. Tünetmentes hordozók szűrésénél a NAAT használható, de az eredményeket tenyésztéssel meg kell erősíteni. A rectális és torokminták szűrésére még nincs megfelelő, engedélyezett nukleinsav-kimutatáson alapuló módszer. A DNS/RNS kimutatáson alapuló módszerek használhatók a gonococcus tenyészetek fajsztípusú azonosítására is. Ilyen esetekben a baktérium tenyészetből kacsával néhány telepet egy Eppendorf-csőben 100 µl fiziológiás sóoldatban felfuszpendálunk, melyből DNS extrahálható a további vizsgálatokhoz. Ezt megelőzően is szükséges azonban a telepek preszumptív azonosítása. Klinikai minták esetében a DNS kivonására és analizésére a gyártó utasításait kövessük.

A DNS / RNS KIMUTATÁSON ALAPULÓ MÓDSZEREK ELŐNYEI

A *N. GONORRHOEAE* KIMUTATÁSÁBAN

- magas szenzitivitás (a legtöbb esetben),
- magas specifikitás (a legtöbb esetben, bár léteznek kivételek),
- gyors, automatában kivitelezhető,
- non-invazív minták is használhatók (pl. vizelet, hüvelyváladék),
- a beteg által levett minták használata (pl. vizelet, hüvelyváladék),
- nem szükséges élő baktérium-tenyészet,
- néhány esetben gyűjtött minták is használhatók,
- néhány baktérium egyidejűleg detektálható (pl. *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*).

A DNS / RNS KIMUTATÁSON ALAPULÓ MÓDSZEREK HÁTRÁNYAI

A *N. GONORRHOEAE* KIMUTATÁSÁBAN

- néhány rendszer nem elég specifikus (fals-pozitív eredményt kaphatunk nem-patogén *Neisseria sp.*-ek jelenlétének köszönhetően),
- néhány rendszer nem elég specifikus (inhibitorok jelenléte, illetve néhány gonococcus törzs nem rendelkezik a célgénnel, pl. *cppB* gén),
- drága felszerelést és reagenseket igényel,
- kereszt-kontamináció lehetősége,
- néhány klinikai mintára nincs megfelelő protokoll (pl. rectális vagy torokváladék),
- antibiotikum-érzékenység meghatározásra és a *N. gonorrhoeae* egyéb fenotipizálására nincs lehetőség,
- sikeres antibiotikum-terápia után elpusztult baktériumokat is kimutat 1-2 héttel a kezelés után.

Figyelem! A DNS/RNS kimutatáson alapuló módszerek önmagukban nem alkalmasak diagnosztizálásra!

Néhány, kereskedelmi forgalomban is kapható módszer rövid jellemzését a 3. táblázat mutatja.

Ezek a módszerek a *N. gonorrhoeae* urogenitális mintákból történő kimutatására alkalmasak. Főleg a nukleinsav kimutatáson alapuló módszerek igen szenzitívek és specifikusak. Tulajdonságaik teszik alkalmassá ezeket a módszereket a klinikai minták, köztük a non-invazív módszerrel vett minták vizsgálatára. Néhány esetben azonban a minta tartalmazhat inhibitorokat, illetve néhány *N. gonorrhoeae* törzs genomjából hiányzik az a specifikus DNS szakasz, mely a molekuláris módszer targetje. Ezek csökkenthetik a módszer érzékenységét. Ráadásul a DNS / RNS kimutatáson alapuló módszerek specifikitását csökkentheti a mintában jelenlévő egyéb *Neisseria sp.*-ek, pl. *N. cinerea*, *N. lactamica*, *N. subflava* DNS molekulái, melyek fals-pozitív eredményhez vezetnek. Mindazonáltal, egy új, a *N. gonorrhoeae* *porA* pseudogénjét megcélzó PCR vizsgálatnak igen nagy a specifikitása, ezért ígéretesnek tűnik. A *porA* gén hiányzik a kommenzális *Neisseria sp.*-ből, a *N. meningitidis* *porA* génje pedig eléggé különbözik a *N. gonorrhoeae* génjétől ahhoz, hogy ezzel a vizsgálattal különbséget tudjunk tenni e két fontos humánpatogén faj között. Bármely home-made módszer körülbelül

3. táblázat. Kereskedelmi forgalomban is kapható nem tenyésztésen alapuló diagnosztikai módszerek. (Commercially available non-culture diagnostic methods based on detection of *N. gonorrhoeae* nucleic acids)

CÉLGÉN	MÓDSZER
16S rRNS gén	Hibridizációs módszer
Kromoszóma és kriptikus plazmid-szekvenciák	Hibridizációs módszer
Citozin DNS metiltranszferáz gén	PCR
16S rRNS gén	NASBA
16S rRNS gén	TMA
pivNG gén	SDA



GYNOFLOL

hüvelytabletta



ugyanolyan specificitással és szenzitivitással rendelkezik, mint a kereskedelmi forgalomban kapható kitek. Minden extragenitális mintából, valamint törvényszéki orvostani mintából (pl. gyermek-, vagy szexuális erőszak) tenyésztést, fajszerűtűt azonosítást kell végezni, és ha szükséges, akkor antibiotikum-érzékenység meghatározást.

MÓDSZEREK

DNS TISZTÍTÁS ÉS A MÓDSZER KIVITELEZÉSE

Minden lépésben szigorúan tartsuk be a gyártó által megadott utasításokat mind a kereskedelmi forgalomban kapható, mind a home-made kitek esetében. Léteznek olyan irányelvek is, melyek a szükséges laboratóriumi eszközökre, és azok tisztítására vonatkozó utasításokat tartalmazzák. Például, a munka végeztével a felületet alaposan tisztítsunk meg DNS/RNS molekulát degradáló szerrel, hogy elkerüljük a nukleinsavakkal történő kontaminációt.

AZ EREDMÉNYEK INTERPRETÁLÁSA

Kétségtelen, hogy a nukleinsav amplifikáción alapuló tesztek alkalmazása nagy előnyökkel jár bizonyos fertőző betegségek diagnosztizálásában. Meg kell említenünk azonban, hogy a *N. gonorrhoeae* diagnosztiz-

álása esetén óvatosan járjunk el az eredmények interpretálásakor. Ez főleg igaz akkor, amikor az alacsony prevalenciájú populációk szűrését végezzük. Ha a betegség előfordulásának aránya 50%, a molekuláris módszerek biztonsággal használhatók, hiszen 95%-os a specificitásuk és a szenzitivitásuk. Ha azonban a betegség gyakorisága csak 5%, a teszt pozitív prediktív értéke (azon betegek százalékos aránya, akik pozitív teszt-eredménnyel rendelkeznek, és akik valóban fertőzöttek) csak 50%, a negatív prediktív értéke (azon betegek százalékos aránya, akik negatív teszt-eredménnyel rendelkeznek, de valóban fertőzöttek) pedig 99,7% (4. táblázat).

Egy további példán bemutatva, ha a gonorrhoea előfordulásának aránya 2%, a teszt szenzitivitása 90%, specificitása 98%, pozitív prediktív értéke azonban csak 47,9% (5. táblázat).

Figyelembe kell tehát vegyük, hogy még ha a teszt szenzitivitása és specificitása is 99%, a pozitív prediktív értéke akkor is csak 66,9%.

Az eredmények interpretálásánál tehát figyelembe kell vennünk ezeket az adatokat, főleg akkor, ha a beteg egy alacsony prevalenciájú, alacsony rizikó típusú populációból származik, mivel a fals-pozitív eredmények magas száma miatti partner-kutatás nem szükséges.

4. táblázat. Pozitív és negatív prediktív értékek 95%-os specificitásnál, különböző prevalencia értékeknél. (Positive and negative predictive values of a diagnostic test at varying disease prevalence when sensitivity and specificity are 95%)

A BETEGSÉG PREVALENCIÁJA %	POZITÍV PREDIKTÍV ÉRTÉK %	NEGATÍV PREDIKTÍV ÉRTÉK %
1	16,1	99,9
2	27,9	99,9
5	50,0	99,7
10	67,9	99,4
20	82,6	98,7
50	95,0	95,0
75	98,3	83,7
100	100,0	-

5. táblázat. Prediktív értékek pozitív tesztek esetén, ha betegség előfordulásának gyakorisága 2%. (Predictive value of a positive diagnostic test over a range of sensitivities and specificities when the actual prevalence of disease is 2%)

SPECIFICITÁS %	SZENZITIVITÁS %							
	50%	60%	70%	80%	90%	95%	98%	99%
50	2,0	2,4	2,8	3,2	3,5	3,7	3,8	3,9
60	2,5	3,0	3,4	3,9	4,4	4,6	4,8	4,8
70	3,3	3,9	4,5	5,2	5,8	6,1	6,2	6,3
80	4,8	5,8	6,7	7,6	8,4	8,8	9,1	9,2
90	9,2	10,9	12,5	14,0	15,5	16,2	16,7	16,8
95	17,0	19,7	22,2	24,6	26,9	27,9	28,6	28,8
98	33,8	38,0	41,7	44,9	47,9	49,2	50,0	50,2
99	50,5	55,0	58,8	62,0	64,7	66,0	66,7	66,9



GYNOFLOL
hüvelytabletta



MEDICO UNO

MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

Minden DNS kimutatáson alapuló módszernél szükség van egy internális pozitív kontrollra, amely a mintában található inhibitorok jelenlétére, valamint a minta preparálásának minőségére utal, és negatív kontrollra, ami leggyakrabban desztillált víz.

Bizonyítvánnyal ellátott és regisztrált referencia-panellek használata volna ideális, melyek tartalmazzák a kontrollmintákat, a laboratóriumon belüli, és laboratóriumok közti minőség-ellenőrzés céljából minden DNS/RNS kimutatáson alapuló módszernél (Externális kontroll). A rendszer ellenőrzésére a panelek használata standardizált. Ezek a szenzitivitás, specificitás és a reprodukálhatóság indikátorai függetlenül a használt rendszertől.

A használt módszer átfogó validálása és értékelése, a gyártó utasításainak szigorú betartása, valamint a minőség biztosítása, pl. internális és externális kontrollok használata, döntő fontosságú a *N. gonorrhoeae* nukleinsav-kimutatáson alapuló diagnosztikájában.

A SZEMÉLYZET BIZTONSÁGA

MINDEN KLINIKAI MINTÁT POTENCIÁLISAN FERTŐZŐ ANYAGKÉNT KELL KEZELNI, ÍGY

- ne pipetázzunk szájjal
- a laboratóriumban tilos a dohányzás, evés, ivás
- eldobható gumikesztyűt és védőruhát használjunk
- a munka befejeztével alaposan mossunk kezet
- minden használt eszközt és reagenst fertőtlenítsünk autoklávbán, vagy 1%-os klórtartalmú oldattal.

Figyelem! Az etídium-bromid igen erős mutagén hatású, ezért amíg ezzel az anyaggal dolgozunk az agarózgéllek festése közben és magával a géllal történő munkavégzés során is, végig viseljünk kesztyűt.

A VIZSGÁLAT EREDMÉNYE

- *N. gonorrhoeae* specifikus DNS szakasz detektálható
- *N. gonorrhoeae* specifikus DNS szakasz nem detektálható

SZEROLÓGIA

Az elmúlt pár évtized során számos, a *N. gonorrhoeae* ellen termelődött ellenanyag szérumból történő kimutatásán alapuló módszert fejlesztettek ki, pl.: komplex-kötés, latex-agglutináció, immunfluoreszcencia és immunblot. A módszerek egyike sem képes azonban különbséget tenni a friss fertőzés, és egy korábban lezajlott fertőzés között. Ráadásul, az esetek túlnyomó többségében e módszerek szenzitivitása túl alacsonynak bizonyult a nem komplikált gonorrhoea diagnosztizálásában.

A *N. GONORRHOEAE* ANTIBIOTIKUM-ÉRZÉKENYSÉGÉNEK MEGHATÁROZÁSA

ÁTTEKINTÉS

Az elmúlt néhány évtizedben a *N. gonorrhoeae* mérsékelten érzékeny és rezisztens törzseinek száma a leggyakrabban

használt antibiotikumokkal szemben világszerte emelkedik. A rezisztencia hátterében mind kromoszómális, mind plazmid-mediálta (penicillinek, tetracyclinek) mechanizmusok állnak. A baktérium rezisztenciája földrajzi eloszlás szerint változik, így a terápiát a megfelelő helyi, nemzeti és nemzetközi surveillance vizsgálatok alapján kell beállítani. Így tehát nagyon fontos, hogy a gonococcus izolátumok antibiotikum-érzékenységét meghatározzuk. Ezek a vizsgálatok minden olyan laboratóriumban kivitelezhetők, ahol a *N. gonorrhoeae* tenyésztéséhez adottak a feltételek, habár ezek egy kisebb laboratórium rutin működéséhez nem feltétlenül szükségesek.

AZ ANTIBIOTIKUM-ÉRZÉKENYSÉG MEGHATÁROZÁSA SZÜKSÉGES

- epidemiológiai vizsgálatokhoz, melyeket pl.: referencia-laboratóriumok végeznek helyi, regionális, vagy országos rezisztencia viszonyok felmérése céljából,
- ha a javasolt antibiotikum-kezelés ellenére a beteg nem gyógyul,
- az ajánlott kezelés klinikai hatékonyságának vizsgálata céljából,
- új anti-gonococcális szerek hatékonyságának vizsgálata céljából.

PLAZMID-MEDIÁLTA ANTIBIOTIKUM-REZISZTENCIA A

N. GONORRHOEAE ESETÉBEN

Az elmúlt évtizedekben megnőtt azon gonococcus izolátumok száma, melyek β -laktamáz termelnek (TEM-1, penicillináz), mely enzim inaktiválja a benzil-penicillint (penicillin G), az ampicillint, az amoxycillint, stb. Ennek következtében számos penicillin-terápia sikertelen marad. Ráadásul számos, ha nem az összes gonococcus izolátum mára rezisztenssé vált a tetracyclinekkel szemben. Az antibiotikumokkal szembeni magas rezisztencia speciális plazmidoknak köszönhető tet (M) gént hordozó konjugatív plazmid.

Epidemiológiai analízis céljából vizsgálhatjuk a *N. gonorrhoeae* törzseket, hogy rendelkeznek-e plazmid-mediálta penicillin vagy tetracyclin rezisztencia mechanizmusokkal.

A GONOCOCCUSOK β -LAKTAMÁZ AKTIVITÁSA

Az aktivitás kromogén cephalosporin-tesztel detektálható, mely módszer igen megbízható és alkalmas erre a célra. Cephalosporin nitrocefinnel átitatott korongokat kell használni ebben a tesztben. A vizsgálat azon alapul, hogy a β -laktamáz hidrolizálja a nitrocefin β -laktám gyűrűjét, amely szabad szemmel látható színváltozást eredményez, a korong sárgából rózsaszínűvé vagy pirossá változik.

A TESZT KIVITELEZÉSE

- egy tiszta, száraz, üres Petri-csészébe, vagy egy üveg tárgylemezre helyezzük a nitrocefin korongot, ned-



GYNOFLOL
hüvelytabletta



vesítsük meg desztillált vízzel. Alternatív választásként használhatunk egy 0,3 ml steril desztillált vizet tartalmazó Eppendorf-csővet is.

- egy kaccsal vegyünk le 5-10 gonococcus telepet, és helyezzük a korongra, vagy szuszpendáljuk fel az Eppendorf-csőben.
- 5 másodperc - 15 percen belül tapasztalható a színváltozás. Ha az Eppendorf-csőbe helyeztük a korongot, 36 ± 1 °C-on, vagy szobahőmérsékleten történő 10-30 perces inkubációt követően megy végbe a reakció.
- Pozitív a teszt, ha a színváltozás 5 másodperc - 15 percen belül végbemegy, de általában 1 percen belül. Amennyiben 15 percen belül sem észlelünk színváltozást, a teszt negatív. Ha az Eppendorf-csőbe helyeztük a korongot, 10-30 perces inkubációt követően adható ki az eredmény.

A vizsgálatokhoz minden esetben használjunk pozitív, illetve negatív kontrollt, referencia-törzsek használatával (β -laktamáz termelő *N. gonorrhoeae* vagy *Haemophilus influenzae* használható, mint pozitív kontroll, β -laktamáz nem termelő *N. gonorrhoeae*, vagy *Enterococcus faecalis* használható, mint negatív kontroll).

Lehetőség van egyéb, technikailag bonyolultabb tesztek kivitelezésére is (acidometria, jodometria).

Figyelem! A β -laktamáz teszt kivitelezéséhez 24 óránál nem régebbi *N. gonorrhoeae* tenyészetet kell használni. Ha kereskedelmi forgalomban kapható korongot használunk, a gyártó utasításait pontosan tartsuk be. A pozitív nitrocefin teszt azt jelenti, hogy a törzs nagy valószínűséggel rezisztens penicillinre, ampicillinre, amoxycillinre, stb.

PLAZMID-MEDIÁLT TETRACYCLIN-REZISZTENCIA

A mechanizmus 30 μ g tetracyclint tartalmazó koronggal, korongdiffúziós módszerrel detektálható (lásd lent). Ha a korong körüli gátlási zóna kisebb, mint 19 mm, a vizsgált törzs rezisztens tetracyclinre.

ANTIBIOTIKUM-REZISZTENCIA MECHANIZMUSOK VIZSGÁLATA

A *N. gonorrhoeae* különböző antibiotikumokkal szembeni érzékenysége számos módszerrel meghatározható, pl. korong-diffúziós módszerrel, agar-dilúcióval, vagy E-tesztel. Számos táptalaj használható, köztük a *N. gonorrhoeae* izolálására alkalmazott non-szelektív táptalaj.

A KORONG-DIFFÚZIÓS MÓDSZER A GONOCOCCUS

REZISZTENCIÁJÁNAK QUALITATÍV MÓDSZERE

A kvantitatív tesztekkel, mint pl. az agar-dilúció, vagy az E-teszt, egy antibiotikum minimális gátló koncentrációját (MIC értékét) tudjuk meghatározni, azt a legkisebb antibiotikum-koncentrációt, amely még képes

gátolni a baktériumok növekedését. A módszerek egyikevel kellene ideális esetben vizsgálni a *N. gonorrhoeae* antibiotikum-érzékenységét, habár ezek a módszerek jóval drágábbak.

A *N. GONORRHOAE* REZISZTENCIÁJÁNAK MEGHATÁROZÁSÁHOZ

SZÜKSÉGES ANTIBIOTIKUMOK

- a penicillin csoport: benzilpenicillin, ampicillin,
- a cephalosporin csoport: ceftriaxon, cefotaxim, cefixim,
- a tetracyclin csoport: tetracyclin, doxycyclin,
- a makrolid csoport: erythromycin, azithromycin,
- a fluorokinolonok: ciprofloxacin, ofloxacin,
- az aminoglikozidok: kanamycin, gentamycin,
- az aminocyclitol csoport: spectinomycin,

A *N. gonorrhoeae* antibiotikum-érzékenységének vizsgálatokor azon antibiotikumokat kell tesztelni, melyeket a gonorrhoea terápiájában is használnak, tehát ceftriaxon / cefixim, ciprofloxacin / ofloxacin és a spectinomycin. Ezekon kívül még epidemiológiai célból, vagy a referencia laboratóriumok által vizsgálható a benzilpenicillin / ampicillin, cefotaxim, tetracyclin/doxycyclin, erythromycin / azithromycin, és kanamycin / gentamycin. A különböző földrajzi területeken a vizsgált antibiotikumok spektruma változhat az arra a régióra jellemző alkalmazott terápiának megfelelően. A vizsgálatok eredményéről a klinikussal konzultálni kell.

KORONG-DIFFÚZIÓS MÓDSZER

ÁTTEKINTÉS

A módszert mindent laboratóriumban, ahol a *N. gonorrhoeae* tenyésztéséhez szükséges feltételek adóttak, kivitelezhető. Ez a módszer az antibiotikumok azon képességén alapul, hogy képesek a papírkorongból a táptalajba diffundálni, megakadályozva ezzel a táptalaj felületére oltott mikróbak növekedését. Csak megfelelően standardizált és minőségi bizonyítvánnyal ellátott táptalajok, korongok használhatók. A módszer kivitelezésének és az eredmények interpretálásának, a szabványoknak megfelelően kell történnie.

A teszt kivitelezéséhez a kereskedelmi forgalomban kapható korongok használata javasolt, melyek mérete és antibiotikum-tartalma standardizált. A nem használt antibiotikum-korongokat 4 ± 2 °C-on kell tárolni a lejárat napjáig, kivéve a β -laktám antibiotikumokat tartalmazó korongokat, melyeket -20 °C-on kell tárolni. A korongokat használat előtt szobahőmérsékletűre kell melegíteni.

A TESZT KIVITELEZÉSE

0,5 McFarland sűrűségű *N. gonorrhoeae* szuszpenziót, mely körülbelül $1,0 \times 10^8$ CFU/ml baktériumot tartalmaz, lehetőség szerint egy 90-100 mm átmérőjű lemezre, mely 20-25 ml táptalajt tartalmaz, kiszélesztjük úgy,



GYNOFLOL
hüvelytabletta



hogy másnapra egy egyenletes baktérium-szönyeget kapjunk. A baktérium-szuszpenziót felhasználás előtt maximum 15 perccel készítsük el.

A GONOCOCCUS SZUSZPENZIÓT A KÖVETKEZŐ KÉT MÓDSZER EGYIKÉVEL VIGYÜK FEL A TÁPTALAJ FELÜLETÉRE

- egy antibiotikumot nem tartalmazó táptalaj felületére oltunk le a szuszpenziót (negatív kontroll),
- a szuszpenziót vattatamponnal készítsük el. Ehhez fapálcikára rögzített pamut tampon a legalkalmasabb. A szintetikus anyagokból készült tamponok nem szívnak fel elég mennyiségű szuszpenziót egy táptalaj teljes felületének baktériummal történő beborításához. A tampont merítsük bele a baktérium-szuszpenzióba, majd a felesleget távolítsuk el úgy, hogy a tampont a kémcső falához nyomkodjuk. A tamponnal 3 különböző irányban (60°-os szögben), erőteljes mozdulatokkal szélesszük a baktériumokat a táptalaj felületére. Ezt ismételjük 3-4 alkalommal.
- Pipetta segítségével is leolthatjuk a szuszpenziót a táptalaj felületére. Egy 90-100 mm-es lemezhez az elegendő mennyiséget, körülbelül 3-4 ml-t, mely a táptalaj egész felületét beborítja, enyhe rázogatóssal oszlassuk el a táptalaj felületén. A felesleget egy steril pipettával szívjuk le. A lemezeket 5-10 percig hagyjuk száradni. 5-10 perc elteltével az antibiotikum-korongok ráhelyezhetők a lemezek felületére egy steril csipesszel, vagy automata diszpenzerrel. A korongok, és a lemez széle közti távolság legalább 15-20 mm legyen. Tehát egy 90-100 mm-es lemezre 6-nál több korongot ne tegyünk. Ne rakjunk korongot a lemez közepére sem. Ha egy korongot a lemezre helyeztünk, utána már ne mozdítsuk el. Miután a korongokat a táptalaj felületére helyeztük, a lemezeket azonnal tegyük 5±2% CO₂-t tartalmazó, 70% nedvességtartalmú termosztátba, és inkubáljuk 36 ± 1 °C-on 20-24 óráig (gyertyával ellátott inkubációs kamra és hagyományos inkubátor is használható). A korongok felhelyezése és az inkubáció megkezdése közötti idő növekedésével fals eredményeket kaphatunk. Az eredményeket a gátlási zónák átmérőjének leolvasásával kaphatjuk meg. A gátlási zónán belüli, kis méretű telepek jelenlétét figyelmen kívül hagyhatjuk.

Figyelem! Az antibiotikum-érzékenységi vizsgálatokhoz 18-24 órás *N. gonorrhoeae* tenyésztetre van szükség.

AGAR-DILÚCIÓS MÓDSZER

ÁTTEKINTÉS

A módszer elve, hogy a vizsgálni kívánt antibiotikum-okból hígítási sorozatot készítünk, melybe beoltjuk a *N. gonorrhoeae* izolátumot. Amely koncentrációjú antibiotikum már gátolni képes a baktérium növekedését, ott határozható meg a baktérium érzékenysége.

A *N. gonorrhoeae* esetében ez a módszer a legalkalmasabb a baktérium érzékenysége meghatározására, mely módszer lehetővé teszi a minimális gátló koncentráció (MIC) meghatározását. Főként a referencia-laboratóriumok részesítik előnyben ezt a módszert, mellyel információt nyerhetünk a *N. gonorrhoeae* antibiotikum-érzékenysége kapcsolatban, és betekintést nyerhetünk a helyi, országos, és nemzetközi rezisztencia-viszonyokba. A rutin használatra az E-teszt, illetve a korong-diffúziós módszer alkalmasabb, hiszen kevésbé munkaigényes.

Az előre elkészített antibiotikum oldatokat ne tároljuk egy hétnél hosszabb ideig, mert elveszíthetik antimikrobiális aktivitásukat.

A TESZT KIVITELEZÉSE

0,5 McFarland sűrűségű *N. gonorrhoeae* szuszpenziót, mely körülbelül 1,0 x 10⁸ CFU/ml baktériumot tartalmaz, oltunk le a különböző antibiotikum-koncentrációjú lemezekre 15 percen belül. Egy lemezre több gonococcus törzset is leolthatunk egy speciális replikátor segítségével.

A LEOLTÁS A KÖVETKEZŐKÉPPEN KIVITELEZHETŐ

- oltunk le egy olyan lemezre is, amely nem tartalmaz antibiotikumot (negatív kontroll),
- a vizsgálni kívánt törzset oltunk le az antibiotikumot növekvő koncentrációban tartalmazó lemezekre,
- végül oltunk le még egy, antibiotikumot nem tartalmazó lemezt (második negatív kontroll), hogy kizárhassuk a folyamat közben bekövetkezett kontaminációt.
- minden esetben oltunk le egy *N. gonorrhoeae* referencia törzset is, melynek ismert az antibiotikum-érzékenysége.
- a lemezeket azonnal tegyük 5±2% CO₂-t tartalmazó, 70% nedvességtartalmú termosztátba, és inkubáljuk 36 ± 1 °C-on 20-24 óráig (gyertyával ellátott inkubációs kamra és hagyományos inkubátor is használható).
- 24 óra elteltével a növekedés általában már detektálható, de ha szükséges, az inkubációs idő még 24 órával meghosszabbítható.

Az eredmények 24-48 óra múlva kiadhatóak. Az a legkisebb koncentráció, mely a baktérium növekedését még gátolni képes, az adott antibiotikum MIC értéke.

E-TESZT MÓDSZER

ÁTTEKINTÉS

A módszer alapja, hogy egy erre a célra gyártott papír alapú csík a vizsgálni kívánt antibiotikumot koncentráció-grádiensben tartalmazza, ezt a csíkot a táptalaj felületére helyezve az antibiotikum azonnal a tápközegbe diffundál, megakadályozva ezzel a tápta-



lajra oltott mikróbak növekedését. Ahol a csepp alakú gátlási zóna metszi a csíkot, ott olvasható le az adott antimikrobás szer MIC értéke.

A TESZT KIVITELEZÉSE

0,5 McFarland sűrűségű *N. gonorrhoeae* szuszpenziót, mely körülbelül $1,0 \times 10^8$ CFU/ml baktériumot tartalmaz, oltunk le egy 90-100 mm átmérőjű (25 ml táptalaj) felületére úgy, hogy másnapra egy egyenletes baktérium-szönyeget kapjunk. A baktérium-szuszenziót felhasználás előtt maximum 15 perccel készítjük el.

A BAKTÉRIUM-SZUSZPENZIÓ LEOLTÁSA A KORONG-DIFFÚZIÓS MÓDSZERNÉL LEÍRTAKKAL MEGEGYEZIK.

- Steril csipesz segítségével helyezzük az E-teszt csíkot a táptalaj felületére úgy, hogy a csík antibiotikumot kis koncentrációban tartalmazó vége érje először a táptalajt. Ha a csíkot ráhelyeztük a táptalajra, már ne mozdítsuk el. Egy lemezre egy csíkot helyezzünk. Ha 140-150 mm-es lemezt használunk, 4 csíkot is helyezhetünk egy lemezre sugaras elrendezésben.
- a lemezeket azonnal tegyük $5 \pm 2\%$ CO_2 -t tartalmazó, 70% nedvességtartalmú termosztátba, és inkubáljuk $36 \pm 1^\circ\text{C}$ -on 16-18 óráig (gyertyával ellátott inkubációs kamra és hagyományos inkubátor is használható).

NAGYON FONTOS

Az antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok eredménye nagyban függ attól, hogy milyen módszert használunk, az inokulum méretétől, a tápközeg térfogatától és összetételétől, az antibiotikum-korongok, E-teszt csíkok minőségétől, az inkubációs körülményektől, valamint a gátlás mértékének meghatározásától. Következésképpen, a vizsgálatok standardizálása, minőségének biztosítása döntő fontosságú. Minden módszer esetében meg kell határozni, hogy milyen értéknél rezisztens, mérsékelten érzékeny, vagy érzékeny a baktérium. Minden esetben használjunk ismert érzékenységű *N. gonorrhoeae* referencia-törzset.

A *N. GONORRHOEA*E TÖRZSEK FENNTARTÁSA

EGY ÉLŐ *N. GONORRHOEA*E TÖRZSET MINDENNAPOS CSOKOLÁDÉ AGARRA TÖRTENŐ OLTÁSSAL TUDUNK FENNTARTANI.

- Rövid ideig (3 hónapig), a baktérium életképes marad -20°C -on tárolva 0,5 ml triptikáz-szójabab tartalmú táptalajba oltva, mely 20% glicerolt tartalmaz. Ebben a közegben a *N. gonorrhoeae* hosszabb ideig nem tárolható.
- Hosszabb idejű tárolásra (több hónap vagy év) -70°C , vagy -80°C -on, megfelelő közegben, liofilizálva, vagy folyékony nitrogénben van lehetőség.

MINŐSÉGBIZTOSÍTÁS

A minőségbiztosítás minden laboratórium működéséhez szükséges. A következő tényezők befolyásolják egy laboratórium működését, köztük a gonorrhoea diagnosztizálását: a transzport közeg és a táptalaj minősége, és összetétele, inkubációs feltételek, reagens, felszerelés, és a laboratóriumi személyzet.

Minden laboratóriumnak rendelkeznie kell a klinikai minták feldolgozására vonatkozó előírásokkal. Minden egyedi minta feldolgozása ugyanazzal a módszerrel hasonló eredményhez kell, hogy vezessen.

Minden STD diagnosztikában részt vevő laboratóriumnak megfelelő útmutatást nyújt a minőségbiztosítás nemzetközi előírásait tartalmazó „Medical laboratories – Special requirements to quality and competence” (ISO 15189, 2003).

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Jelen irányelv a Sexual and Reproductive Health and Rights (SRHR) Network, STI Diagnostic Group által készült az East Europe Committee of the Swedish Health Care Community, Swedish International Development Cooperation Agency (SIDA) támogatásával. Projekt koordinátor: Domeika Marius.

Érkezett: 2008.03.16. Közlésre elfogadva: 2008.03. 27.



GYNOFLO

GYNOFLO

hüvelytabletta



MEDICO UNO