

} UNIVERZITETNA KLINIKA ZA PLJUČNE
BOLEZNI IN ALERGIJO GOLNIK

Zbornik

srečanja:

21. slovenski in

2. mednarodni posvet o
obravnavi in spremljanju
bolnikov s tuberkulozo (TB)

21st Slovenian and

2nd International

Conference

on the Treatment and

Monitoring of Patients with
Tuberculosis

Golnik

23. in 24. marec 2016

Izdajatelj

Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo
Golnik

Uredniki zbornika

Petra Svetina, Mitja Košnik, Robert Marčun

Organizacija srečanja

Robert Marčun

Strokovno srečanje **21. slovenski in
2. mednarodni posvet o obravnavi in
spremljanju bolnikov s tuberkulozo (TB)**
so omogočili:

Betamed

Biomedis

Biospectra

Boehringer Ingelheim

Glaxo SmithKline

Medias International

Micro Polo

Mediline

Omega

Pliva Tewa

Roche

3M

Program

	Sreda, 23.3.2016	
11.30 - 12.00	Registracija	
12.00 - 12.10	Pozdrav	<i>Matjaž Fležar</i>
12.10 - 12.35	Predstavitve TB action plan 2016-2020 (WHO)	<i>Mitja Košnik</i>
12.35 - 13.00	TB v regiji	<i>Mitja Košnik</i>
13.00 - 13.20	Izzivi pri nadzoru TB v državi z višjo incidenco TB	<i>H. Žutić, M. Duronjić (BIH)</i>
13.20 - 13.40	Izzivi pri nadzoru TB v državi z nižjo incidenco TB	<i>Biljana Ilievska Popovska (Makedonija)</i>
13.40 - 14.00	Izzivi pri nadzoru TB v državi z zelo nizko incidenco TB	<i>Petra Svetina</i>
14.00 - 14.20	Pomen Registra za TB	<i>Petra Svetina</i>
14.20 - 14.40	Razprava	
14.40 - 14.50	Satelit (Cepheida/Biomedice) - XPERT MTB/RIF ULTRA	<i>Jürgen Becker</i>
14.50 - 15.10	Satelit (BioSpectra) - Evaluating Diasorin Liaison IXT (Arrow) automated extraction for the recovery of Mycobacterium tuberculosis DNA from sputum - an improvement on manual spin column based extraction	<i>Rebecca L Gorton</i>
15.10 - 16.00	Odmor s kosilom	
16.00 - 16.20	Kakovostne kužnine – dobra osnova za laboratorijsko diagnostiko TB	<i>Vera Katalinić-Janković (Hrvaška)</i>
16.20 - 16.40	Pomen tekočih gojišč in molekularno-bioloških testov pri dokazovanju bacilov TB	<i>Manca Žolnir-Dovč</i>
16.40 - 17.00	Raznolikost bacilov TB v Sloveniji in njihov pomen	<i>Urška Bidovec Stojković</i>
17.00 - 17.20	Laboratorijska diagnostika ob sumu na zunajpljučno TB	<i>Vesna Kuruc (Srbija)</i>
17.20 - 17.40	Razprava	
17.40 - 17.50	Satelit (Omega)	
17.50 - 18.00	Odmor s kavo	
18.00 - 19.00	Posterska sekcija	
20.00	Večerja	
	Četrtek, 24.3.2015	
09.00 - 9.20	Obravnava oseb glede TB v občutljivih skupinah prebivalstva	<i>Petra Svetina</i>
09.20 - 9.35	Izkušnje s testi IGRA na Hrvaškem	<i>Ljiljana Žmak (Hrvaška)</i>
09.35 - 9.50	Izkušnje s testi IGRA v Srbiji	<i>Svetlana Kašiković Lečić (Srbija)</i>
09.50 - 10.05	Izkušnje s testi IGRA v Črni gori	<i>Biljana Grbavčević (Črna gora)</i>
10.05 - 10.20	Razprava	
10.20 - 10.30	Satelit (Glaxo)	
10.30 - 10.50	Odmor s kavo	
10.50 - 11.10	Obravnava odraslih s sumom na TB pljuč	<i>Sanja Grm Zupan</i>
11.10 - 11.30	Obravnava otrok s sumom na TB	<i>Malena Aldeco, Uroš Krivec</i>
11.30 - 11.50	Obravnava odraslih s sumom na zunajpljučno TB	<i>Sanja Grm Zupan</i>
11.50 - 12.05	Razprava	
12.05 - 12.50	Satelit (Medias)	
12.50 - 13.40	Odmor s kosilom	
13.40 - 14.05	Protituberkulozna zdravila; ali se razlikujejo od drugih zdravil?	<i>Janez Toni</i>
14.05 - 14.25	Zdravstvena oskrba bolnika s TB	<i>Barbara Zadnik</i>
14.25 - 14.45	Ukrepi za preprečevanje prenosa okužbe z M. tuberculosis	<i>Maruša Ahačić</i>
14.45 - 15.00	Razprava in zaključek srečanja	

	<u>Wednesday, 23.3.2016</u>	
11.30 - 12.00	Registration	
12.00 - 12.10	Welcome	<i>Matjaž Fležar</i>
12.10 - 12.35	TB action plan 2016-2020 (WHO)	<i>Mitja Košnik</i>
12.35 - 13.00	TB in region	<i>Mitja Košnik</i>
13.00 - 13.20	Challenges of TB control in the country with a high incidence of TB	<i>H. Žutić, M. Duronjić (BIH)</i>
13.20 - 13.40	Challenges of TB control in the country with a low incidence of TB	<i>Biljana Ilievska Popovska (Makedonija)</i>
13.40 - 14.00	Challenges of TB control in the country with a very low incidence of TB	<i>Petra Svetina</i>
14.00 - 14.20	Presentation of TB Registry	<i>Petra Svetina</i>
14.20 - 14.40	Discussion	
14.40 - 14.50	Satellite symposium (Cepheida/Biomedice) - XPERT MTB/RIF ULTRA	<i>Jürgen Becker</i>
14.50 - 15.10	Satellite symposium (BioSpectra) - Evaluating Diasorin Liaison IXT (Arrow) automated extraction for the recovery of Mycobacterium tuberculosis DNA from sputum - an improvement on manual spin column based extraction	<i>Rebecca L. Gorton</i>
15.10 - 16.00	Lunch	
16.00 - 16.20	Quality clinical samples – a good basis for laboratory diagnosis of TB	<i>Vera Katalinić-Janković (Hrvaška)</i>
16.20 - 16.40	Importance of liquid media and molecular methods for TB bacilli detection	<i>Manca Žolnir-Dovč</i>
16.40 - 17.00	Genetic diversity of M.tuberculosis isolates in slovenia	<i>Urška Bidovec Stojković</i>
17.00 - 17.20	Laboratory diagnostics for suspected extrapulmonary TB	<i>Vesna Kuruc (Srbija)</i>
17.20 - 17.40	Discussion	
17.40 - 17.50	Satellite symposium (Omega)	
17.50 - 18.00	Coffee break	
18.00 - 19.00	Poster section	
20.00	Dinner	
	<u>Thursday 24.3.2015</u>	
09.00 - 9.20	Management of TB in vulnerable population groups	<i>Petra Svetina</i>
09.20 - 9.35	Experience with IGRA test in Croatia	<i>Ljiljana Žmak (Hrvaška)</i>
09.35 - 9.50	Experience with IGRA test in Serbia	<i>Svetlana Kašiković Lečić (Srbija)</i>
09.50 - 10.05	Experience with IGRA test in montenegro	<i>Biljana Grbavčević (Črna gora)</i>
10.05 - 10.20	Discussion	
10.20 - 10.30	Satellits symposium t (Glaxo)	
10.30 - 10.50	Coffee break	
10.50 - 11.10	Diagnostics algorithm for adults with suspected pulmonary tuberculosis	<i>Sanja Grm Zupan</i>
11.10 - 11.30	Diagnostics algorithm for children with suspected tuberculosis	<i>Malena Aldeco, Uroš Krivec</i>
11.30 - 11.50	Diagnostics algorithm for adults with suspected extrapulmonary tuberculosis	<i>Sanja Grm Zupan</i>
11.50 - 12.05	Discussion	
12.05 - 12.50	Satellits symposium (Medias)	
12.50 - 13.40	Lunch	
13.40 - 14.05	Anti-TB drugs; are they different than other drugs?	<i>Janez Toni</i>
14.05 - 14.25	Nursing in patients with TB	<i>Barbara Zadnik</i>
14.25 - 14.45	Preventing the transmission of M. tuberculosis	<i>Maruša Ahačić</i>
14.45 - 15.00	Discussion and conclusions	

TB V REGIJI

Prof. Mitja Košnik, dr. med., Univerzitetna klinika Golnik

V ZADNJIH 10 LETIH SMO NAREDILI:

Leta 2005 prenehali z neselektivnim besežiranjem

Pozornost smo preusmerili od aktivnega iskanja bolnikov k preprečevanju okužbe oziroma zboletja:

Malo občutljiv in specifičen tuberkulinski test smo nadomestili s testom in-vitro.

Aktivno iščemo latentno okužbo pri osebah, ki so nagnjene k reaktivaciji TB.

Izdelali smo ukrepe za zmanjšanje možnosti prenosa okužbe na zdravstvene delavce, vključno z opremo izolacijskih oddelkov na katerih se ti bolniki zdravijo, dokler so kužni.

Striktno izvajamo DOT. Skrbimo, da ne bi vzgojili proti odpornih sevov.

Obvladovanje neugodnih učinkov antituberkulotikov oziroma interakcije med zdravili.

Pri obravnavi kompleksnega bolnika sodeluje klinični farmacevt.

Izziv preskrbe z monokomponentnimi zdravili in zdravili drugega reda.

Z izobraževanjem smo uspeli motivirati zdravnike drugih specialnosti k odkrivanju izvenpljučnih oblik bolezni.

STREMIMO K POPOLNOSTI?

Zdravstveno mrežo smo prilagodili pogostosti tuberkuloze v državi, zato lahko vzdržujemo visok standard izvajanja diagnostike. Zdravimo le bolnike s potrjeno diagnozo, v glavnem bakteriološko. Vedno preverimo, ali je bacil tuberkuloze občutljiv za predpisana zdravila.

Pričakovanje WHO: vsako zaključeno zdravljenje TB potrditi z negativno kulturo ← več induciranih sputumov.

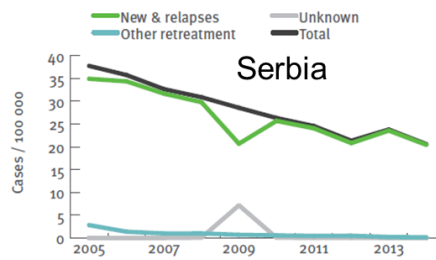
ZA NADZOR NAD EPIDEMIJO TUBERKULOZE JE POTREBNO SODELOVANJE IN PRILAGAJANJE

S predstavniki nacionalnih programov za tuberkulozo iz držav s področja Zahodnega Balkana se pogovarjamo o izzivih s katerimi se srečujemo in o dobrih praksah, ki so se razvile v posameznih državah.

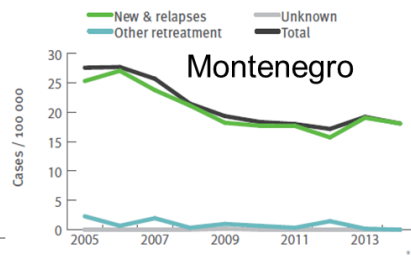
Sodelovanje med nacionalnimi programi teh držav je še posebej pomembno, saj je znotraj tega področja velika migracija.

TB vregiji, 2014

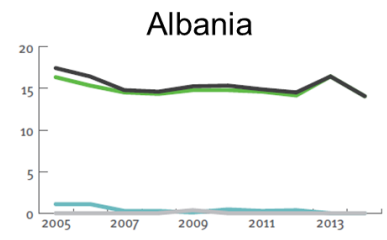
Tuberculosis notification rates by treatment history, 2005–2014* Tuberculosis notification rates by treatment history, 2005–2014* tuberculosis notification rates by treatment history, 2005–2014*



* Starting from 2013 onward cases with unknown history are included in new and relapses.

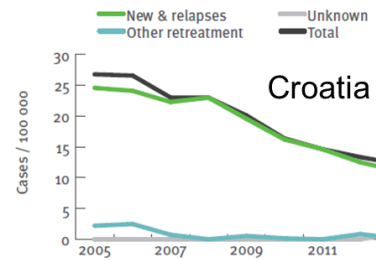
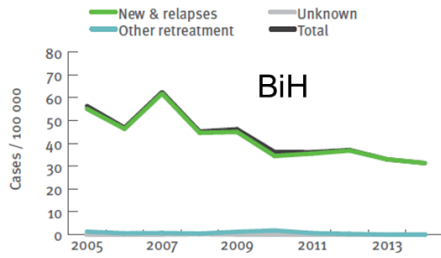


* Starting from 2013 onward cases with unknown history are included in new and relapses.



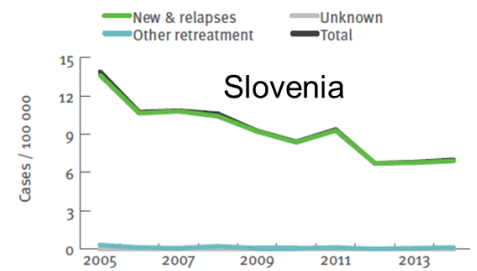
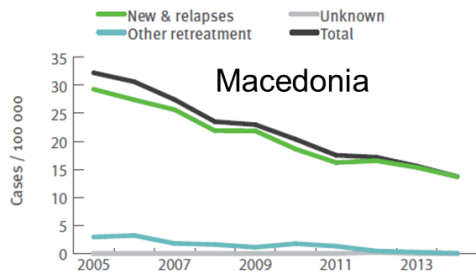
Tuberculosis notification rates by treatment history, 2005–2014

Tuberculosis notification rates by treatment history, 2005–2014*



Tuberculosis notification rates by treatment history, 2005–2014

Tuberculosis notification rates by treatment history, 2005–2014*





With the Global Plan to Stop TB 2006–2015 coming to an end, WHO has developed an ambitious post-2015 global End TB Strategy, which was endorsed by the Sixty-seventh World Health Assembly in 2014 through resolution WHA67.

Since the ultimate success of the Strategy will depend on the commitment of Member States and partners, the resolution urges all Member States to adapt their use of the Strategy to their national priorities and specificities, and invites regional partners to support the Strategy's implementation.

The Tuberculosis action plan for the WHO European Region 2016–2020 has been developed, in a Region-wide participatory process, to operationalize the global End TB Strategy in the regional context, for its subsequent adaptation at the national level according to country specificities. The action plan, which is in line with Health 2020 and other key regional health strategies and policies, sets a regional goal and targets for the care and control of tuberculosis and drug-resistant tuberculosis from 2016 to 2020 by defining strategic directions, and describes activities to be carried out by stakeholders.

This working document contains the action plan and accompanying activities to be implemented by Member States, the WHO Regional Office for Europe and other stakeholders under three areas of intervention: integrated, patient-centred care and prevention; bold policies and supportive systems; and intensified research and innovation. The action plan is also contained in the draft publication entitled "Tuberculosis action plan for the WHO European Region 2016–2020: towards ending tuberculosis and multidrug-resistant tuberculosis", which will be available at the 65th session of the Regional Committee for Europe. The publication includes the monitoring framework, an analysis of strengths, weaknesses, opportunities and threats, an impact analysis and a financial resource analysis.

The Tuberculosis action plan for the WHO European Region 2016–2020, submitted for consideration by the Regional Committee at its 65th session, is accompanied by a draft resolution and financial implications for the Regional Office.

Table 1. Outline of the Tuberculosis action plan for the WHO European Region 2016–2020

TUBERCULOSIS ACTION PLAN FOR THE WHO EUROPEAN REGION 2016–2020	
VISION	An end to the tuberculosis epidemic with zero affected families facing catastrophic costs due to tuberculosis.
GOAL	To end the spread of drug-susceptible and drug-resistant tuberculosis by achieving universal access to prevention, diagnosis and treatment in all Member States in the WHO European Region, thereby contributing to the End TB Strategy goal of ending the tuberculosis epidemic.
TARGETS (to be achieved by 2020)	<ul style="list-style-type: none"> • 35% reduction in tuberculosis deaths • 25% reduction in tuberculosis incidence rate • 75% treatment success rate among the MDR-TB patient cohort
STRATEGIC DIRECTIONS	
<ol style="list-style-type: none"> 1. <i>Work towards tuberculosis elimination by strengthening health systems response to tuberculosis and drug-resistant tuberculosis prevention, control and care</i> 2. <i>Facilitate intersectoral collaboration to address the social determinants and underlying risk factors of tuberculosis</i> 3. <i>Work in national, regional and international multistakeholder partnerships, including with civil society and communities</i> 4. <i>Foster collaboration for the development and use of new diagnostic tools, medicines, vaccines and other treatment and preventive approaches</i> 5. <i>Promote the rational use of existing resources, identify gaps and mobilize additional resources to ensure sustainability</i> 6. <i>Ensure that the promotion of sound tuberculosis ethics, human rights and equity is embedded in all areas of the strategic interventions listed above</i> 	
AREAS OF INTERVENTION	
1. INTEGRATED, PATIENT-CENTRED CARE AND PREVENTION	
<ol style="list-style-type: none"> A. Systematic screening of contacts and high-risk groups B. Early diagnosis of all forms of tuberculosis and universal access to drug-susceptibility testing, including the use of rapid tests C. Equitable access to quality treatment and continuum of care for all people with tuberculosis, including drug-resistant tuberculosis, and patient support to facilitate treatment adherence D. Collaborative tuberculosis/HIV activities, and management of comorbidities E. Management of latent tuberculosis infection and preventive treatment of persons at high risk, and vaccination against tuberculosis 	
2. BOLD POLICIES AND SUPPORTIVE SYSTEMS	
<ol style="list-style-type: none"> A. Political commitment with adequate resources, including universal health coverage policy B. Health systems strengthening in all functions, including well-aligned financing mechanisms for tuberculosis and human resources C. Regulatory frameworks for case-based surveillance, strengthening vital registration, quality and rational use of medicines, and pharmacovigilance D. Airborne infection control, including regulated administrative, engineering and personal protection measures in all relevant health-care facilities and congregate settings E. Community systems and civil society engagement F. Social protection, poverty alleviation and actions on other determinants of tuberculosis, such as migration and prisons 	
3. INTENSIFIED RESEARCH AND INNOVATION	
<ol style="list-style-type: none"> A. Discovery, development and rapid uptake of new tools, interventions and strategies B. Research to optimize implementation and impact, and promote innovations 	

Activities related to areas of intervention

1. Integrated, patient-centred care and prevention

A. Systematic screening of contacts and high-risk groups

Case finding

1.A.1 Member States, with support from the Regional Office, will develop or revise strategies for systematic screening, including active case finding and/or contact investigation (and potentially source case investigation), including among high-risk and vulnerable populations with limited or no access to health services (by the end of 2017).²

1.A.2 Member States will ensure that TB and M/XDR-TB screening is available in relevant congregate settings, including penitentiary services, across the Region (by 2016).

1.A.3 Member States will ensure systematic engagement of communities and civil society organizations in order to support screening of contacts and high-risk groups (ongoing activity).

B. Early diagnosis of all forms of tuberculosis and universal access³ to drug-susceptibility testing, including the use of rapid tests

Tuberculosis laboratory network and quality

1.B.1 The Regional Office, in collaboration with partners, will prepare a guide and diagnostic algorithms for expanded and accelerated quality-assured new diagnostic technologies (taking into account paediatric tuberculosis and extrapulmonary tuberculosis diagnostics) (by 2016).⁴

1.B.2 The Regional Office and partners will strengthen national tuberculosis laboratory networks for diagnosis of all forms of tuberculosis⁵ to ensure effective treatment with first- and second-line drugs, as appropriate (by 2017).

1.B.3 The Regional Office and partners will help national tuberculosis programmes to develop strategies to maximize the benefits of rapid diagnostic tools for hard-to-reach and vulnerable populations (by 2017).²

² These include, but are not limited to: (undocumented) migrants, refugees, stateless populations, homeless people and those suffering from alcohol and drug misuse, people with mental health disorders, prisoners and those with a history of imprisonment.

³ Universal access is defined as evidence-based practices and quality services that are available, accessible, affordable and acceptable by people irrespective of their age, sex, sexual orientation, religion, origin, nationality, socioeconomic status or geographical background.

⁴ This includes the use of rational diagnostic algorithms for resistance to first- and second-line drugs, using WHO-endorsed diagnostic tests, for effective diagnosis.

⁵ Including, but not limited to, strengthening planning, infrastructure, biosafety, validation, maintaining equipment, sputum collection and transportation, procurement and supply, laboratory information systems and human resources.

1.B.4 The Regional Office will facilitate the provision of technical assistance to national tuberculosis laboratory networks, including reference laboratories, to ensure the

uptake of quality-assured WHO diagnostic technologies (ongoing activity).

1.B.5 The Regional Office will support the national tuberculosis programmes of high priority countries in finding ways to increase efficiency in sample transportation and subsequent communication of results (by 2018).

1.B.6 All Member States will ensure the availability of rapid tests endorsed by WHO, using national resources and donor funding. The Regional Office will liaise with donors

and countries to facilitate sustainable arrangements for funding (ongoing activity).

1.B.7 Member States will ensure that quality management systems are in place within

the laboratory network, covering all tests (by 2017).

1.B.8 The Regional Office and key partners will support the national tuberculosis programmes of high-priority countries in developing sustainable strategies for laboratory maintenance (by 2018).

C. Equitable access to quality treatment and continuum of care for all people with tuberculosis, including drug-resistant tuberculosis, and patient support to facilitate treatment adherence

1.C.1 Member States will ensure that their tuberculosis and drug-resistant tuberculosis

treatment guidelines, including childhood tuberculosis guidelines, are regularly updated

and implemented according to the latest available evidence and WHO recommendations

(ongoing activity).

1.C.2 Member States will develop a plan for achieving universal access to treatment, including the treatment of vulnerable populations and children, and uninterrupted drug

supply (ongoing activity).

1.C.3 Member States will ensure the rational, safe and effective introduction of new tuberculosis medicines, including for children, according to the most recent WHO policy guidance (as soon as possible and not later than 2016). (See section 2.C.)

1.C.4 Member States will sustain countrywide use of first-line fixed-dose combination drugs (for adults and children) and paediatric drug formulations in the treatment of drug-susceptible tuberculosis, where possible (by the end of 2016).

1.C.5 Member States will ensure that surgery is available for eligible M/XDR-TB patients where indicated (by 2017).⁷

6 See footnote 1.

7 WHO Regional Office for Europe Task Force on the Role of Surgery in MDR-TB. The role of surgery

in the treatment of pulmonary TB and multidrug- and extensively drug-resistant TB. Copenhagen: WHO

Regional Office for Europe; 2014 (<http://www.euro.who.int/en/health-topics/communicablediseases/>)

tuberculosis/publications/2014/the-role-of-surgery-in-the-treatment-of-pulmonary-tb-andmultidrug-and-extensively-drug-resistant-tb, accessed 24 July 2015).

1.C.6 All high-priority countries will specify strategies and mechanisms for ensuring people-centred tuberculosis services and for expanding and maintaining the provision of ambulatory treatment integrated into the different levels and settings of service delivery (by 2016).

1.C.7 All Member States will specify strategies and mechanisms for patient-centred support to tuberculosis patients and their families in order to enable effective treatment adherence and completion (by 2016).

1.C.8 The Regional Office and partners will continue to provide technical assistance to Member States on measures to strengthen integrated delivery of tuberculosis services, including primary care and community-based tuberculosis prevention and care with increasing use of modern information and communication technologies (ongoing activity).

1.C.9 Member States will improve access to tuberculosis prevention and care and appropriate support for hard-to-reach and vulnerable populations (by 2018).⁸

1.C.10 The Regional Office and Member States will implement a mechanism for crossborder tuberculosis control and care that enables a continuum of treatment for internal and external migrants and stateless populations (by 2017).

1.C.11 The Regional Office, in collaboration with partners, will assist Member States in developing further cooperation between penitentiary and civilian services to ensure continuity of care for patients transferred between penitentiary and civilian institutions (ongoing activity).

1.C.12 Member States will ensure that palliative care services are available for all tuberculosis patients with the aim of relieving suffering from the disease and its treatment, with priority given to patients with poor chances of a cure due to limited treatment options. Specific protocols to assess and to provide care to M/XDR-TB patients who fail to respond to treatment should be established (by the end of 2016).⁹

1.C.13 The Regional Office, in collaboration with partners, will provide technical support in designing and implementing appropriate hospice/end-of-life care for M/XDR-TB patients who fail to respond to treatment and for whom all other curative treatment options, including surgery, new and repurposed drugs, are exhausted (by the end of 2016).

D. Collaborative tuberculosis/HIV activities, and management of comorbidities

1.D.1 The Regional Office, in collaboration with partners, will assist Member States in establishing effective coordination mechanisms at the national and regional levels to facilitate the delivery of integrated tuberculosis and HIV services (by 2018).

8 See footnote 1.

9 These should assess the patient's clinical condition and determine whether treatment using new or repurposed drugs is appropriate or whether the patient should be referred for end-of-life care.

1.D.2 Member States will ensure that all tuberculosis patients have access to HIV counselling and testing supported by national HIV and tuberculosis guidelines (as soon as possible and not later than 2016).

1.D.3 Member States will ensure that people living with HIV are screened and treated for latent and active tuberculosis, without exposing them to possible tuberculosis infection, and will provide preventive treatment where indicated (as soon as possible and not later than 2020).

1.D.4 Member States will ensure that all TB/HIV patients have access to early and monitored (according to the most recent WHO recommendations) antiretroviral therapy and co-trimoxazole preventive therapy (as soon as possible and not later than 2016).

1.D.5 Member States will ensure implementation of collaborative frameworks and mechanisms for the integrated management of the most frequently occurring conditions associated with tuberculosis, such as diabetes mellitus, alcohol and drug use disorders, conditions related to smoking tobacco, lung diseases, immune compromising disorders and so on. (by 2018).

1.D.6 The Regional Office, in collaboration with partners, will provide assistance for the development of collaborative frameworks and mechanisms for the integrated management of tuberculosis and its most frequent comorbidities (by 2018).

E. Management of latent tuberculosis infection and preventive treatment of persons at high risk, and vaccination against tuberculosis

(See also activities in 1.D.)

1.E.1 Member States will adopt and adapt their national policies according to the most up-to-date WHO recommendations on diagnosis and treatment of latent tuberculosis infection for high-risk populations (by the end of 2017).

1.E.2 Member States will ensure that WHO policy recommendations on bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccination for infants are implemented and BCG revaccination is discontinued (immediately).

1.E.3 Member States will ensure that people accessing harm reduction services for drug misuse will be provided the option of tuberculosis preventive therapy (by 2016).

2. Bold policies and supportive systems

A. Political commitment with adequate resources, including universal health coverage policy

2.A.1 Member States will improve leadership and participatory governance for tuberculosis control, including implementation of whole-of-government and whole-of-society approaches, in the light of Health 2020. At the same time, the Regional Office

will provide technical assistance to Member States to ensure an improved, accountable

and effective central coordination of tuberculosis control and implementation of results based management approaches to improve performance (by 2020).

2.A.2 Member States, with the assistance of the Regional Office and partners, will ensure the rational use of existing financial and other resources, the identification of gaps and the mobilization of additional resources to ensure sustainable and effective prevention and control of tuberculosis (by 2018).

2.A.3 Member States will ensure universal coverage of tuberculosis services through the provision of a full range of high-quality tuberculosis prevention, diagnosis, treatment and care, free of charge and of equitable access to all in need, especially the most vulnerable populations (by 2020).

2.A.4 The Regional Office and partners will assist Member States in updating their national tuberculosis plans in line with the Tuberculosis action plan, including updated

guidance on new tools and interventions (including e-health) (by the end of 2016).¹⁰

2.A.5 Member States will ensure that external reviews of their national tuberculosis programmes/interventions are undertaken every three to five years by the Regional Office and other partners with the involvement of civil society organizations and communities (ongoing activity).

B. Health systems strengthening in all functions, including well-aligned financing mechanisms for tuberculosis and human resources

2.B.1 The Regional Office, in collaboration with partners, will assist Member States in identifying and addressing gaps and will provide technical assistance to improve institutional capacity for all functions of tuberculosis programmes within the health system (stewardship/governance, financing, service delivery and resource generation)

towards universal health coverage and rational use of hospital care (as soon as possible).

2.B.2 Member States will ensure that national tuberculosis programmes have the institutional capacity to develop, implement, analyse and adapt the tuberculosis policy,

and will manage and allocate resources towards ensuring effective universal access to

treatment. Health authorities will also engage the tuberculosis provider network and/or

programme in health systems reform initiatives (by 2020).

Health financing for tuberculosis control and care

2.B.3 The Regional Office and partners, in collaboration with Member States, will conduct an in-depth health financing review for more effective tuberculosis prevention and control (by the end of 2016).¹¹

¹⁰ The plans will include organograms endorsed health systems and national tuberculosis programmes,

with explicit roles and responsibilities (executive decrees and administrative orders), lines of authority

and operational plans up to provider level. These plans will take into account health systems and financial

reforms undertaken during 2011–2015, social determinants of tuberculosis and ethical and human rights concerns. These plans will also ensure that the role of primary health care, prison services, tuberculosis hospitals and general hospitals, nongovernmental organizations and private services are included, with the aim of improving public-private partnerships.

11 Analysis of current resources available for tuberculosis prevention and control interventions at the regional level, including the organization of funding flows, in order to identify: sources of fragmentation, potentially misaligned provider payment incentives associated with different types of tuberculosis and other financial (for example, levels of insurance) and non-financial barriers to access, as well as the role of private and public providers and the financial incentives in place for each. Recommendations for measures to improve health financing reform in line with the defined service delivery strategies will be made.

2.B.4 The Regional Office will provide technical assistance to Member States to develop sustainability plans to increase domestic funding and shared responsibility schemes for tuberculosis control and care in countries that have received donor funding (immediately).

2.B.5 The Regional Office will support the development of performance assessment frameworks for national tuberculosis control programmes, including evaluation of cost efficiency and effectiveness (by 2017).

Human resources

2.B.6 Member States will revise and implement strategic plans for the development of the human resources required to adapt and subsequently implement the Tuberculosis action plan at the national level (by the end of 2017).¹²

2.B.7 The Regional Office, in collaboration with the European Tuberculosis Laboratory Initiative and the Global Laboratory Initiative, will support the Tuberculosis Supranational Reference Laboratories Network in building sustainable human resources capacity (by 2018).¹³

2.B.8 Member States will continue to ensure supervised and continuous training (including on infection control), increased application of e-learning methods, coaching and support for health-care staff in case detection and in scaling up the treatment of tuberculosis, M/XDR-TB and TB/HIV patients (by 2016).

2.B.9 The Regional Office and partners (such as WHO collaborating centres and national tuberculosis programmes) will support the building of human resources capacity (ongoing activity).¹⁴

2.B.10 In coordination with the WHO Collaborating Centre on Prevention and Control of Tuberculosis in Prisons, in Baku, Azerbaijan, the Regional Office will assist Member

States in improving tuberculosis control in penitentiary services by supporting training activities facilitated by the collaborating centre (immediately).

12 These plans will include human resources policies, finance, education, leadership, job descriptions and workload assessment, and will determine staff needs, supervision and monitoring, performance-based assessment and remuneration (both monetary and non-monetary) of the staff, in line with plans for national health systems.

13 This will be done through regular country visits to monitor the performance of laboratory networks and through the provision of technical assistance (for example, on exchange of data, information and samples) both in-country and through internships of one to two months in their supranational reference laboratories.

14 Human resources capacity-building will be carried out through (i) regular country visits to monitor the performance of national and subnational health authorities and primary health-care providers involved in tuberculosis prevention, control and treatment, and (ii) the provision of technical assistance in-country (for example, in programme management, the efficient use of resources, operational research and the application of new diagnostic and programme tools).

C. Regulatory frameworks for case-based surveillance, strengthening vital registration, quality and rational use of medicines, and pharmacovigilance

Surveillance and data management

2.C.1 The Regional Office, together with WHO headquarters, partners and Member States, will develop a minimum set of social determinant variables to be included in routine surveillance at the country level (by 2016).¹⁵

2.C.2 The Regional Office will provide technical assistance for subregional workshops on surveillance standards and benchmarks and for the development of country plans for their implementation at the national level (immediately).

2.C.3 All Member States will implement the new standards and benchmarks for the tuberculosis surveillance system (immediately).

2.C.4 Member States will implement the WHO-recommended tuberculosis case definitions and reporting framework to ensure the categorization of tuberculosis cases in order to facilitate appropriate treatment and cohort reporting (as soon as possible and not later than 2016).

2.C.5 Member States, with the support of the Regional Office, will facilitate the establishment of laboratory information management systems (by 2017).

2.C.6 Member States will establish interoperable links between different sources of data useful for tuberculosis surveillance, including demographic and vital statistics, clinical management, geopositioning, and laboratory and drug management systems (by

2020).

Uninterrupted supply and rational use of quality medicines

2.C.7 The Regional Office will support Member States and other partners with data collection to assist in the reliable estimation of drug needs (immediately).

2.C.8 The Regional Office, partners and Member States, in their respective roles, will ensure the use of quality-assured (WHO prequalified and stringent drug regulatory authority-approved) drugs and will request fast-track registration of such drugs (by 2017).

2.C.9 The Regional Office and partners will conduct a gap analysis of pharmaceutical legislation and regulations (as a follow-up to that conducted under the Consolidated Action Plan) and facilitate their update, revision and improvement (by 2019).

2.C.10 The Regional Office will assist Member States in the development of procedures

for the procurement of medical supplies with an emphasis on quality assurance through

strengthened regulatory authorities and particular emphasis including, but not limited to,

paediatric tuberculosis diagnostics and treatment (drug formulations), and limiting the availability of new drugs on the free market (over the counter) without a tuberculosis indicated prescription sale (by 2017).

2.C.11 The Regional Office and partners will engage countries in the WHO Good Governance for Medicines programme and pharmacovigilance (immediately).

2.C.12 Member States will ensure continued capacity-building in planning, procurement

and supply management of anti-tuberculosis medicines at all levels of the health-care system according to WHO recommendations (immediately).

2.C.13 The Regional Office will deliver guidance to Member States on a continuous basis to develop their legal frameworks at the national and subnational levels for compassionate use of medicines under development (ongoing activity).

Pharmacovigilance and management of adverse events

2.C.14 Member States will strengthen or establish the mechanism to routinely collect data on adverse drug events at the country level for patients on new and novel regimens

(by the end of 2016).

2.C.15 The Regional Office, in collaboration with other partners and Member States, will establish a sufficiently resourced data repository on drug-related adverse events (by

the end of 2016).

D. Airborne infection control, including regulated administrative, engineering and personal protection measures in all relevant health-care facilities and congregate settings

2.D.1 Member States will ensure that all health-care facilities serving tuberculosis or suspected tuberculosis patients implement sound infection control standard operating procedures, including individual respiratory protection programmes (by the end of 2016).

2.D.2 Governments in high-priority countries will ensure that environmental (engineering) preventive measures are available in high-risk facilities and congregate settings (by 2016).

E. Community systems and civil society engagement

2.E.1 Member States and WHO will systematically include representatives of affected communities and civil society in national and regional tuberculosis programme reviews,

design, planning, implementation and monitoring, as well as assessments of quality of

services (immediately).

2.E.2 In order to achieve systematic involvement and engagement of civil society and people affected by tuberculosis, Member States will regularly assist and coordinate with

local civil society organizations and community representatives in devising and implementing effective plans in line with national tuberculosis programme policies and

priorities. This may include subcontracting activities when civil society and community organizations have a comparative advantage, such as in case-finding and social support

(ongoing activity).

2.E.3 High-priority countries, together with civil society and communities, will review their advocacy, communication and social mobilization strategy and develop community systems strengthening plans in order to increase knowledge of and access to

improved health service delivery. This includes capacity-building of community organizations, strengthening infrastructures and systems, partnership-building and developing sustainable financing solutions. These plans should be implemented and fully funded (by 2016).

2.E.4 Member States, recognizing the special value, contribution and support that patient groups can provide, will assist and support the creation, development and involvement of such groups wherever possible (as soon as possible and not later than

2020).

2.E.5 Member States will continue to develop innovative communication strategies together with affected communities, religious and community leaders and civil society,

making use of the Internet and other media (TV, radio, press, social media) to reduce tuberculosis-related stigma (ongoing activity).

2.E.6 The Regional Office will strengthen the involvement of and foster collaboration between national and international partners and private providers to raise awareness about tuberculosis, advocate resource mobilization and catalyse an exchange of best practices regarding tuberculosis and M/XDR-TB prevention and care through the Regional Collaborating Committee on Tuberculosis Control and Care (ongoing activity).

F. Social protection, poverty alleviation and actions on other determinants¹⁶ of tuberculosis, such as migration and prisons

2.F.1 Member States will measure the occurrence of catastrophic costs to patients and

their households due to tuberculosis, according to WHO guidelines (by 2019).

2.F.2 Member States will develop tuberculosis-specific mechanisms of social protection, with the allocation of relevant funds (by 2017).

2.F.3 The Regional Office, in collaboration with partners, will provide technical assistance for developing effective social protection mechanisms for tuberculosis

patients and their families (by 2017).

2.F.4 Member States will ensure effective mechanisms for the promotion and protection of human rights and ethical principles as part of social protection measures,

including capacity-building, legal support and accountability mechanisms (ongoing activity).

16 Social determinants are defined as the conditions in which people are born, grow, work, live and age, as well as the wider set of forces and systems shaping the daily life environment. These forces and systems include economic policies and systems, development agendas, social norms, social policies and political systems.

2.F.5 The Regional Office and partners will work together with Member States in an interdepartmental and intersectoral approach to explore a legal mechanism for crossborder tuberculosis control and care (by 2017). (See also 1.C.9.)

2.F.6 Member States, in collaboration with civil society organizations, will assist with cross-border tuberculosis care among migrant communities to help increase awareness

of tuberculosis and knowledge of local health services so that symptomatic individuals

refer and enrol themselves appropriately for treatment in the host country (ongoing activity).

3. Intensified research and innovation

A. Discovery, development and rapid uptake of new tools, interventions and strategies

3.A.1 The Regional Office, in close consultation with WHO headquarters, will coordinate the development/establishment of the European Tuberculosis Research Initiative (by 2017), under which the Regional Office and key partners will work with Member States to:

- identify needs, capacities and gaps (financial support for basic research, operational research, language/translation support and so on);
- develop research agendas at the regional and national levels;
- develop a platform for sharing new research and study results (for example, on equity, indicators, costs of non-action and so on) and create networks for research;
- map collaboration between major research institutes and identify new areas for cooperation;
- motivate funding agencies to link with civil society organizations for research advocacy; and
- serve to provide the evidence base for policy and practice for tuberculosis prevention, control and care.

3.A.2 Member States will identify key partners, such as nongovernmental organizations and institutions, to carry out respective research agendas on the basis of sound methodology and ethical principles (by 2017).

3.A.3 The Regional Office will work with all Member States and regional partners to promote and secure funding for national research priority areas and agendas (ongoing activity).

3.A.4 The Regional Office will assist Member States in assessing and ensuring that adequate research ethics mechanisms are in place within key institutions and partner organizations that carry out national research agendas (ongoing activity).

3.A.5 The Regional Office will facilitate the research and development of new tools, including tuberculosis treatment regimens, with Member States and, through the European Tuberculosis Research Initiative, will help Member States to hold sound clinical trials on a continuous basis and to report on progress (ongoing activity).

3.A.6 The Regional Office and partners will advocate the continuous involvement of European research institutes in the development of new diagnostic tools, medicines and other treatment modalities, vaccines, research on basic mechanisms of drug resistance and so on (ongoing activity).

3.A.7 The Regional Office and partners will advocate the mobilization of regional (such as European Union) and national resources using of planning/budgeting tools aimed at developing new technologies (ongoing activity).

B. Research to optimize implementation and impact, and promote innovations

3.B.1 The Regional Office will provide guidance and technical assistance to Member States to develop operational research priorities within national research platforms and

the corresponding social science research on health seeking behaviour, adherence to treatment, stigma and discrimination to inform policies and practices (ongoing activity).

3.B.2 Member States will develop an operational research plan (covering both quantitative and qualitative research) according to priority areas and key working partners (and coordinated with other existing research plans), to be considered by national and international funding sources, including the Global Fund to Fight AIDS, Tuberculosis and Malaria. Research generated under these plans should serve as the basis for improving programme performance (by 2016).

3.B.3 The Regional Office, together with key partners, will assist Member States in building capacity for research training and for translating research into action (ongoing activity).

3.B.4 Member States will ensure that the results of operational research and other studies are included in the development of tuberculosis control policies (ongoing activity).

3.B.5 In collaboration with partners, the Regional Office will continuously document best practices in the implementation of models of care and patient support (inpatient, outpatient, home/community-based models of care, financing/avoidance of catastrophic costs, prevention and so on) in different settings and will share these practices with Member States (ongoing activity).

IZAZOVI NAKON PRESTANKA GRANTA

Tuberkuloza u Bosni i Hercegovini u toku 2015.godine

Hasan Žutić, Mladen Duronjić, Velimir Bereš, Aida Ustamujić, Jasminka Maglajlić

Broj oboljelih od tuberkuloze u Bosni i Hercegovini, zadnjih deset godina bilježi kontinuirani pad. Od 1997.godine, kada je iznosio 2869, do 2015. sa 1095 oboljelih. Od ukupnog broja oboljelih u 2015. u Federaciji Bosne i Hercegovine je registrovano 727 , u Republici Srpskoj 357, a u Distriktu Brčko 11. Novootkrivenih je bilo 90,1%, a recidiva 9,9%. U polnoj strukturi dominiraju muški sa 57,7%, u dobnoj starosna grupa preko 64 godine sa 45,8%.

Plućne forme tuberkuloze su registrovane kod 87,3%, a vanplućne u 12,7%. U direktnom razmazu sputuma mikobakterije su detektovane kod 41,5% oboljelih. Kulturom po Loewensteinu bolest je potvrđena kod 56% oboljelih, kulturelno negativnih je bilo 44%.

CHALLENGES OF TUBERCULOSIS CONTROL IN THE COUNTRY WITH LOW INCIDENCE OF TUBERCULOSIS

Biljana Ilievska Poposka

Institute for lung diseases and tuberculosis Skopje Macedonia

Tuberculosis (TB) is a major global public health problem that predominantly affects low- and middle-income countries (1). However, although incidence is lower, it is also a persistent health threat in high-income countries, especially among the poorest and in the most vulnerable population (2-4).

In 2012, 155 000 people fell ill with TB in low-incidence countries, and there were 10 000 deaths (30 TB deaths a day).

With a vision to progress towards finally eliminating this ancient scourge, the World Health Organization (WHO) has developed a **global TB strategy** with a perspective beyond 2015 (5). Its vision, goal, targets and main intervention elements are summarised in table 1. The global strategy includes milestones towards a long-term vision to eliminate TB as a public health problem (defined as less than one case of TB per million population). It includes a goal to reduce global TB incidence from >1000 cases per million population today to <100 cases per million by 2035 (6).

Table 1. The World Health Organization post-2015 global tuberculosis (TB) strategy

A world free of TB: zero deaths, disease and suffering due to TB

Goal

End the global TB epidemic

Milestones for 2025

75% reduction in tuberculosis deaths (compared with 2015);

– 50% reduction in tuberculosis incidence rate (compared with 2015)
(less than 55 tuberculosis cases per 100 000 population)

No affected families facing catastrophic costs due to tuberculosis

Targets for 2035

95% reduction in TB deaths (compared with 2015)

90% reduction in TB incidence rate (<10 TB cases per 100 000 population)

No affected families facing catastrophic costs due to TB

Principles

- 1) Government stewardship and accountability, with monitoring and evaluation
- 2) Strong coalition with civil society organisations and communities
- 3) Protection and promotion of human rights, ethics and equity
- 4) Adaptation of the strategy and targets at country level, with global collaboration

Pillars and components

- 1) Integrated, patient-centred care and prevention

A. Early diagnosis of TB including universal drug susceptibility testing, and systematic screening of contacts and high-risk groups

- B. Treatment of all people with TB including drug-resistant TB, and patient support
 - C. Collaborative TB/HIV activities and management of comorbidities
 - D. Preventive treatment of persons at high-risk and vaccination against TB
- 2) Bold policies and supportive systems
- A. Political commitment with adequate resources for TB care and prevention
 - B. Engagement of communities, civil society organisations and public and private care providers
 - C. Universal health coverage policy and regulatory frameworks for case notification, vital registration, quality and rational use of medicines, and infection control
 - D. Social protection, poverty alleviation and actions on other determinants of TB
- 3) Intensified research and innovation
- A. Discovery, development and rapid uptake of new tools, interventions and strategies
 - B. Research to optimise implementation and impact, and promote innovations

The new strategy includes a target of reducing the global incidence of TB by 90% and 95% reduction in the number of deaths due to TB between 2015 and 2035. This translates to a reduction from about 1000 to < 100 cases per million population globally.

With the anticipated global progress, a growing number of countries will in the future enter into the low-incidence category, that is, countries that reach <100 TB cases (all forms) per million population, or <10 notified cases (all forms)/100,000. Today, there are 33 countries and territories with a low incidence of TB, where there are fewer than 100 TB cases per million population. These countries will need to progress further towards pre-elimination (<10 cases per million, or <1 notified case (all forms)/100,000) and eventually elimination : <1 notified case (all forms)/ million (7). This will require additional actions to improve access to high-quality TB services especially for vulnerable groups, as well as efforts to address the underlying determinants that put people at risk of TB.

In times of increasing population mobility, TB will never be completely, sustainably eliminated in any country until it is eliminated globally. This interdependence calls for joint, intensified TB prevention and care in all countries. TB elimination in low-incidence countries, most of which are among the wealthiest in the world, will require both tailored actions in those countries and contributions to TB care and prevention in the poorest countries of the world.

Adapting the global strategy to the special challenges for TB care and prevention in low-incidence countries: principles and eight priority action areas (those which have already reached a TB incidence of less than 100 per million)

The aim of this adaptation of the global strategy to low-incidence settings is to accelerate movement towards TB elimination. It builds on the same four principles of the global strategy and should be applied in the context of the eight priority action areas proposed below (3). The four principles are:

1. *Government stewardship and accountability, with monitoring and evaluation*

2. *Strong coalition with civil society organizations and communities*
3. *Protection and promotion of human rights, ethics and equity*
4. *Adaptation of the strategy and targets at country level, with global collaboration*

Prioritisation of key interventions and target groups should be based on an epidemiological and health system assessment in each setting, guided by data analysis and operational research. Critically, such analyses need to establish the distribution of TB in the population (by age, sex, geographical location and sociodemographic variables), the specific access barriers that each risk group faces, the health system capacity and bottlenecks, and the availability and quality of TB-specific interventions and programmatic functions.

TB epidemiology in most low-incidence countries is characterised by a low rate of transmission within the general population, occasional outbreaks, a majority of TB cases generated from progression of latent TB infection (LTBI) rather than recent transmission, a high degree of concentration within certain vulnerable and hard-to-reach risk groups, a significant contribution to TB rates from cross-border migration, and changes in age distribution towards the highest number of cases among the elderly, at least within non-foreign-born population (8,9). However, the importance and nature of these elements vary across countries, and a detailed situation analysis is needed in each setting.

The special challenges require tailored responses, which in this framework are grouped under eight broad priority action areas (principles' adaptation for the post-2015 global tuberculosis (TB) strategy in low-incidence settings):

1. Ensure political commitment, funding and stewardship for planning and essential services of high quality
2. Address the most vulnerable and hard-to-reach groups
3. Address special needs of migrants and cross-border issues
4. Undertake screening for active TB and LTBI in TB contacts and selected high-risk groups, and provide appropriate treatment
5. Optimize the prevention and care of drug-resistant TB
6. Ensure continued surveillance, programme monitoring and evaluation, and case-based data management
7. Invest in research and new tools
8. Support global TB prevention, care and control

Challenges of tuberculosis control in Macedonia

All activities in regard to the control of TB in Macedonia are comprised into the National Strategy for TB control and the last was prepared for the period of 2013-2017. Currently, there is an ongoing process of preparing the new TB Strategy for the period of 2018-2022. As a result of all activities and measures which were undertaken there is continuous decrease in the incidence and prevalence rate of TB during the last decade within Republic of Macedonia. In the last two years the incidence rate is very similar: 13,8 and 13,7/100 000 population in 2014 and in 2015 separately; the mortality rate has a stable number (Figure 1). According to these dates Macedonia does not belong to the countries with low TB incidence, but we are on the way of getting there. It is according to the new definition, above all for the countries which have already reached a TB incidence of less than 100 per million (7), while others have suggested different thresholds, such as < 200 per million or under 20 TB cases per 100 000 population (3, 10).

According to the gender distribution, more than 60% of TB patients are male (Figure 2). Even there is a slight tendency for increased number of TB patients aged >65 years, most patients are between 45-55 years of age. There is a continuous trend for decreasing the TB cases among the children (0-14) and there are 14 children with TB in 2015 which present 4,9% from the whole TB cases (Figure 3). The proportion of extra pulmonary TB is being kept at around 24% in the last years, and the patients with pleurisy and lymph glandular TB are the most frequent ones. The number of previously treated patients' continuously has been decreasing with present 8% versus 92% of newly diagnosed patients (Figure 4).

Figure 1. Incidence, prevalence and mortality rate in Macedonia 2007-2015

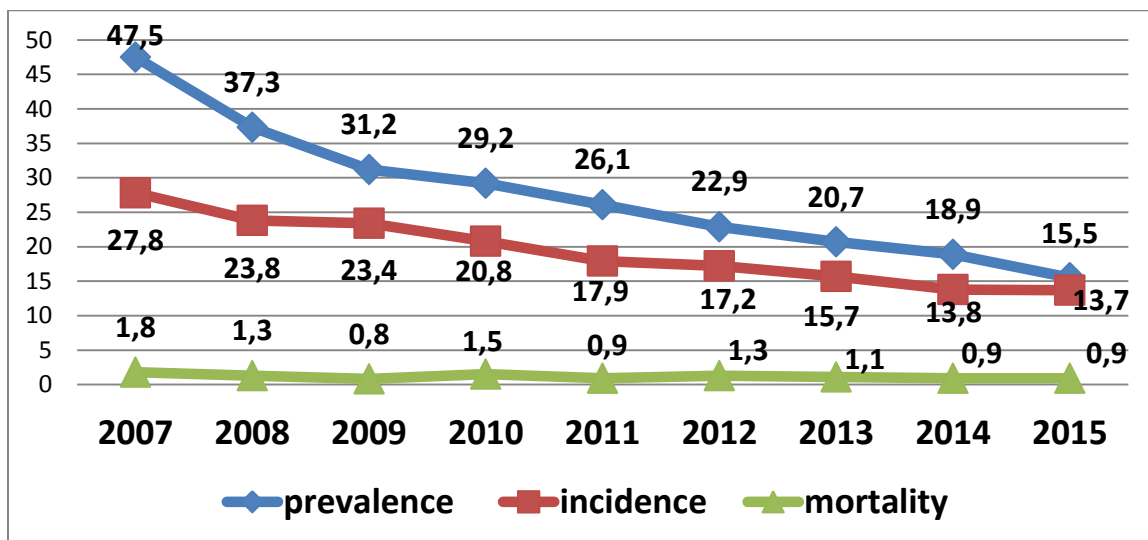


Figure 2. Distribution of TB patients according to the gender

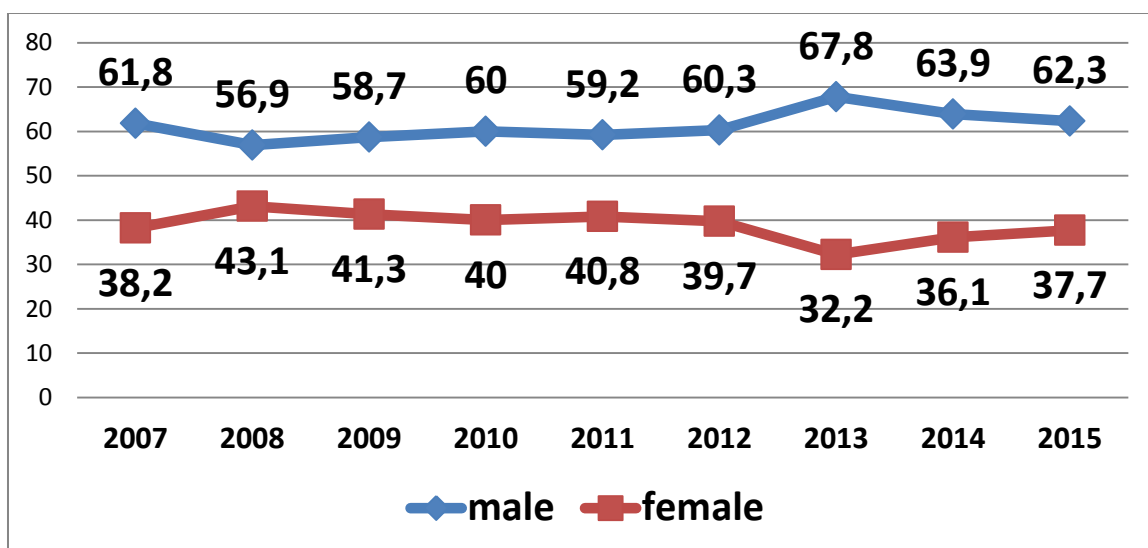


Figure 3. Tuberculosis in children 0-14 age

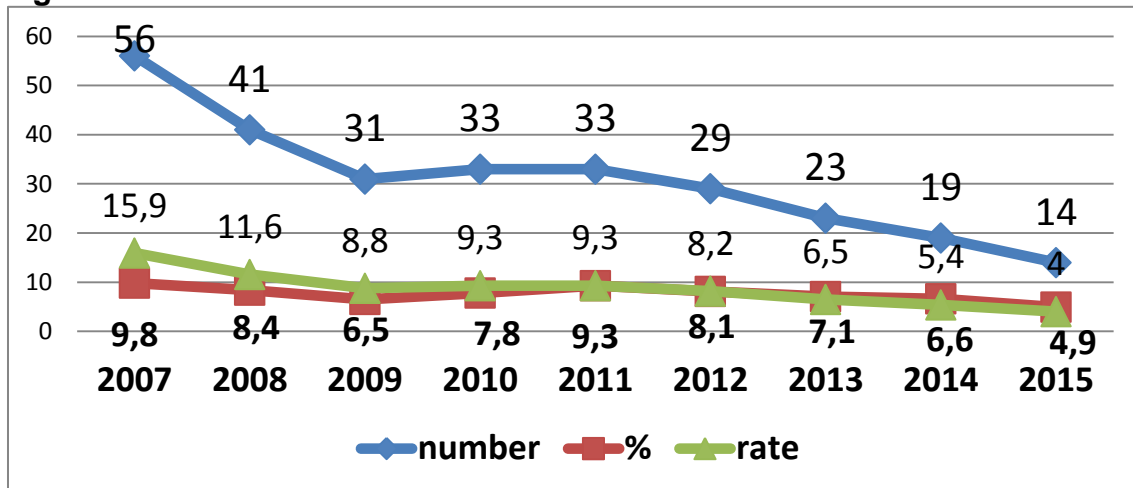
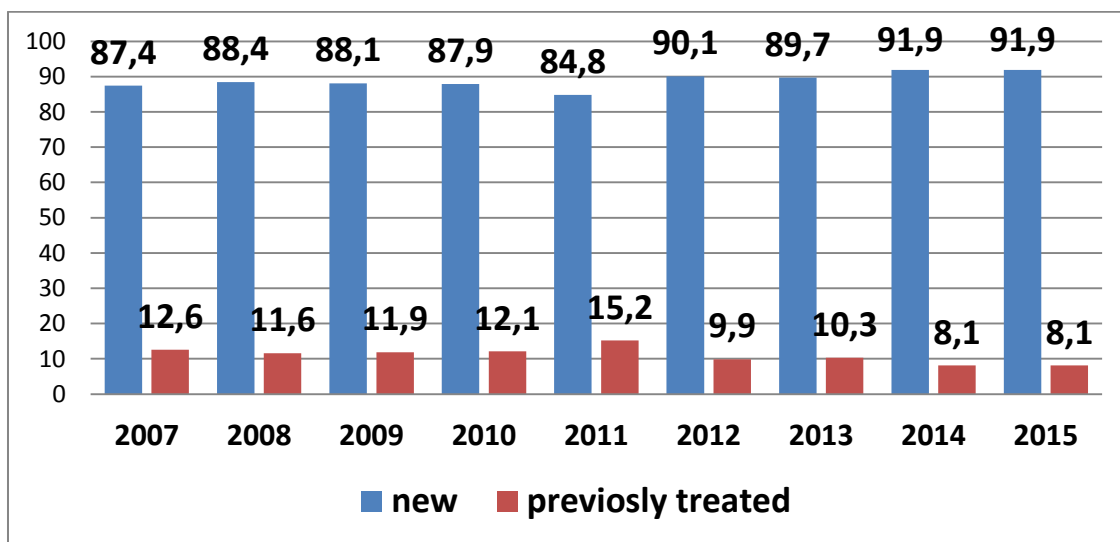


Figure 4. Distribution of patients according to the history of previous treatment: New and previously treated TB patients



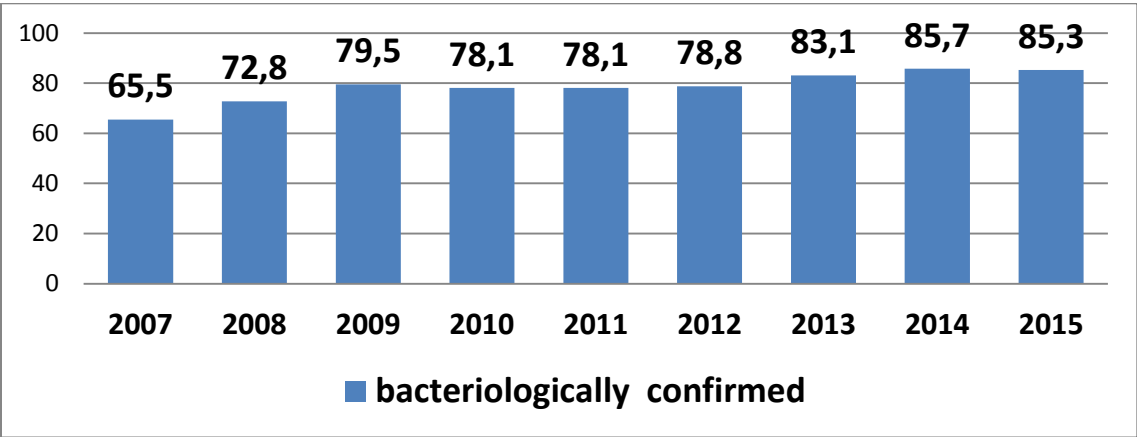
NTP in Macedonia includes a lot of activities in the field of diagnosis, treatment and prevention of tuberculosis.

The most important activities of NTP in Macedonia are:

1. Ensure political commitment and support
2. Rapid and exactly diagnosis of TB
3. Management of MDR-TB
4. Address the most vulnerable and risk-groups
5. Screening for LTBI
6. Redefine of the network of the of health care institutions for diagnosis, treatment and prevention for TB

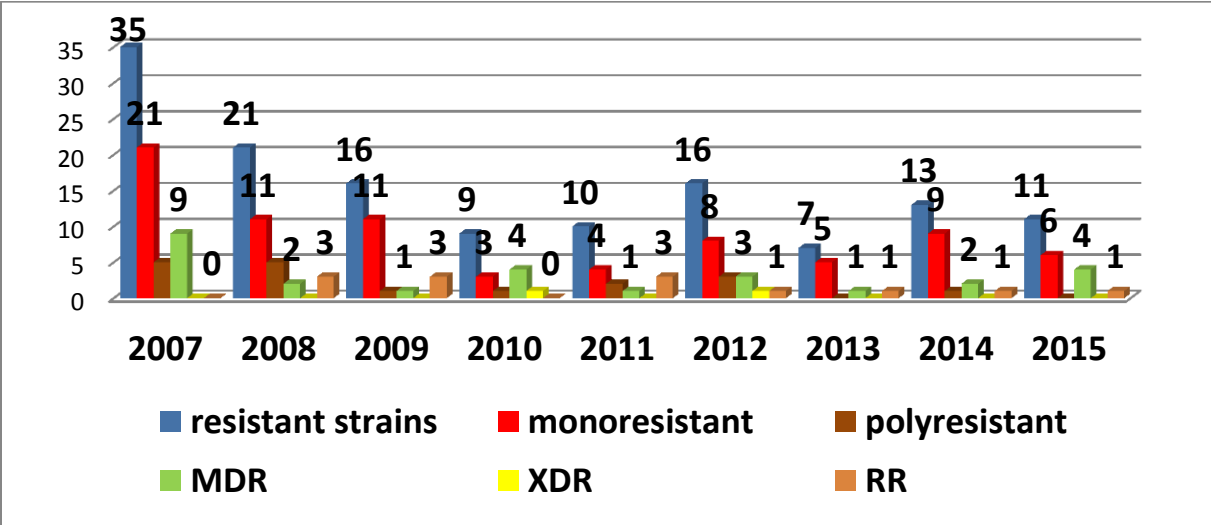
For rapid and adequate diagnosis, beside the standard methods (microscopy, solid and liquid cultures) two years ago we started using new molecular tests: Xpert MTB/Rif and Hain Genotype MTBDR plus. We hope that bacteriological confirmation of TB cases in the future will be improved (Figure 5).

Figure 5. Bacteriologically confirmed cases with pulmonary TB- new and relapses



In the context of bacteriological confirmation of TB cases we can say that the problem with resistance strains in Macedonia is not so big, but it is enough to put intensive efforts for fast diagnosis, adequate therapy and monitoring during the whole treatment of the resistant cases. The cases with MDR-TB vary from 1-4 per year within the last period (Figure 6).

Figure 6. Resistance strains 2007-2015



In the field of the treatment, the biggest challenge in our country is the treatment of MDR-TB and other resistant cases. NTP provides free of charge first and second line anti-tuberculotics for all TB patients in Macedonia.

NTP in Macedonia addresses the most intensive preventive efforts and measures for the high risk groups of TB: contacts, HIV positive people, prisoners, patients in psychiatric institutions, drug users, Roma population and medical workers. As it is shown in the following figures (Figure 7, 8, 9, 10) the incidence rate among some of these risks groups is still so high than within the general population. We have to mentioned that HIV+ people and Roma population do not present a high risk groups in our country, because of the low incidence rate.

Systematic screening for active TB is carefully targeted towards the groups with the high risk of TB. We still perform active radiography screening among these risk groups with the aim not to omit the diagnosis as well as for early detection of active TB.

Figure 7. Incidence rate of TB patients in prisons and within the general population in Macedonia

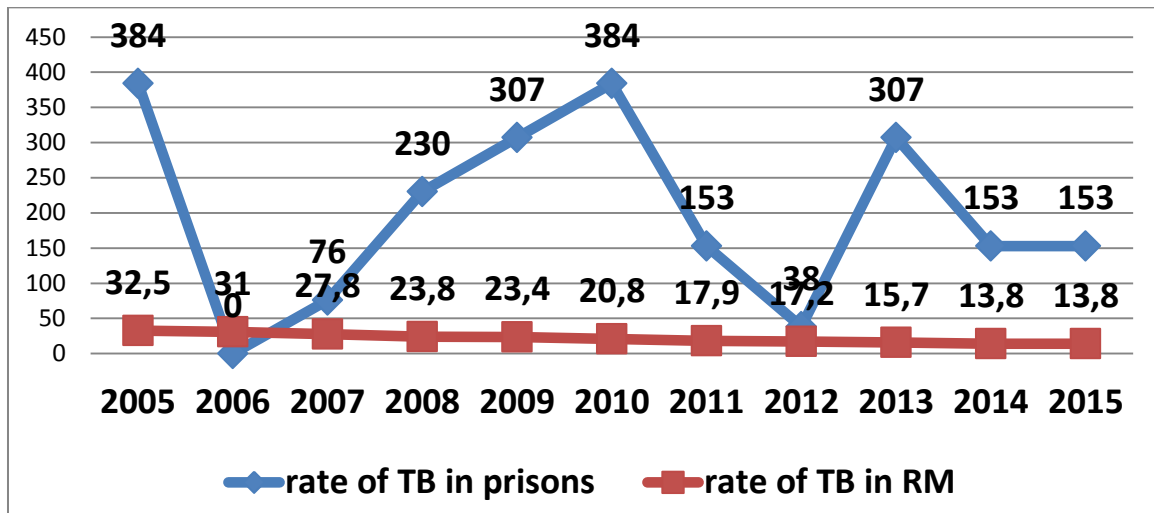


Figure 8. Incidence rate of TB patients in psychiatric institutions and within the general population in Macedonia

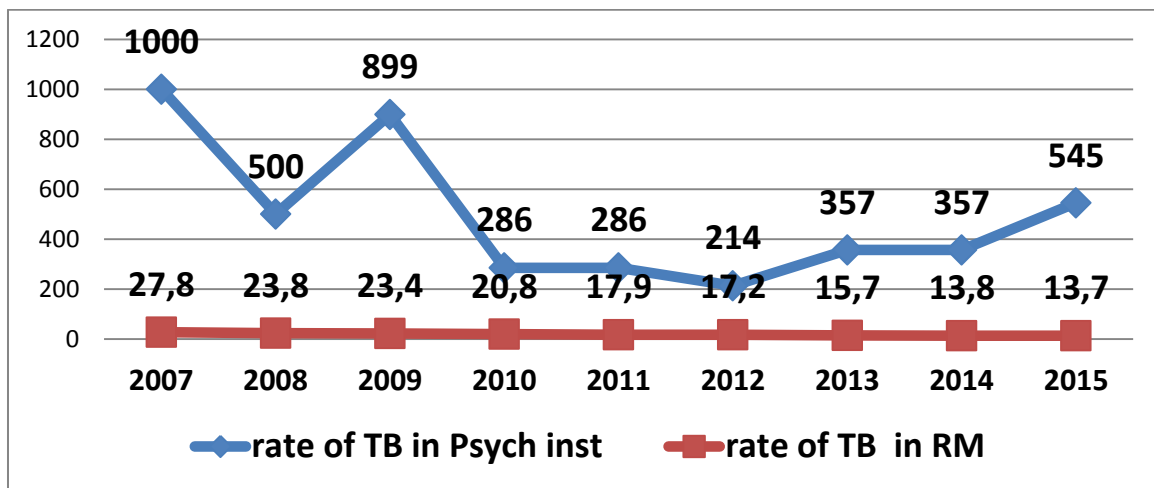


Figure 9. Incidence rate of TB patients among Roma people and among the general population within the Republic of Macedonia

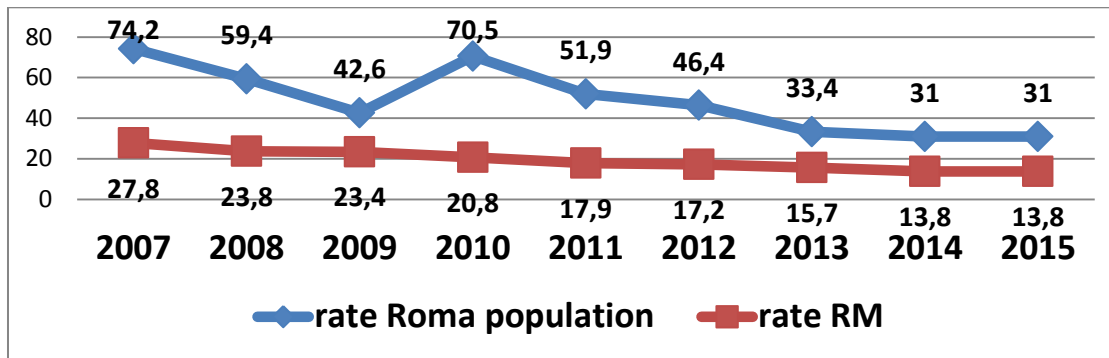
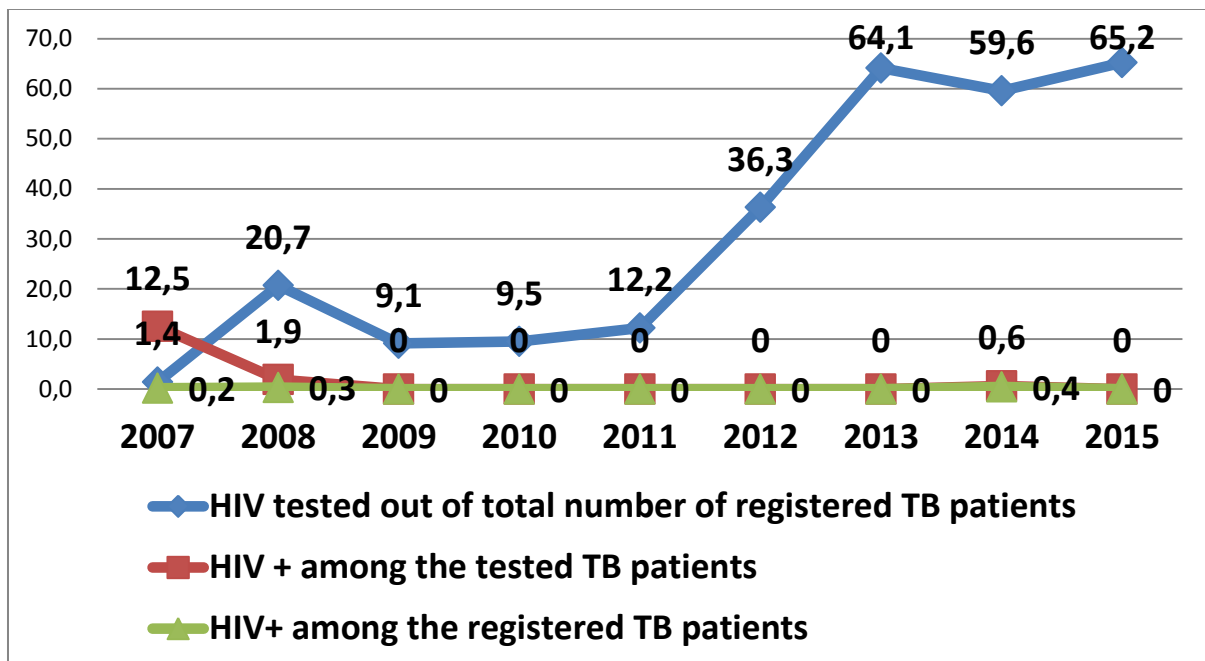


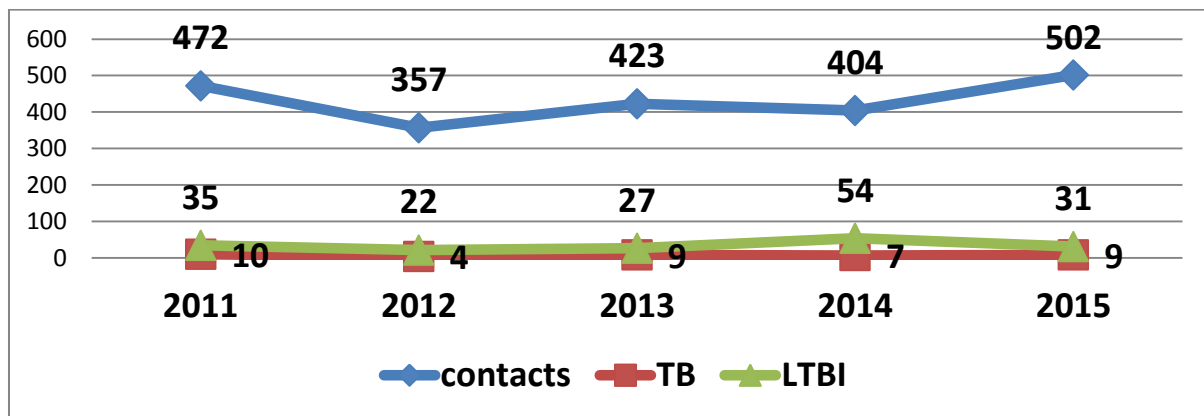
Figure 10. HIV+ among registered TB patients in Macedonia



It is known that the impact of screening for active TB on transmission is limited because transmission rates have already been very low within low-incidence countries. The majority of incident TB cases are generated through reactivation of LTBI acquired abroad or domestically in the distant past.

Even though Macedonia has not entered within low incidence countries yet, we dedicate a lot of our efforts for screening and management of LTBI within risk groups where the risk of progression from LTBI to active disease is the highest (TB contacts (especially children aged < 14 years), people with impaired immune systems due to comorbid conditions, including HIV infection, or immunosuppressive treatments, such as tumour necrosis factor (TNF)- α inhibitors). We are aware that there are a lot of weaknesses within our program for tracking contacts, performing examinations and treating LTBI cases. Our results are shown in figure 11.

Figure 11. The number of TB cases and LTBI among investigated contacts



Within the last year 502 TB contactors were examined, out of whom 31 were with confirmed LTBI and 9 with active TB.

From 2014 we started applying the Quantiferon test for adequate diagnosis of LTBI, especially within the risk groups.

As part of the NTP activities it is necessary to point out that within the Republic of Macedonia due to the reforms in the health care system, the dispensaries for lung diseases and TB have lost their real part in the control of TB. One of the NTP obligations is to redefine the network of health care institutions where the patients have been diagnosed and treated from TB, whereas the centralization process of activities is unavoidable in order to define the responsibilities of all subjects included in the control of TB within Macedonia. In the future it is expected for the GP's to take bigger part in the control of this disease.

The most important challenges for the NTP in Macedonia expected to be dealt with in the future are:

It is considered as very significant to provide sustainability of all past activities and after the finalization of Global Fund at the end of 2016 as well. In that context, it is necessary to obtain bigger political support and aid, better collaboration with NGOs and civil organizations, change of the protocols for TB control among the risk groups, proper management of LTBI, as well as further efforts by medical workers and constant appliance of the latest diagnostic, treatment and prevention standards in fighting against this disease.

References:

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2014. WHO/HTM/TB/2014.08 Geneva, World Health Organization, 2014.
2. Blasi F, Barnes PJ, Gaga M, et al. Future directions for the ERS: presidential plans. *Eur Respir J* 2013; 42: 875–880
3. Broekmans JF, Migliori GB, Rieder HL, et al. European framework for tuberculosis control and elimination in countries with a low incidence. Recommendations of the World Health Organization (WHO), International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD) and Royal Netherlands Tuberculosis Association (KNCV) Working Group. *Eur Respir J* 2002; 19: 765–775.
4. Ali M. Treating tuberculosis as a social disease. *Lancet* 2014; 383: 2195.

5. World Health Organization 67th World Health Assembly. Global strategy and targets for tuberculosis prevention, care and control after 2015. A67/11 Geneva, World Health Organization, 2014.
6. Raviglione MC, Ditiu L Setting new targets in the fight against tuberculosis. *Nat Med* 2013; 19: 263.
7. Towards tuberculosis elimination: an action framework for low-incidence countries. WHO/HTM/TB/2014.13, World Health Organization, 2014.
8. Broekmans JF, Migliori GB, Rieder HL, et al. European framework for tuberculosis control and elimination in countries with a low incidence. Recommendations of the World Health Organization (WHO), International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD) and Royal Netherlands Tuberculosis Association (KNCV) Working Group. *Eur Respir J* 2002; 19: 765–775.
9. D'Ambrosio L, Dara M, Tadolini M, et al. Tuberculosis elimination: theory and practice in Europe. *Eur Respir J* 2014; 43: 1410–1420.
10. Tuberculosis in Europe: From passive control to active elimination. High and low incidence countries. ECDC Evidence brief, World TB Day, 24 March 2015.

IZZIVI PRI NADZORU TUBERKULOZE V DRŽAVI Z ZELO NIZKO INCIDENCO TUBERKULOZE

Petra Svetina

Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

e-pošta: petra.svetina@klinika-golnik.si

Pojavljane tuberkuloze se je v zadnjih dvajsetih letih v Sloveniji močno zmanjšalo, vendar kljub temu izvajamo stalen nadzor nad boleznijo. Prioritete nadzora ter ukrepi so se v zadnjih letih spremenili. Če smo v preteklosti glavno skrb namenili aktivnemu odkrivanju novih primerov bolezni, pravilnemu in zgodnjemu zdravljenju bolezni ter upoštevanjem izvajanja ukrepov aerogene izolacije, nam je sedaj prioriteta aktivno ugotavljanje latentne okužbe z *M. tuberculosis* v določenih skupinah prebivalstva, preprečevanje razvoja odpornih sevov *M. tuberculosis* na protituberkulozna zdravila, ter ugotavljanje mikroepidemij v ranljivih skupinah prebivalstva.

Latentna okužba z *M. tuberculosis*

Ugotavljanje in zdravljenje latentne okužbe z *M. tuberculosis* (LTBO) je eden od zelo pomembnih ukrepov nadzora nad tuberkulozo v državah z nizko in zelo nizko incidenco bolezni.

Priporočeno je sistematično testiranje in zdravljenje LTBO pri:

- osebah okuženih z virusom HIV,
- otrocih in odraslih, ki so bili v stiku z bolnikom s pljučno TB,
- pacientih, ki so kandidati za zdravljenje z inhibitorji TNF alfa,
- pacientih na dializnem zdravljenju,
- pacientih pred predvideno transplantacijo organa ali kostnega mozga,
- pacientih s silikozo.

Sistematično testiranje in zdravljenje LTBO se lahko izvaja pri:

- zapornikih,
- zdravstvenih delavcih,
- migrantih,
- priseljencih iz držav z višjo incidenco TB,
- brezdomcih,
- uživalcih prepovedanih drog.

Ne priporoča se sistematično testiranje in zdravljenje LTBO pri sladkornih bolnikih, osebah, ki prekomerno uživajo alkoholne pijače, kadilcih in pri osebah z nizko telesno težo.

V Sloveniji že več let izvajamo testiranja na LTBO pri osebah, ki so bile v stiku s TB bolniki (t.i. kontakti), pri osebah, ki so kandidati za zdravljenje z inhibitorji TNF alfa, pred predvidenimi transplantacijami in pri osebah okuženih z virusom HIV.

Pri vseh osebah se najprej izključi aktivna TB – usmerjena anamneza , klinični pregled in rentgenogram prsnih organov. Za testiranje na LTBO uporabljamo IGRA teste (izjemoma kožni TST test). Vse osebe, ki so pregledane kot kontakt, pred predvidenim zdravljenjem z inhibitorji TNF alfa in ostali, morajo biti prijavljeni v Register za TB z obrazcema DEL 6 ali DEL 9. Če prejemajo kemoprofilakso, mora biti zaključek kemoprofilaktičnega zdravljenja prav tako javljen v Register za TB z obrazcema DEL 6a ali DEL 9a.

Kemoprofilaktično zdravljenje praviloma traja 3 mesece z rifampicinom in izoniazidom.

Strategija neposrednega nadzorovanega zdravljenja

Najbolj zanesljiva strategija, ki pripomore, da bolniki s TB uspešno zaključijo zdravljenje in strategija, s katero zmanjšamo možnost pojava rezistentnih oblik TB, je DOT (Directly Observed Therapy) oziroma strategija neposredno nadzorovanega zdravljenja. Izvajanje DOT-a zagotavlja ozdravitev in zaključek celotnega režima zdravljenja, daje možnost za prepoznavanja ev. pojava neželenih učinkov ali neprenašanja protituberkuloznih zdravil ter daje priložnost za pravočasno reševanje težav, zaradi katerih pacienti prekinejo protituberkulozno zdravljenje. DOT naj bi bil organiziran za vse TB bolnike, pri katerih nismo prepričani, da bodo redno prejemali protituberkulozna zdravila. DOT je nujen za TB bolnik, ki so oboleli z odpornimi oblikami TB, za bolnike, ki so nesodelujoči ali so v preteklosti že prekinili zdravljenje, za bolnike, ki prekomerno uživajo alkoholne pijače; za brezdomce, za starejše bolnike, za otroke in mladostnike in za psihiatrične bolnike.

Občutljive in ranljive skupine prebivalstva

V državah z zelo nizko incidenco je pomembno odkrivanje bolezni in mikroepidemij v občutljivih in ranljivih skupinah prebivalstva. Občutljive in ranljive življenje bolj ranljive ter so izključene iz zdravstvene in socialne oskrbe. Zato je pomembno sprejeti ukrepe, s katerimi bomo izboljšali zgodnjo diagnostiko bolezni in uspeh zdravljenje, potrebno je izboljšati dostopnost do zdravstvenih storitev, povečati motivacijo in osveščenost teh skupin, za kar je pomembno sodelovanje zdravstvenih in nezdravstvenih organizacij ter celotne skupnosti.

Za vzdrževanje nizke obolevnosti, preprečevanje razvoja bolezni pri rizičnih skupinah prebivalstva in zgodnje ugotavljanje obolevnosti pri občutljivih in ranljivih skupinah prebivalstva je potrebno sodelovanje različnih zdravstvenih delavcev, tako na ambulantnem kot bolnišničnem nivoju, povezovanje specialistov različnih strok, ki obravnavajo skupine prebivalstva, pri katerih je zaradi zdravstvenega stanja verjetnost za razvoj bolezni ob okužbi večja. V strategijo DOT je smiselno vključevanje poleg zdravstvenih delavcev, tudi socialne delavce, vrstnike, javne

delavce, ki se pri svojem vsakodnevne delu srečujejo z ljudmi iz občutljivih skupin prebivalstva. Zaradi trenutne situacije in povečane migracije, je pri obvladovanju nadzora nad tuberkulozo pomembna tako organizacijska kot ekonomska podpora državnih institucij in sodelovanje s sosednjimi državami, ki se srečujejo s podobnimi izzivi.

Viri:

1. Guidelines on the management of latent tuberculosis infection; WHO 2015
2. Guidance on tuberculosis control in vulnerable and hard-to-reach populations; ECDC 2016
3. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2016; ECDC 2016

POMEN REGISTRA ZA TUBERKULOZO

Petra Svetina

Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

E-pošta: petra.svetina@klinika-golnik.si

Uvod

Tuberkuloza je v svetovnem merilu najpogostejša nalezljiva bolezen. V svetu je bilo v letu 2014 9.6 milijonov novih primerov tuberkuloze, od tega 450 000 primerov MDR-TB, 12% bolnikov s tuberkulozo je bilo sočasno okuženih z virusom HIV in 1.6 milijona primerov smrti zaradi tuberkuloze. Bolezen je problem tudi pri otrocih, saj je bilo v letu 2014 pri otrocih milijon primerov bolezni in 140 000 smrti zaradi tuberkuloze. Ocenjuje se, da je z *M. tuberculosis* okužena tretjina svetovnega prebivalstva.

V določenih delih sveta se pojavljanje bolezni, kljub vsem aktivnostim in ukrepim, ki jih podpira Svetovna zdravstvena organizacija, ne zmanjšuje, v nekaterih delih se celo povečuje. Razlogov zato je več, najpomembnejši so slabo načrtovani in/ali izvajani nacionalni programi za tuberkulozo (NPTB), epidemija okužbe z virusom HIV in širjenje odpornih (rezistentnih) sevov *M. tuberculosis*, zaradi nepravilnega zdravljenja ali nedostopnosti ustreznih zdravil.

Nacionalni program za tuberkulozo (NPTB)

NPTB naj bi v posamezni državi predstavljal osnovo za organizacijo nadzora nad to nalezljivo boleznijo. Bistveni segment teh programov naj bi predstavljal strategija DOTS (Directly Observed Treatment, Short-course), ki v ospredje sicer postavlja režim neposredno nadzorovanega zdravljenja tuberkuloze, vendar strategijo enakovredno sestavljajo tudi drugi elementi.

Elementi NPTB so torej:

- ustrezen nadzor nad epidemijo (Surveillance),
- strategija DOTS (Directly Observed Treatment, Short-course),
- trajno zagotovljena zdravila (I. in II. reda) za zdravljenje tuberkuloze (proti-tuberkulozna zdravila -PTZ),
- in ustrezno monitoriziranje NPTB.

Vloga Registra za tuberkulozo v Sloveniji

Nadzor nad epidemijo v Sloveniji vodi državni Register za tuberkulozo (RTB), ustanovljen 1954, ki je ves čas sestavni del Bolnišnice Golnik. Njegova naloga je zbirati in analizirati poročila o odkritih in zdravljenih primerih tuberkuloze v predpisani obliki in obsegu (po Zakonu o zbirkah podatkov s področja zdravstvenega varstva, Uradni list št. 65, 2000).

Poročila v Register za tuberkulozo so dolžni posredovati:

- zdravniki, ki ugotovijo bolezen in vodijo zdravljenje bolnikov s tuberkulozo,
- laboratorijski delavci, ki identificirajo *M. tuberculosis* v materialih odvzetih pri bolnikih,
- obducenti, ki so opravili obdukcije umrlih s tuberkulozo,
- NIJZ (občasno) s podatki o vzrokih umrljivosti in porabi specifičnih zdravil za zdravljenje tuberkuloze.

Analize podatkov v posameznih regijah se opravljajo mesečno in letno, Register opravlja enkrat letno tudi analize uspešnosti zdravljenja in pojava odpornosti za posamezna protituberkulozna zdravila poročilo. Za potrebe epidemiološkega nadzora v Evropi in v svetu, se podatki pošiljajo na ECDC v Stockholm (Evropski center za nadzor bolezni) in Svetovni zdravstveni organizaciji (SZO)..

RTB nadzoruje tudi preglede določenih rizičnih skupin na latentno okužbo z *M. tuberculosis* in sicer preglede kontaktov z bolniki s tuberkulozo, preglede oseb pred predvidenim zdravljenjem z inhibitorji TNF alfa, preglede oseb okuženih z virusom HIV in preglede oseb pred transplantacijo. RTB v sodelovanju z Nacionalnim referenčnim laboratorijem za tuberkulozo (NRLTB) ugotavlja in nadzoruje primere mikroepidemij.

RTB v primerih mikroepidemij sodeluje z zdravniki in drugim zdravstvenim osebjem na terenu za razjasnitev vseh pomembnih povezav med bolniki in posledično tudi z osebami z latentno tuberkulozno okužbo.

RTB vsaj enkrat letno obvešča vse zdravstveno osebje, ki sodeluje v programu odkrivanja in zdravljenja bolnikov s tuberkulozo o vseh novostih in spremembah v programu nadzora nad epidemijo tuberkuloze. V okviru NPTB pod okriljem RTB izvajamo tudi redna izobraževanja zdravstvenih in laboratorijskih delavcev, ki delajo na področju tuberkuloze.

Zaključek

V Sloveniji, kljub upadu incidence tuberkuloze, v okviru Nacionalnega programa za tuberkulozo in pod okriljem Registrar za tuberkulozo, izvajamo stalen nadzor nad boleznijo. V zadnjih letih smo posodobili spremljanje in nadzor bolnikov s tuberkulozo, centralizirali in posodobili smo laboratorijsko diagnostiko in zdravljenje, uvedli smo nove metode v epidemiologiji (molekularna genotipizacija), poleg tega dosledno pregledujemo kontakte (osebe, ki so bile v stiku z bolnikom z aktivno boleznijo) in izvajamo preventivno zdravljenje latentne okužbe s *Mycobacterium tuberculosis* (LTBO) ter izvajamo aktivno iskanje bolnikov s tuberkulozo v rizičnih skupinah prebivalstva (brezdomci, starostniki, otroci, priseljenci, okuženi z virusom HIV, osebe z oslabiljeno imunostjo, izpostavljeni zdravstveni in laboratorijski delavci). Latentno tuberkulozno okužbo iščemo tudi pri bolnikih, ki so kandidati za zdravljenje z nekaterimi biološkimi zdravili. kandidati za transplantacijo ter pri osebah okuženih z virusom HIV.

Centralizacija zbiranja poročil je nujna, zaradi zmanjševanja možnosti napak in pomanjkanja informacij ter boljšega spremljanja uspeha zdravljenja in izvajanja ukrepov za omejitev bolezni in LTBO.

KVALITETNI KLINIČNI UZORCI-DOBRA BAZA ZA LABORATORIJSKU DIJAGNOSTIKU TUBERKULOZE

Vera Katalinić Janković¹, Ljiljana Žmak²

¹ Ministarstvo zdravlja, Zagreb, Hrvatska

² Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb, Hrvatska

Za laboratorijsku potvrdu sumnje na određeni patogen odavno postoji pravilo da je rezultat laboratorijskog rada onoliko dobar koliko je dobar i sam uzorak koji je došao na analizu. Ova rečenica premda zvuči jednostavno u sebi krije cijeli niz preporuka i tehnika koje stoje iza onoga što nazivamo kvalitetnim kliničkim uzorkom. Zlatni standard uzimanja uzorka govori o tome da uzorak mora biti uzet s mjesta infekcije, u adekvatno vrijeme te u dovoljnoj količini. Naravno ovdje moramo pridodati i vrlo važan faktor o kojem ovisi kvaliteta uzoraka, osobito onih koji se ne uzimaju u samome laboratoriju, a to je prikladno pakiranje, slanje i skladištenje uzoraka prije obrade.

Kada govorimo o laboratorijskoj dijagnostici tuberkuloze uzorak koji se najčešće susreće u laboratoriju je naravno iskašljaj, premda na obradu može biti poslan uzorak iz bilo kojeg dijela tijela ovisno o sijelu tuberkuloze. Osim uzoraka iz respiratornog trakta (iskašljaji, aspirati bronha i traheje, BAL) najčešće se susreću pleuralni punktati, urini, punktati limfnih čvorova i likvori. Za svaki pojedini uzorak postoje standardi i preporuke o načinu uzimanja, količini te potrebnom broju uzoraka kako bi osigurali optimalnu detekciju bacila tuberkuloze (Tablica 1.). Tako je primjerice za iskašljaj preporuka da se na analizu pošalju dva do tri uzorka jutarnjeg iskašljaja. Premda je *M. tuberculosis* moguće detektirati i u iskašljajima koji su uzeti tijekom dana, pokazano je da je koncentracija bacila u iskašljaju najveća ujutro nakon buđenja. Bolesnik bi uzorak iskašljaja trebao dati iz dubine pluća u sterilnu posudu širokog grla s čepom na navoj i s pravilno, čitko napisanim imenom i prezimenom. Popratna uputnica mora biti dostavljena zasebno. Ukoliko uzorak stigne razliven, potrebno ga je odbaciti kao neadekvatan. Uzorak iskašljaj ne smije se uzimati u laboratoriju bez sobe opremljene s negativnim tlakom, radi mogućeg prijenosa bacila aerosolom. Izgled samog sputuma može varirati od gustog i mukoidnog do prozirnog s primjesama gnoja. Uzorak je važno nakon davanja što prije obraditi, a ako to nije moguće, potrebo ga je staviti u hladnjak na +4°C. Ukoliko bolesnik nije u mogućnosti dati uzorak iskašljaja moguće je uzeti uzorak iz pluća bronhoskopski. Međutim, potrebno je voditi računa o tome da pacijenti sumnjivi na aktivnu tuberkulozu na bronhoskopiju odlaze nakon pacijenata s drugim indikacijama radi moguće kontaminacije uzoraka ili infekcije samih bolesnika.

Kod testiranja uzoraka na latentnu infekciju s *M. tuberculosis* važno je pridržavati se uputa proizvođača test. Za potrebe detekcije latentne infekcije iz uzoraka krvi u Europi se najviše koristi Quantiferonski test. Za ovaj test je važno izvaditi točno 1 mL krvi u svaku testnu epruvetu te slijediti precizno upute o dužini trajanja inkubacije te pravovremenoj dostavi epruveta laboratoriju na analizu.

Važno je napomenuti kako se točne upute za uzimanje uzoraka za dijagnostiku tuberkuloze moraju jasno objasniti i bolesnicima koji iste daju kod kuće te svim zdravstvenim djelatnicima koji sudjeluju u uzimanju i slanju uzoraka u laboratorij.

Kvalitetan klinički uzorak nije samo dobra baza, već je i glavni preduvjet za pravovremenu i točnu laboratorijsku dijagnostiku tuberkuloze.

Tablica 1. Preporuke o količini i načinu uzimanja pojedinih uzoraka za laboratorijsku dijagnostiku tuberkuloze

Vrsta uzorka	Količina/ kvaliteta	Preporuka za uzimanje, čuvanje i transport	Napomena
Stolica	1 – 5 g	Što prije dostaviti u laboratorij.	Pregled se preporuča kod HIV pozitivnih osoba
Biopsija tkiva	Što veća količina	Aseptično uzeti u sterilnu posudicu i dodati 2 kapi fiziološke otopine da se spriječi sušenje	Ne stavljati uzorke u formalin
Punktati (pleuralni, perikardijalni, peritonealni i dr.)	Što veća količina, najmanje 10 – 15 ml	Preporuča se uzeti u epruvetu sa antikoagulantnim sredstvom (heparin, natrijev citrat)	Koža se dobro dezinficira. Po uzimanju se epruveta obavezno nekoliko puta okrene.
Iskašljaj (sputum), inducirani iskašljaj	3 – 5 ml jutarnji iskašljaj	Potreban je pregled dva/tri jutarnja iskašljaja.	Iskašljati iz dubine pluća
Aspirat bronha, BAL	Što veća količina (najmanje 3 ml)	Uzorak ne smije sadržavati veću količinu anestetika.	
Koštana srž	Što veća količina (oko 5 ml)	Epruvetu sa sredstvom protiv zgrušavanja (heparin, natrijev citrat) ili u posebnu epruvetu (Isolator tube, Oxoid)	Pregled se preporuča kod HIV pozitivnih osoba

Krv	10 ml	Uzeti u epruvetu sa sredstvom protiv zgrušavanja (heparin, natrijev citrat) ili u posebnu epruvetu (Isolator tube, Oxoid)	Preporuča se samo kod sumnje na milijarnu tuberkulozu te HIV pozitivnih osoba
Likvor	Što veća količina (ne manje od 2 ml)	Uzeti u sterilnu epruvetu bez sredstva protiv zgrušavanja.	Ako nije moguće uzeti jednom svu količinu preporuča se višekratna punkcija
Punktat apscesa, gnoj	Što veća količina	Punktat staviti u sterilnu epruvetu.	
Bris/punktat rane	Što veća količina tkiva iz rane ili tekućine iz rane	Vlažni bris se preporuča samo u primjeru kad nije moguća biopsija tkiva ili aspirat tekućine iz rane	Suhi bris nije prihvatljiv.
Urin	10 – 40 ml jutarnjeg urina (srednji mlaz), ili sav urin uzet suprapubičnom punkcijom	Potreban je pregled 3 – 5 jutarnjih urina, uzetih u različite dane	Obavezna prethodna toaleta. Urin čim prije dostaviti u laboratorij.
Želučani sok, lavat	5-10 ml	Preporuča se tri jutarnja uzorka čim se bolesnik probudi te barem osam sati nakon jela	Uzorku se treba dodati Natrij-bikarbonat (neutralizacija pH) i odmah dostaviti u laboratorij

POMEN TEKOČIH GOJIŠČ IN MOLEKULARNO-BIOLOŠKIH TESTOV PRI DOKAZOVANJU BACILOV TUBERKULOZE

Importance of liquid media and molecular methods for detection of tubercle bacilli

Manca Žolnir-Dovč

Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, Laboratorij za mikobakterije, Golnik 36, SI-4204 GOLNIK, SLOVENIJA, tel: +386 425 69 408 (409), fax: +386 425 69 117, e-pošta: manca.zolnir@klinika-golnik.si

Uvod

Diagnoza tuberkuloza (TB) je potrjena le v primeru osamitve bacilov tuberkuloze na gojišču pri bolniku s kliničnimi znaki za TB. Mikroskopski pregled kužnine bolnika je najhitrejša laboratorijska metoda za odkrivanje bolnikov s TB. Vendar je slabo občutljiva in ne loči med bacili TB in netuberkuloznimi mikobakterijami, kakor tudi ne med mrtvimi in živimi bacili. Molekularno biološke metode oz. testi pomnoževanja nukleinskih kislin bacilov TB (angl. amplification tests) so tako po hitrosti izvedbe kot tudi po občutljivosti druga najhitrejša metoda za laboratorijsko diagnostiko TB, katere največja pomanjkljivost je visoka cena in prav tako nezmožnost razlikovanja med živimi in mrtvimi bacili. Prav zato je zlati standard laboratorijske diagnostike TB še vedno kultura, to je osamitev bacilov TB na gojiščih. Po priporočilih Svetovne zdravstvene organizacije kakor tudi Evropskega centra za nalezljive bolezni iz Stockholma je potrebno vsako kužnino nacepiti najmanj na 1 tekoče in 1 trdno gojišče. Tako izolirani bacili TB omogočajo testiranje občutljivosti (klasične ali molekularne metode), kakor tudi molekularno genotipizacijo kohovega bacila. Čeprav je testiranje občutljivosti in tipizacija možna tudi neposredno iz kužnine (praviloma le, če je kužnina mikroskopsko pozitivna), pa veliko bolj standardizirano testiranje iz bakterijskih izolatov.

Namen našega prispevka je analizirati kakovost laboratorijske diagnostike TB v Laboratoriju za mikobakterije Klinike Golnik v letu 2015 in rezultate hitrosti in zanesljivosti posamezne metode primerjati s tujimi časovnimi normativi, kako tudi s podobnimi analizami iz preteklih letih opravljenimi v našem laboratoriju.

Metode

V letu 2015 smo v Laboratorij za mikobakterije Klinike Golnik dobili 8557 različnih kužnin bolnikov iz vse Slovenije na laboratorijsko diagnostiko TB in ostalih mikobakterioz. Kot prva preiskava je bil opravljen mikroskopski pregled kužnin in barvanje po auraminu. Pri večini novo odkritih mikroskopsko pozitivnih bolnikov je bil narejen molekularni test Xpert MTB/RIF (GeneXpert – kratko GX, Cepheid, Solna, Švedska), da smo ločili med bacili iz sklopa *Mycobacterium tuberculosis* (MTC) in netuberkuloznimi mikobakterijami. Test GX je bil narejen tudi pri vseh kužninah, kjer je test naročil zdravnik, ali pa je to odredila odgovorna oseba v našem laboratoriju na

podlagi sumljivega mikroskopskega pregleda. Rezultate vseh novo odkritih bolnikov s TB smo telefonsko javili zdravniku, ki je poslal vzorec na preiskave, kakor tudi vodji Nacionalnega programa za TB Golnik oz. osebi, ki jo nadomešča. Podobno smo postopali tudi pri bolnikih, pri katerih so bacili TB porasli samo na gojiščih, mikroskopski pregled in test GX pa je bil negativen. Vsako kužnino smo zasadili na dve trdi gojišči (gojišče Loewenstein-Jensen (LJ) in gojišče Stonebrink (ST)), ter tekoče gojišče MGIT, ki smo ga vstavili v avtomatiziran sistem BACTEC MGIT 960 (BD, Sparks, ZDA). Ta aparat vsako uro presveti vse epruvete in izloči tiste, pri katerih je zaznal porabo kisika v tekočem gojišču. Iz vsake kulture smo naredili mikroskopski razmaz in po potrebi subkulturo na gojišče LJ. Pozitivne kulture smo čitali enkrat na teden in enkrat tedensko delali tudi test občutljivosti v tekočih gojiščih BACTEC MGIT 960 na 5 antituberkulotikov I. reda (izoniazid (H), rifampicin (R), pirazinamid (P), etambutol (E) in streptomycin (S)). Pri vseh pozitivnih kulturah smo naredili molekularni test GenoType Mycobacterium MTBc (kratko test GTM MTc, Hain Lifediagnostic, Nehren, Nemčija), ki razlikuje med vrstami mikobakterij iz sklopa MTc. Po potrebi smo pred testom GTM MTc delali še hitri kromatografski imunološki test TBc ID (BD, Sparks, ZDA), ki loči samo med bacili tuberkuloze in netuberkuloznimi mikobakterijami. Iz ekstrakta nukleinskih kislin za test GTM MTc smo delali tudi molekularno genotipizacijo MIRU VNTR 24 lukus (kratko MIRU VNTR) z mednarodno standardiziranim diagnostičnim kompletom (GenoScreen, Lille, Francija). Rezultate celotne laboratorijske diagnostike vključno s testom občutljivosti in rezultati genotipizacije MIRU VNTR smo poročali s posebnim obrazcem Del 4 v slovenski Register za TB Golnik.

V retrospektivno analizo hitrosti in kakovosti laboratorijske diagnostike TB v našem laboratoriju smo zajeli prvo kužnino pri vsakem od 94 na novo registriranih bolnikov. Iz prvega pozitivnega izolata pri bolniku smo naredili test GTM MTc, test občutljivosti in MIRU VNTR genotipizacijo. Tako smo od datuma sprejema vzorca v laboratorij do izdaje posameznega izvida računali tudi čase potrebne za izdajanje izvidov. Te rezultate smo primerjali z našimi rezultati iz preteklih letih in objavljenimi normativi Centra za nalezljive bolezni iz Atlante (CDC).

Rezultati

Med 1.1. in 31.12.2015 smo v Laboratoriju za mikobakterije Klinike Golnik sprejeli 8557 kužnin za potrjevanje in izključevanje aktivne TB, ostalih mikobakterioz povzročenih z netuberkuloznimi mikobakterijami, za diagnostiko nokardij, kakor tudi za spremljanje uspešnosti zdravljenja zgoraj omenjenih bolezni. V 12 mesecih smo z mikrobiološkimi in molekularno-biološkimi metodami na novo dokazali aktivno TB pri 94 na novo odkritih bolnikih. Z mikroskopskim pregledom smo TB odkrili pri 52 od 94 bolnikov (55,9%) ne glede na vrsto kužnine.

Test pomnoževanja nukleinskih kužnin GX je bil delan iz prve kužnine pri 54 od 94 novo odkritih TB bolnikih. Kar v 49 primerih (90,7%) je bil pozitiven in samo iz 5 vzorcev (9,3%) negativen. Pri 13 od 94 bolnikov je bil GX pozitiven iz druge kužnine in pri 27 bolnikih ni bil naročen noben test GX, kar je na nek način razumljivo zaradi relativno visoke cene tega testa.

Pri 66 od 94 bolnikov (70,2%) je bila diagnoza TB potrjena iz vzorcev iz dihal: pri 55 bolnikih iz izmečka, inducirane ga izmečka, ali aspirata zgornjih dihal, pri 6 bolnikih iz

izpirka bronha, 3-krat iz perbronhialne punkcije odvzete pri bronhoskopiji, ter v 2 primerih iz izpirka želodca oz. želodčnega soka (1x pri otroku, 1x pri odrasli osebi) (Graf 1), V 28 primerih (29,8%) pa so bacili TB najprej porasli iz nerespiratornih vzorcev in sicer: 11x iz plevralnega izliva, 8x iz bezgavk, 3x iz urogenitalnih kužnin (2x urin, 1x biopsija sluznice sečil), 3x oiz diska hrbtenice, 1x iz likvorja in 1x iz punktata iz zapestja (Graf 1).

Graf 1: V Laboratoriju za mikobakterije je bila diagnoza aktivne TB dokazana s kultivacijo pri 94 bolnikih iz naslednjih prvih kužnin.

94 bolnikov diagnoza TB potrjena s pozitivno kultivacijo	
Prva kužnina:	
VZORCI IZ DIHAL 66 BOLNIKOV (70,2%):	VZORCI IZVEN DIHAL 28 BOLNIKOV (29,8%) :
55x izmeček, ind. izmeček, aspirat zg.dihal	11x plevralni izliv
6x izpirek bronha	8x bezgavka
3x druge bronhoskopske kužnine (PBP)	3x urin/bipsija sluznice
2x aspirat želodca, želodčni sok	3x disk hrbtenice
	1x likvor
	1x punktata zapestja
	1x biopsija nosne sluznice

Posamezne stopnje laboratorijske diagnostike in predvsem časovne normative kultivacije smo primerjali z normativi Centra za nalezljive bolezni iz Atlante (angl. CDC) in našimi rezultati v letih 1995, 1999, 2003 in 2007. Analiza je pokazala (Tabela 1), da se je v preteklem letu predvsem podaljšal čas do odkrivanja rasti bacilov TB na gojiščih in pa čas, ki je potreben za izdajo testa občutljivosti. Če smo v letu 2007 od sprejema vzorca v laboratorij do izdaje končnega izvida testiranja občutljivosti na 5 antituberkulotikov I. reda potrebovali povprečno 29 dni, se je ta čas v letu 2015 podaljšal na 34 dni. Čas do izdaje prvega pozitivnega izvida kultivacije pa je ostal približno enak kot v letih 2003 in 2007, kar je še vedno hitreje kot to zahtevajo priporočila Centra za nalezljive bolezni iz Atlante (Tabela 1).

V letu 2015 smo začeli tudi z beleženjem časa, ki je potreben za izdajo rezultata genotipizacije MIRU VNTR, kar je pomemben korak naprej v izboljšanju kakovosti na tem področju laboratorijskega dela. V prejšnjih letih tega nismo beležili, kar je razvidno tudi iz tabele 1. Povprečen čas od sprejema vzorca v laboratorij do

poročanja tipizacije v Register za TB Golnik je izračunan le za 84 od 94 vzorcev novo odkritih TB bolnikov, saj do 10.3.2016 za preostalih 10 bolnikov genotipizacija še ni končana.

Tabela 1: Hitrost laboratorijske diagnostike TB v Laboratoriju za mikobakterije Klinike Golnik v letih 1995, 1999, 2003, 2007 in 2015 primerjalno s priporočili Centra za nalezljive bolezni CDC iz Atlante.

	Normativ CDC (ZDA)	1995	1999	2003	2007	2015
Mikroskopski pregled	v 24 urah	v 8 urah	v 8 urah	v 8 urah	v 8 urah	v 8 urah
Detekcija rasti	v 14 dneh	?	12 dni	11 dni	?	17 dni
Izdan MT rezultat kulture	v 21 dneh	39 dni	32 dni	21 dni	19 dni	20 dni
Izdan test občutljivosti	v 28 dneh	69 dni	28 dni	26 dni	29 dni	34 dni
Izdan rezultat genotipizacije	čim hitreje	nismo delali	nismo delali	?	?	28 dni*

Opomba: *izdan za 84 od 94 izolatov

Diskusija

Visoko občutljivi, hitri in zanesljivi diagnostični testi so poleg visoko usposobljenega in profesionalnega osebja najboljša osnova vsake kakovostne laboratorijske diagnostike kjerkoli v svetu. Še posebej pa to velja za TB, kjer je še vedno precej dela ročnega in je zaradi kužnosti bolnikov zelo pomembno, da rezultate čim hitreje poročamo zdravniku, ki bolnika zdravi.

Obvezno zasajanje vseh kužnin tako na tekoča kot tudi na trda gojišča je že tri desetletja stara doktrina, ki je pomembno povečala občutljivost kulture in skrajšala čas, ki je potreben do osamitve bacilov TB na gojiščih. Osamitev bacilov TB na gojiščih namreč še vedno ostaja zlati standard diagnostike TB, čeprav se je ob odkritju molekularno-bioloških testov napovedovalo, da bodo te metode postopno zamenjale klasične teste. A to se do danes še ni uresničilo. Molekularno-biološke metode so še vedno slabše občutljive od kulture in ne ločijo med mrtvimi in živimi bacili TB. Osamitev bacilov še vedno potrebujemo tudi za testiranje občutljivosti, saj še ne poznamo vseh mehanizmov odpornosti bacilov. Tretji razlog pa so metode genotipizacije bacilov TB, ki dajejo boljše rezultate, če jih tipiziramo iz čistih kultur kot neposredno iz kužnin. Z uporabo avtomatiziranih sistemov za odčitavanje tekočih gojišč se je v zadnjih treh desetletjih pospešila osamitev bacilov, kakor tudi testiranje občutljivosti. Molekularno-biološki testi pa so v povezavi s klasičnimi metodami predvsem poenostavili identifikacijo mikobakterij, ter ključno pripomogli k izboljšanju zanesljivosti laboratorijske diagnostike TB.

S pričujočo analizo laboratorijske diagnostike TB v letu 2015 se je pokazalo, da se je v preteklem letu v našem laboratoriju predvsem poslabšal čas, ki je potreben, da odkrijemo rast bacilov na/v gojišču in pa čas, ki je potreben od sprejema vzorca pa do izdaje rezultata testa občutljivosti. Nekatere od razlogov poznamo. Kot prvega lahko navedemo upokojitev starejših laboratorijskih delavcev, ki so bili prej stalno zaposleni na delovnem mestu »čitanja kultur« in so izvajali tudi teste občutljivosti. Drug pomemben dejavnik je uvedba kroženje na novo zaposlenih delavcev na različnih delovnih mestih v laboratoriju za mikobakterije, kar olajša delo v primeru izpada delavcev, po drugi strani pa zagotovo podaljša čas do izločanja pozitivnih kultur in izdaje izvidov. Potrebno bo razjasniti tudi, zakaj v nekaterih vzorcih v tekočem gojišču MGIT bacili TB niso porasli. Zavedamo se, da imamo skoraj vsako leto kakšen izolat bacilov, ki v tekočih gojiščih sploh ne raste. Neobičajno pa je, da je bilo v lanskem letu takšnih izolatov kar precej. Potrebna bo torej še bolj poglobljena analiza, da odkrijemo še druge dejavnike, ki so prispevali k upočasnitvi tega dela diagnostike.

Najbolj razveseljivo v analizi našega dela v letu 2015 pa je, da se ni podaljšal povprečni čas do izdaje pozitivnega rezultata kultivacije, ki je najpomembnejši od vseh. Le-ta je za leto 2015 znašal 20 dni in je povsem primerljiv z rezultati iz našega laboratorija v letu 2003 in 2007. Še posebno spodbudno pa je, da je ta čas še vedno za en dan krajši, kot pa to zahtevajo priporočila CDC iz ZDA.

Kar se tiče zanesljivosti diagnostike TB smo v Laboratoriju za mikobakterije Golnik v zadnjih 16 letih ogromno naredili. Vseh 16 let vse pozitivne izolate kontroliramo tudi na možnost navzkrižne kontaminacije vzorca z aerosolom, ki nastane pri dekontaminaciji in homogenizaciji pozitivnih vzorcev. V letu 2001 smo tako preprečili izdajo kar 4 lažno pozitivnih izvidov (1,3%) v 2 laboratorijih v Sloveniji. Od leta 2002 v našem laboratoriju pred poročanje zdravniku vse pozitivne rezultate kultivacije avtomatsko preverimo tudi na možnost navzkrižne kontaminacije. Prve tovrstne analize smo na začetku opravljali z metodo RFLP *IS6110*, ki pa je zelo zahtevna za izvedbo in posledično počasna. Zato smo letu 2009 vpeljali metodo MIRU VNTR, ki daje rezultate tipizacije lahko že v 3 dneh in zanjo ne potrebujemo toliko DNK. V letu 2015 smo začeli s pospešenim izvajanjem in poročanjem, ter beleženjem časa, ki je poteče od sprejema vzorca pa do poročanja genotipa Registru za TB Golnik. V omenjenem letu je tako povprečni čas poročanja za 84/94 vzorcev znašal 28 dni. To je zelo dober rezultat, če upoštevamo dejstvo, da je vse delano ob običajnem rutinskem delu. Žal pa z enakim tempom nismo uspeli genotipizirati vseh izolatov (manka še tipizacija 10 od 94 izolatov iz konca leta 2015).

Zaključek

Hitrost, občutljivost in zanesljivost so trije najpomembnejši delavniki kakovostne laboratorijske diagnostike. Uporaba avtomatiziranih sistemov s tekočimi gojišči za osamitev bacilov na gojiščih in za testiranje občutljivosti, ter molekularno-bioloških testov za neposredno odkrivanje bacili TB v kužninah in za čim hitrejšo identifikacijo mikroorganizmov na/v gojiščih, je v zadnjih petindvajsetih letih močno spremenila in predvsem pospešila delo laboratorijih za mikobakterije. Metode molekularne genotipizacije so omogočile, da je laboratorijska diagnostika TB veliko bolj zanesljiva kot pred 20. leti, saj je v precej kratkem času možno sumljive vzorce pregledati tudi na prisotnost navzkrižnih kontaminacij. Kljub vsemu napredku pa za sedaj ostaja

osamitev bacilov TB na gojiščih še vedno zlati standard laboratorijske diagnostike TB kakor tudi netuberkuloznih mikobakterioz.

Literatura

- CDC - Centers for Disease Control and Prevention, 2005. Controlling tuberculosis in the United States: recommendations from American Thoracic Society, CDC, and the Infectious Diseases Society of America. MMWR 54 (No. RR-12): 43.
- ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control / WHO Regional Office for Europe. Tuberculosis surveillance in Europe 2015. Stockholm, European Centre for Disease Prevention and Control, 2015.
- Heiferts L. Mycobacteriology laboratory. Clin Chest Med 1997; 18:35-54.
- Žolnir-Dovč M. Molekularno epidemiološka raziskava izolatov bakterije *Mycobacterium tuberculosis* v Sloveniji : Doktorska naloga. Ljubljana; 2004: 21- 95.
- Pai M, Dowdy D. Tuberculosis: progress and challenges in product development and delivery. Lancet Respir Med 2014; 2: 25-7
- Žolnir-Dovč M, Bidovec Stojković U. Laboratorijska diagnostika in molekularna epidemiologija tuberkuloze V: Beović B (ur.), Sterle F (ur.), Tomažič J (ur.). Okužbe pri starostnikih : novosti. Ljubljana: Sekcija za protimikrobno zdravljenje SZD: Klinika za infektivne bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center: Katedra za infektivne bolezni in epidemiologijo MF, 2010: 197-203.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Mastering the basics of the TB control: Development of a handbook on TB diagnostic methods. Stockholm: ECDC; 2011: 1-101.

RAZNOLIKOST BACILOV TUBERKULOZE V SLOVENIJI IN NJIHOV POMEN

Urška Bidovec-Stojkovič

Laboratorij za mikobakterije, Univerzitetna Klinika za pljučne bolezni in alergijo
Golnik, Golnik 36, 4204 Golnik, T: 04 25 69 411, F: 04 25 69 117,

e-pošta: urska.bidovec@klinika-golnik.si

Geografska razširjenost tuberkuloze v Sloveniji nakazuje njeno razpršenost po celotni državi. Po pričakovanjih je njena največja pojavnost v največjih slovenskih krajih (Ljubljana, Maribor, Kranj, Koper...), najmanj pa se pojavlja na območju Krasa, Kozjaka, Zgornje Dravske doline, na Koroškem in na območju J dela Bele krajine. Slovenija ima veliko prednost pred ostalimi evropskimi državami, saj je po velikosti med manjšimi, zato je nadzor nad tuberkulozo lahko učinkovitejši. Poleg Nacionalnega referenčnega laboratorija za mikobakterije na Golniku, ima le še dva laboratorija v državi, kjer se izvaja izolacija mikobakterij na primarni ravni (mikroskopski pregled kužnin in kultivacija mikobakterij na gojiščih). Mreža nadzora nad tuberkulozo je zaradi naše majhnosti in organiziranosti zelo učinkovita. V Nacionalnem referenčnem laboratoriju za mikobakterije na Golniku se vsi izolati bacilov tuberkuloze v državi identificirajo, prav tako se vsem izolatom novoodkritih bolnikov določi občutljivost za proti tuberkulozna zdravila, kot tudi genotip. Z metodami genotipizacije se torej določi njihova raznolikost.

Na Golniku se zdravi približno 70 % vseh bolnikov s tuberkulozo v Sloveniji in tudi zato je učinkovitost nadzora nad tuberkulozo lahko boljša kot v drugih državah. Hkrati se nahaja v Kliniki Golnik tudi Register za tuberkulozo, kjer se zbirajo in analizirajo epidemiološki podatki bolnikov s tuberkulozo. Centraliziranost vseh treh enot (laboratorij, bolniški oddelek, register) omogoča kar največjo učinkovitost nadzora nad tuberkulozo v naši državi. Začetki učinkovitega nadzora nad tuberkulozo v Sloveniji segajo v leto 1996, ko je bil popolnoma prenovljen Nacionalni program za nadzor nad tuberkulozo imenovan »Program obvladovanja tuberkuloze«. Takrat so koordinator za tuberkulozo v Sloveniji, vodja bolniškega oddelka in vodja laboratorija za mikobakterije, postavili nove smernice, tako na področju diagnostike, kot tudi zdravljenja in epidemiologije bacilov tuberkuloze. Pravilno načrtana pot je obrodila sadove v prihajajočih letih, saj se je pojavnost tuberkuloze v državi znižala iz 28,27 novoodkritih bolnikov s tuberkulozo / 100.000 prebivalcev v letu 1996 na 6,98 novoodkritih bolnikov s tuberkulozo / 100.000 prebivalcev v letu 2014 (podatki Registra za tuberkulozo Golnik).

Metoda izbora tipizacije bacilov tuberkuloze za ugotavljanje njihove raznolikosti v Sloveniji je bila na začetku metoda polimorfizma dolžine restriksijskih fragmentov (angl. Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) . V vsakdanje delo je bila uvedena v letu 1999. Metoda je bila takrat v svetu že uveljavljena (van Embden in sod., 1993), kasneje so razvili še računalniški program za njeno analizo (GelCompar današnji Bionumerics) in postopno so Nizozemci ustvarili veliko genotipizacijsko banko podatkov (Heersma in sod., 1998). Tako je metoda RFLP postala prva mednarodno standardizirana metoda genotipizacije, ki jo je Slovenija v letu 1999 kot

četrti država na svetu izvajala na nacionalnem nivoju in rezultate epidemiološko zanimivih izolatov pošiljala tudi v evropsko bazo tovrstnih podatkov, to je na Nizozemsko. To so bili prvi začetki ugotavljanja raznolikosti in odkrivanja prenosa bacilov tuberkuloze v Sloveniji in s to metodo so bili opisani najpomembnejši dejavniki tveganja za obolenje s tuberkulozo. Dokazani so bili do tedaj neznan prenos bacilov tuberkuloze (prenos z bronhoskopom, okužbe zdravstvenih delavcev), razjasnjene so bile mnoge mikroepidemije v državi in gostinski lokali so bili prepoznani kot najpomembnejše in najpogostejše mesto, kjer so se prenos dogajali. Metoda sama se je pokazala za zelo učinkovito in bila v veliko pomoč epidemiološki službi pri nadzoru tuberkuloze (Žolnir-Dovč in sod., 2001). Z razvojem novih genotipizacijskih metod smo tudi na Golniku želeli slediti sodobnim smernicam in v letu 2003 dopolnili bazo RFLP genotipov s spoligotipizacijo. Podatke spoligotipizacije lahko prikažemo na več možnih načinov: slikovno, binarno ali kot oktalni zapis, kar je pripomoglo k lažji mednarodni prepoznavnosti rezultatov te tipizacijske metode (Dale in sod., 2001; Sebban in sod., 2002). Spoligotipizacija je za razliko od metode RFLP pokazala možnost razlikovanja posameznih vrst iz sklopa *M. tuberculosis*. Tako imajo zelo značilen in med seboj različen spoligovzorec izolati *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. caprae*, *M. africanum*, *M. microti* in *M. canetti* (Streicher in sod., 2007; Gori in sod., 2005; van Embden in sod., 2000). Leta 2006 je bila na osnovi 39.295 izolatov iz sklopa *M. tuberculosis* iz 122 držav sveta, osnovana baza spoligotipov, imenovana SpolDB4 in je še dandanes dostopna na spletu (http://www.pasteur-guadeloupe.fr/tb/bd_myco.html) (Brudey in sod., 2006). V njej je opisanih 1939 spoligovzorcev, ki pripadajo genetskim družinam (vsaka genetska družina vsebuje najmanj dva spoligotipa) in 3370 spoligovzorcev, ki so unikatni in ne pripadajo nobeni genetski družini. Analiza svetovnih spoligotipov je pokazala 62 večjih genetskih linij, kot so na primer: Centralno-Azijska (CAS, angl. Central-Asian), Vzhodno-Afriško-Indijska (EAI, angl. East-African-Indian), Haarlem (H, angl. Haarlem), Latinsko-Ameriška-Mediterska (LAM, angl. Latin-American-Mediterranean), linija Peking (angl. Beijing, Beijing like), linija S (največja pojavnost na Siciliji in Sardiniji), linija T (sodobni izolati tuberkuloze), linija X (družina z izolati, ki imajo majhno število kopij IS6110). Vsaka izmed njih je še natančneje opredeljena; na primer linija CAS se deli v dve večji liniji CAS1-tip Delhi (Indija in Indijski subkontinent) in CAS1-Kilimanjaro (Tanzanija), EAI linija je razdeljena v 4 podlinije; EAI2-Nonhaburi, EAI6-Bangladesh/1, EAI7-Bangladesh/2 in EAI8-Madagascar (Brudey in sod., 2006). Leta 2012 je izšla novejša različica spletnega orodja za ugotavljanje genetskih linij z nazivom SITVIT in spletnim dostopom (http://www.pasteur-guadeloupe.fr:8081/SITVIT_ONLINE/). Spletna aplikacija omogoča da uporabnik svoje izolate primerja z izolati spoligobaze in tako, na zelo enostaven način pridobi podatek v katero linijo svetovnih genetskih družin se uvrščajo njegovi izolati. Uporabniku je omogočeno tudi, da vnese v podatkovno bazo svoje izolate z vsemi ustreznimi podatki in tako prispeva k širjenju osnovne baze spoligovzorcev (Demay in sod., 2012).

Spoligotipi slovenskih izolatov v letih 2007 do 2009 so pokazali, da je med našimi izolati le eden, ki spada v najbolj znano genetsko linijo Beijing, ki je v svetovnem merilu med najbolj zastopanimi, invazivnost in odpornost njenih izolatov proti protituberkulotikom pa zelo velika (Demay in sod., 2012; Filliol in sod., 2002; Marais in sod., 2006; Kremer in sod., 2004; Zozio in sod., 2005). Spoligovzorec te družine je zelo značilen in lahko prepoznaven. Prisotnost le enega spoligotipa iz družine Beijing nakazuje, da svetovna migracija ljudi in s tem prenos najinvazivnejših bacilov tuberkuloze iz drugih držav, do danes še nista v veliki meri dosegla Slovenije. To

potrjuje tudi podatek, da je bilo v Sloveniji od leta 1995 prepoznanih le 22 večkratno odpornih izolatov *M. tuberculosis* (MDR oz. XDR) (podatki Laboratorija za mikobakterije Golnik). Ostale svetovne genetske linije so tako kot v svetu, najbolj zastopane tudi pri nas, kar je razvidno iz preglednice SITVIT banke spoligotipov (Brudey in sod., 2006; Demay in sod., 2012) in ostalih analiz spoligovzorcev po svetu (Demay in sod., 2012; Filliol in sod., 2002; Sola in sod., 2001b; Soini in sod., 2000; Sola in sod., 1999; Guernier in sod., 2008; Brudey in sod., 2004; Puustinen in sod., 2003; Sola in sod., 2001a; Filliol in sod., 2003; David in sod., 2007; Bonura in sod., 2014; Cáceres in sod., 2014). Družina T in njena poddružina T1 (SIT 53) ima v omenjeni spoligo banki podatkov največjo frekvenco pojavljanja, med slovenskimi izolati pa je T1, opažena, kot druga največja družina. V tej svetovni poddružini se nahaja tudi največja slovenska genetska družina (108 izolatov) določena z metodo spoligotipizacije. V Sloveniji je prepoznana kot najbolj zastopana spoligo družina Haarlem, s poddružinama H1 in H3. Tudi podatki svetovnih spoligobaz pokažejo podoben podatek, še posebej to velja za poddružino H3 (Demay in sod., 2012; Filliol in sod., 2002). Svetovni genetski spoligo družini Haarlem in T, ki sta v Sloveniji zastopani v največji meri, združujeta 80 % vseh slovenskih izolatov, analiziranih v letih 2007 do 2009. Ostale genetske družine so razporejene v preostalih 20 % slovenskih izolatov (družina S, LAM, Ural, Tur, T4, EAI, Delhi/Cas, Caprae, Cameroon, SLOV1, Beijing).

Primerjalno gledano se je enaka prisotnost spoligo genetskih linij pokazala tudi pri epidemiološko povezanih genetskih družinah, ki smo jih analizirali. Med njimi je bilo največ spoligovzorcev iz linije Haarlem (43,5 %), ki se v svetovni spoligobazi pojavlja kot največja spoligo družina v vzhodni Evropi in je kot druga največja spoligo družina na celotnem Evropskem kontinentu (24 %) (Demay in sod., 2012). Druga najbolj zastopana linija je bila T (34,8 %), ki se v svetovni spoligobazi pojavlja kot največja spoligo družina Evropskega kontinenta in prevladuje v severni, južni in zahodni Evropi (35 %) (Demay in sod., 2012). Preostale epidemiološko povezane družine so pripadale linijam T4-CEU1, TUR, S in LAM. Spoligotipizacija je s svojo možnostjo prepoznavanja svetovnih genetskih linij postala zelo razširjena metoda po svetu, vendar je njena nizka moč razlikovanja bacilov tuberkuloze preprečila, da bi postala metoda izbora za tipizacijo bacilov tuberkuloze. Postala je dopolnilna metoda ostalim tipizacijskim metodam.

Proti koncu devetdesetih let preteklega stoletja je v ospredje prišla metoda MIRU-VNTR (angl. Mycobacterial Interspersed Repetitive Units - Variable Numbers of Tandem Repeats, razpršene ponavljajoče se enote v mikobakterijskem genomu - spremenljivo število tandemskega ponovitev), druga metoda katere osnova je PCR, ki je dosegla široko uporabnost po vsem svetu. V začetku je metoda vključevala le 12 oziroma 15 lokusov, ki naj bi predstavljali osnovni nabor označevalcev. Raziskava enoletnih rezultatov na slovenskih izolatih, je pokazala, da MIRU-VNTR/15 loči slovenske izolate zelo podobno kot MIRU-VNTR 24 lokusov (MIRU-VNTR/24) (Bidovec-Stojkovic in sod., 2011). Raziskave po svetu, v državah kjer je migracija in priseljevanje večje in kjer izolati niso tako homogeni so pokazale, da izbor 15 lokusov ne zadosti dovolj visokega nivoja razlikovanja bacilov tuberkuloze. Analizirani so bili različni označevalci (Supply in sod., 1997; Frothingham in Meeker-O'Connell, 1998; Supply in sod., 2000; Mazars in sod., 2001; Roring in sod., 2002; Skuce in sod., 2002) in v letu 2006 je bila metoda MIRU-VNTR/24 mednarodno standardizirana za

tipizacijo izolatov *M. tuberculosis* (Supply in sod., 2006). Metodo smo v Sloveniji kot tretjo tipizacijsko metodo uvedli v letu 2009, ko se je na trgu pojavil standardiziran diagnostični komplet (MIRU-VNTR Typing kit, Genoscreen, Francija) in hkrati je bila še istega leta s strani Evropskega centra za nadzor bolezni izbrana kot metoda izbora za tipizacijo bacilov tuberkuloze. V ta namen poteka, v državah Evropske unije in tudi izven njenih meja, projekt nadzora nad večkratno odpornimi izolati bacilov tuberkuloze (MDR) (De Beer in sod., 2014b), kot tudi zunanja kontrola izvajanja metode MIRU-VNTR/24 (De Beer in sod., 2012; De Beer in sod., 2014c). V celotno shemo nadzora tuberkuloze v Evropi pod okriljem ECDC je vključena tudi Slovenija (De Beer in sod., 2012; De Beer in sod., 2014a; De Beer in sod., 2014b; ECDC, Mastering the basis 2011).

Vsako metodo vedno odlikujejo njene specifične lastnosti, ki se lahko pokažejo kot različno pomembne v različnih okoljih, to je v različnih epidemioloških razmerah. V ta namen smo ovrednotili metodo MIRU-VNTR/24 na slovenskih izolatih v primerjavi z ostalima dvema molekularnima tipizacijskima metodama, ki smo ju do tedaj uporabljali v namen razlikovanja in prepoznavanja prenosa bacilov tuberkuloze (RFLP in spoligotipizacija). V literaturi se pogosto navaja in priporoča kot vzporedno delo hkratno uporabo metode MIRU-VNTR/24 in spoligotipizacije (Oeleman in sod., 2007; Allix-Beguec in sod., 2008a; Bidovec-Stojkovic in sod., 2011; Roetzer in sod., 2011, De Beer in sod., 2013, Jonsson in sod., 2014), saj naj bi rezultati obeh metod skupaj, dosegali večjo moč razlikovanja in se približali metodi RFLP. Njen enostaven rezultat (24 mestna koda) je doprinesel k široki primerljivosti genotipov po vsem svetu in v ta namen so raziskovalci pripravili dve večji banki podatkov MIRU-VNTRPlus (Allix-Beguec in sod., 2008b; Weniger in sod., 2010) in SITVIT (Demay in sod., 2012). To sta spletni aplikaciji, ki omogočata uporabniku analizo in standardizirano poimenovanje MIRU-VNTR in spoligo rezultatov. Analiza genetskih družin dobljenih z metodo MIRU-VNTR/24 v posameznih primerih združenih z rezultati spoligotipizacije pokaže zelo podobno moč razlikovanja slovenskih izolatov v primerjavi z RFLP, kar se ujema s številnimi raziskavami v Zahodno evropskih državah (Oeleman in sod., 2007; Allix-Beguec in sod., 2008a, Bidovec-Stojkovic in sod., 2011; Roetzer in sod., 2011; De Beer in sod., 2013). Edina izjema so Beijing izolati, ki se širijo zelo hitro, zato so si njihovi kloni med seboj zelo sorodni in med seboj podobni, torej potrebujejo štiri dodatne označevalce s katerimi jih lahko zadovoljivo ločimo (Allix-Beguec in sod., 2014). Med slovenskimi izolati Beijing izolati niso pogosti.

Metoda MIRU-VNTR/24 se je v analizah, v številnih državah po svetu, kot tudi pri nas, pokazala, kot učinkovita metoda za razlikovanje izolatov iz sklopa *M. tuberculosis*, kot tudi za razreševanje epidemioloških vprašanj in ugotavljanja laboratorijskih navzkrižnih kontaminacij. Analize naših rezultatov so pokazale, da ima metoda MIRU-VNTR dovolj visoko tipizacijsko moč, da postane tudi pri nas metoda izbora genotipizacije izolatov iz sklopa *M. tuberculosis*. Ker je metoda enostavna, hitra in mednarodno standardizirana, bo nedvomno v prihajajočih letih še vedno metoda izbora tipizacije bacilov tuberkuloze v Sloveniji. Njena velika prednost je, da omogoča tipizacijo bacilov tuberkuloze iz prvih bakterijskih kultur in s tem zelo pomembno skrajša čas od odkritja novega bolnika s tuberkulozo do končnega rezultata genotipizacije. Čas je krajši za vsaj tri tedne in rezultat genotipizacije je dostopen že v času, ko je bolnik še v bolnišnici. Genotip je sporočen epidemiološki službi hkrati z rezultatom testa občutljivosti. Njena sposobnost tipizacije neposredno iz kliničnih vzorcev njeno uporabnost in pomen še poveča in najverjetneje bo zaradi

svojih lastnosti še nekaj let ostala metoda izbora tipizacije tudi v svetovnem prostoru. Kljub temu v nacionalnem laboratoriju za tuberkulozo želimo slediti razvoju na tem področju in se zavedamo, da bo v prihodnosti najverjetneje tako pri tipizaciji bacilov tuberkuloze, kot tudi na drugih področjih prevzela vodilno vlogo metoda določanja celotnega genoma bakterij (angl. whole genome sequencing, WGS). Zagotovo je to metoda, ki omogoča največje razločevanje organizmov na nivoju DNK (Schürch in van Soolingen, 2012). Metoda želi pojasniti zapletene načine prenosa bacilov tuberkuloze, natančneje raziskati razvojne procese mikobakterij znotraj posameznega bolnika, omogočiti natančnejše prepoznavanje mikobakterij in njihovo odpornost na proti tuberkulozna zdravila (Merker in sod., 2013; Kohl in sod., 2014; Walker in sod., 2013a; Van Soolingen, 2014; Menzies, 2013; Niemann in Supply, 2014; Boritsch in sod., 2014; Stucki in sod., 2014; Roetzer in sod., 2013; Schürch in sod., 2010; Köser in sod., 2012). Zaenkrat je metoda še v razvoju in z njo strokovnjaki poskušajo najti načine, kako povezati podrobne informacije o bakterijskem dednem zapisu in njihovem fenotipskem izražanjem (Sun in sod., 2012; Merker in sod., 2013). WGS je metoda, ki trenutno še ni mednarodno standardizirana za področje tipizacije mikobakterij (Blouin in sod., 2012; Niemann in Supply, 2014), zato je težko primerljiva zunaj okvirov posameznega laboratorija. Svetovne banke podatkov dobljenih s to metodo za sedaj še niso na voljo, z izjemo prve banke podatkov za dokazovanje odpornosti izolatov *M. tuberculosis* (TBDRaMDB, Sandgren in sod., 2009). Za optimalno napoved odpornosti izolatov bodo potrebne natančnejše in skrbno pripravljene banke podatkov, ki bodo zadovoljivo povezale genetske podatke s fenotipsko obliko odpornosti izolatov na zdravila. S tovrstnimi izzivi se trenutno ukvarja tudi mednarodni konzorcij (<http://patho-ngen-trace.eu/>), ki želi pospešiti izvajanje diagnostike in epidemiologije na osnovi tehnologije naslednje generacije sekvenciranja (angl., Next Generation Sequencing, NGS). Tuberkuloza kot nalezljiva bolezen, ki ne pozna meja, pa za svoj učinkovit nadzor ta trenutek potrebuje metodo, ki bo enostavna, uporabna in dostopna čim širši množici, kot tudi standardizirana, torej mednarodno primerljiva, zato v Sloveniji še nadalje ostaja metoda izbora za razlikovanje bacilov tuberkuloze, metoda MIRU-VNTR/24.

VIRI

1. Allix-Béguec C., Fauville-Dufaux M., Supply P. 2008a. Three-year population-based evaluation of standardized mycobacterial interspersed repetitive-unit-variable-number tandem-repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 46: 1398–1406
2. Allix-Béguec C., Harmsen D., Weniger T. et al. 2008b. Evaluation and strategy for use of MIRU-VNTRplus, a multifunctional database for online analysis of genotyping data and phylogenetic identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 46: 2692–2699
3. Allix-Béguec C., Wahl C., Hanekom M. et al. 2014. Proposal of a consensus set of hypervariable mycobacterial interspersed repetitive-unit-variable-number tandem-repeat loci for subtyping of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 52: 164–172
4. Bidovec-Stojkovič U., Žolnir-Dovč M., Supply P. 2011. One year nationwide evaluation of 24-locus MIRU-VNTR genotyping on Slovenian *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Respiratory Medicine*, 105, Suppl. 1: S67–S73
5. Blouin Y., Hauck Y., Soler C. et al. 2012. Significance of the identification in the horn of Africa of an exceptionally deep branching *Mycobacterium tuberculosis* clade. *PLoS ONE*, 7: e52841, doi: 10.1371/journal.pone.0052841: 15 str.
6. Bonura C., Gomgnimbou M.K., Refrégier G. et al. 2014. Molecular epidemiology of tuberculosis in Sicily, Italy: what has changed after a decade? *BMC Infectious Diseases*, 14, 602, doi: 10.1186/s12879-014-0602-4: 9 str.

7. Boritsch E.C., Supply P., Honoré N., et al. 2014. A glimpse into the past and predictions for the future: the molecular evolution of the tuberculosis agent. *Molecular Microbiology*, 93: 835–852
8. Brudey K., Driscoll J.R., Rigouts L., et al. 2006. *Mycobacterium tuberculosis* complex genetic diversity: mining the fourth international spoligotyping database (SpolDB4) for classification, population genetics and epidemiology. *BMC Microbiology*, 6, 23, doi: 10.1186/1471-2180-6-23: 17 str.
9. Brudey K., Gordon M., Moström P., et al. 2004. Molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* in western Sweden. *Journal of Clinical Microbiology*, 42: 3046–3051
10. Cáceres O., Rastogi N., Bartra C., et al. 2014. Characterization of the genetic diversity of extensively-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from pulmonary tuberculosis patients in Peru. *PLoS ONE*, 9: e112789, doi: 10.1371/journal.pone.0112789: 22 str.
11. Dale J.W., Brittain D., Cataldi A.A., et al. 2001. Spacer oligonucleotide typing of bacteria of the *Mycobacterium tuberculosis* complex: recommendations for standardised nomenclature [The Language of Our Science]. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 5: 216–219
12. David S., Ribeiro D.R., Antunes A., et al. 2007. Contribution of spoligotyping to the characterization of the population structure of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Portugal. *Infection, Genetics and Evolution*, 7: 609–617
13. De Beer J.L., Kremer K., Ködmön C., et al. 2012. First worldwide proficiency study on variable-number tandem-repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 50: 662–669
14. De Beer J.L., van Ingen J., de Vries G., et al. 2013. Comparative Study of IS6110 restriction fragment length polymorphism and variable-number tandem-repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in the Netherlands, based on a 5-year nationwide survey. *Journal of Clinical Microbiology*, 51: 1193–1198
15. De Beer J.L., Kodmon C., van der Werf M.J., et al. 2014a. ECDC MDR-TB Molecular Surveillance Project Participants, Molecular surveillance of multi- and extensively drug-resistant tuberculosis transmission in the European Union from 2003 to 2011. 2014. *Euro Surveillance* 19, 11: 9 str. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleID=20742>
16. De Beer J.L., Ködmön C., van Ingen J., et al. 2014b. Second worldwide proficiency study on variable number of tandem repeats typing of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 18: 594–600
17. De Beer J.L., Akkerman O.W., Schürch A.C., et al. 2014c. Optimization of standard in-house 24-locus variable-number tandem-repeat typing for *Mycobacterium tuberculosis* and its direct application to clinical material. *Journal of Clinical Microbiology*, 52: 1338–1342
18. Demay C., Liens B., Burguière T., et al. 2012. SITVITWEB - a publicly available international multimer database for studying *Mycobacterium tuberculosis* genetic diversity and molecular epidemiology. *Infection, Genetics and Evolution*, 12: 755–766
19. ECDC. 2011. ERLN-TB Project. Mastering the basics of TB control. Development of a handbook on TB diagnostic methods. Stockholm, European Centre for Disease Prevention and Control: 101 str.
20. Filliol I., Driscoll J.R., Van Soolingen D., et al. 2002. Global distribution of *Mycobacterium tuberculosis* spoligotypes. *Emerging Infectious Diseases*, 8: 1347–1349
21. Filliol I., Driscoll J.R., van Soolingen D., et al. 2003. Snapshot of moving and expanding clones of *Mycobacterium tuberculosis* and their global distribution assessed by spoligotyping in an international study. *Journal of Clinical Microbiology*, 41: 1963–1970
22. Frothingham R., Meeker-O'Connell W.A. 1998. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. *Microbiology*, 144: 1189–1196
23. Gori A., Bandera A., Marchetti G., et al. 2005. Spoligotyping and *Mycobacterium tuberculosis*. *Emerging Infectious Diseases*, 11: 1242–1248
24. Guernier V., Sola C., Brudey K., et al. 2008. Use of cluster-graphs from spoligotyping data to study genotype similarities and a comparison of three indices to quantify recent tuberculosis transmission among culture positive cases in French Guiana during a eight year period. *BMC Infectious Diseases*, 8: 46, doi: 10.1186/1471-2334-8-46: 11 str.
25. Heersma H.F., Kremer K., van Embden J.D. 1998. Computer analysis of IS6110 RFLP patterns of *Mycobacterium tuberculosis*. *Methods in Molecular Biology*, 101: 395–422
26. Jonsson J., Hoffner S., Berggren I., et al. 2014. Comparison between RFLP and MIRU-VNTR

- genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Stockholm 2009 to 2011. PLoS ONE, 9, 4: e95159, doi: 10.1371/journal.pone.0095159: 6 str.
27. Kohl T.A., Diel R., Harmsen D., et al. 2014. Whole-genome-based *Mycobacterium tuberculosis* surveillance: a standardized, portable, and expandable approach. Journal of Clinical Microbiology, 52: 2479–2486
 28. Köser C.U., Feuerriegel S., Summers D.K., et al. 2012. Importance of the Genetic Diversity within the *Mycobacterium tuberculosis* Complex for the development of novel antibiotics and diagnostic tests of drug resistance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 56: 6080–6087
 29. Kremer K., Glynn J.R., Lillebaek T., et al. 2004. Definition of the Beijing/W lineage of *Mycobacterium tuberculosis* on the basis of genetic markers. Journal of Clinical Microbiology, 42: 4040–4049
 30. Marais B.J., Victor T.C., Hesselning A.C., et al. 2006. Beijing and Haarlem genotypes are overrepresented among children with drug-resistant tuberculosis in the Western Cape Province of South Africa. Journal of Clinical Microbiology, 44: 3539–3543
 31. Mazars E., Lesjean S., Banuls A.L., et al. 2001. High-resolution minisatellite-based typing as a portable approach to global analysis of *Mycobacterium tuberculosis* molecular epidemiology. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 98: 1901–1906
 32. Menzies D. 2013. Molecular methods for tuberculosis trials: time for whole-genome sequencing? Lancet Respiratory Medicine, 1: 759–761
 33. Merker M., Kohl T.A., Roetzer A., et al. 2013. Whole genome sequencing reveals complex evolution patterns of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains in patients. PLoS ONE, 8: e82551, doi: 10.1371/journal.pone.0082551: 11 str.
 34. Niemann S., Supply P. 2014. Diversity and evolution of *Mycobacterium tuberculosis*: moving to whole-genome-based approaches. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, doi: 10.1101/cshperspect.a021188: 18 str.
 35. Oelemann M.C., Diel R., Vatin V., et al. 2007. Assessment of an optimized mycobacterial interspersed repetitive- unit-variable-number tandem-repeat typing system combined with spoligotyping for population-based molecular epidemiology studies of Tuberculosis. Journal of Clinical Microbiology, 45: 691–697
 36. Puustinen K., Marjamäki M., Rastogi N., et al. 2003. Characterization of Finnish *Mycobacterium tuberculosis* isolates by spoligotyping. Journal of Clinical Microbiology, 41: 1525–1528
 37. Roetzer A., Diel R., Kohl T.A., et al. 2013. Whole genome sequencing versus traditional genotyping for investigation of a *Mycobacterium tuberculosis* Outbreak: A longitudinal molecular epidemiological study. PLoS Medicine, 10: e1001387, doi: 10.1371/journal.pmed.1001387: 12 str.
 38. Roetzer A., Schuback S., Diel R., et al. 2011. Evaluation of *Mycobacterium tuberculosis* typing methods in a 4-year study in Schleswig-Holstein, Northern Germany. Journal of Clinical Microbiology, 49: 4173–4178
 39. Sandgren A., Strong M., Muthukrishnan P., et al. 2009. Tuberculosis drug resistance mutation database. PLoS Medicine, 6: e1000002, doi: 10.1371/journal.pmed.1000002.sd001: 5 str.
 40. Schürch A.C., van Soolingen D. 2012. DNA fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis*: from phage typing to whole-genome sequencing. Infection, Genetics and Evolution, 12: 602–609
 41. Sebban M., Mokrousov I., Rastogi N., Sola C. 2002. A data-mining approach to spacer oligonucleotide typing of *Mycobacterium tuberculosis*. Bioinformatics, 18: 235–243
 42. Soini H., Pan X., Amin A., et al. 2000. Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from patients in Houston, Texas, by spoligotyping. Journal of Clinical Microbiology, 38: 669–676
 43. Sola C. 1999. Tuberculosis in the Caribbean: Using spacer oligonucleotide typing to understand strain origin and transmission. Emerging Infectious Diseases, 5: 404–414
 44. Sola C., Ferdinand S., Mammina C., et al. 2001a. Genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* in Sicily based on spoligotyping and variable number of tandem DNA repeats and comparison with a spoligotyping database for population-based analysis. Journal of Clinical Microbiology, 39: 1559–1565
 45. Sola C., Filliol I., Gutierrez M.C., et al. 2001b. Spoligotype database of *Mycobacterium tuberculosis*: biogeographic distribution of shared types and epidemiologic and phylogenetic perspectives. Emerging Infectious Diseases, 7: 390–396
 46. Streicher E.M., Victor T.C., Spuy G. van der, et al. 2007. Spoligotype signatures in the *Mycobacterium tuberculosis* Complex. Journal of Clinical Microbiology, 45: 237–240

47. Stucki D., Ballif M., Bodmer T., et al. 2014. Tracking a tuberculosis outbreak over 21 years: strain-specific single-nucleotide polymorphism typing combined with targeted whole-genome sequencing. *Journal of Infectious Diseases*, 211, 8: 1306-1316
48. Sun G., Luo T., Yang C., et al. 2012. Dynamic population changes in *Mycobacterium tuberculosis* during acquisition and fixation of drug resistance in patients. *Journal of Infectious Diseases*, 206: 1724–1733
49. Supply P., Magdalena J., Himpens S., Locht C. 1997. Identification of novel intergenic repetitive units in a mycobacterial two-component system operon. *Molecular Microbiology*, 26: 991–1003
50. Supply P., Mazars E., Lesjean S., et al. 2000. Variable human minisatellite-like regions in the *Mycobacterium tuberculosis* genome. *Molecular Microbiology*, 36: 762–771
51. Supply P., Allix C., Lesjean S., et al. 2006. Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 44: 4498–4510
52. Van Embden J.D., Cave M.D., Crawford J.T., et al. 1993. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *Journal of Clinical Microbiology*, 31: 406–4039
53. Van Embden J.D., van Gorkom T., Kremer K., et al. 2000. Genetic variation and evolutionary origin of the direct repeat locus of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria. *Journal of Bacteriology*, 182: 2393–2401
54. Van Soolingen D. 2014. Whole-genome sequencing of *Mycobacterium tuberculosis* as an epidemiological marker. *Lancet Respiratory Medicine*, 2: 251–252
55. Walker T.M., Ip C.L., Harrell R.H., et al. 2013. Whole-genome sequencing to delineate *Mycobacterium tuberculosis* outbreaks: a retrospective observational study. *Lancet Infectious Diseases*, 13: 137–146
56. Weniger T., Krawczyk J., Supply P., et al. 2010. MIRU-VNTRplus: a web tool for polyphasic genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex bacteria. *Nucleic Acids Research*, 38: W326–W331
57. Zozio T., Allix C., Gunal S., et al. 2005. Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates in two cities of Turkey: Description of a new family of genotypes that is phylogeographically specific for Asia Minor. *BMC Microbiology*, 5, 44, doi: 10.1186/1471-2180-5-44: 9 str.
58. Žolnir-Dovč M., Poljak M., Eržen D., Šorli J. 2003. Molecular epidemiology of tuberculosis in Slovenia: results of a one-year (2001) nation-wide study. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 35: 863–868

LABORATORY DIAGNOSTICS FOR SUSPECTED EXTRAPULMONARY TUBERCULOSIS

V. Kuruc, S. Kasikovic Lecic

Institute for Pulmonary Diseases of Vojvodina, Sremska Kamenica, Serbia

Extrapulmonary tuberculosis (EPTB) refers to TB involving organs other than the lungs (e.g., pleura, lymph nodes, abdomen, genitourinary tract, skin, joints and bones, or meninges). A patient with both pulmonary and EPTB is classified as a case of PTB.

Diagnosing EPTB remains challenging because clinical samples obtained from relatively inaccessible sites may be paucibacillary, thus decreasing the sensitivity of diagnostic tests. Whenever possible, every effort should be made to obtain appropriate specimens for both mycobacteriological and histopathological examinations. The measurement of biochemical markers in TB-affected serosal fluids (adenosine deaminase or gamma interferon) and molecular biology techniques such as polymerase chain reaction may be useful in the diagnosis of EPTB.

Extrapulmonary tuberculosis (EPTB) constitutes about 11-14% of all cases of tuberculosis (TB) in last ten years in Serbia. In 2013. there were 1355 cases of TB (15 per 100.000 inhabitants) and among them there were 167 cases (12%) of EPTB. The most frequent localization was pleura (65 cases – 39%). Out of them 30 cases were histopathologically confirmed, 12 bacteriologically, while in 23 cases only clinical diagnose could be made. Lymphoglandular tuberculosis was present in 34 patients (20%). In most of them - 27 cases – diagnose was made by histopathological or cytological examination, 6 bacteriologically, and only one got the clinical diagnose. Genitourinary TB was present in 19 cases (11%), frequently diagnosed bacteriologically (10 cases). Osteoarticular TB was present in 27 patients (16%) and most of them (22 cases) were diagnosed by imaging techniques (MRI).

All other localizations were less frequent and made 8,8% of all EPTB.

OBRAVNAVA ODRASLIH S SUMOM NA TUBERKULOZO

Sanja Grm Zupan

Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

E-pošta: sanja.grm@klinika-golnik.si

Uvod

Incidenca tuberkuloze (TB) v Sloveniji v zadnjih letih upada. Na TB zato pogosto ne pomislimo in jo diagnosticiramo pozno. Ob postavitvi diagnoze je bolezen lahko v zelo napredovali fazi. Bolnik postane kužen in bolezen širi dalje.

1. Obravnava bolnika s sumom na pljučno TB

Diagnostika TB se prične s klinično postavljenim sumom na TB.

Na podlagi **anamneze in fizikalnega pregleda** ocenimo bolnikovo tveganje za TB. Klinična slika bolnikov s TB je lahko zelo raznolika. Odvisna od prizadetega organa, učinkovitosti bolnikovega imunskega sistema in spremljajočih bolezni. Klinično sliko sestavljajo sistemski in lokalni simptomi in znaki (vezani na prizadet organ). Sistemski simptomi (povišana telesna temperatura, mrzlica, izguba apetita, hujšanje, nočno znojenje) so nespecifični. Za pljučno TB je značilen še prolongiran kašelj, ki je v začetku neproduktiven, kasneje produktiven z lahko pridruženimi hemoptizami. Prisotna je lahko še bolečina v prsnem košu, težka sapa. Začetek je pogosto neopazen. Simptomi se razvijejo v nekaj tednih.

V letu 2011 so povzeli podatke več študij, ki so vključevale bolnike s HIV, med katerimi so iskali kandidate za uvedbo preventivnega zdravljenja z isoniazidom. Ob prevalenci TB med 5 in 20%, so ob odsotnosti simptomov (kašelj, povišana telesna temperatura, nočno znojenje, hujšanje) v 90% lahko izključili TB.

Sum na tuberkulozo (TB) postavimo ob sočasnih ustreznih **epidemioloških podatkih**. Pomembni so podatki o stiku s TB bolnikom v preteklosti in dosedanjem zdravljenju TB ali LTBO. Zanimajo nas posebne okoliščine, ki lahko povečujejo tveganje za okužbo in razvoj bolezni.

Da lahko ima bolnik TB moramo pomisliti pri:

- bolniku z nepojasnenim dolgotrajnim kašljem (več kot 3 tedne)
- nepojasneni pljučnici pri bolnikih z dejavniki tveganja za razvoj TB (SB, KLB, imunsko oslabljeni)
- na antibiotično zdravljenje neodzivni pljučnici
- pljučnici pri bolniku po stiku s TB
- nepojasnenem febrilnem stanju, hujšanju, nočnem znojenju
- ponovnem zbolevanje oseb, ki so že bile zdravljene zaradi TB

Ob postavljenem sumu na TB se moramo ravnati kot da gre za potrjeno bolezen. Bolnika že v čakalnici obravnavamo ločeno od ostalih bolnikov. Namestimo mu zaščitno kirurško masko. Osebe v stiku s takim bolnikom mora biti ustrezno zaščiteno (osebni respirator, standard FFP3). Pogosto pozabimo, da so enaki ukrepi potrebni tudi ob prevozu takega bolnika v drugo ustanovo.

V **laboratorijskih izvidih** značilnih odstopov ne najdemo. Najpogosteje najdemo blago anemijo ob povišanih parametrih vnetja (levkocitoza, CRP). Včasih je prisotna še hiponatremija, saj se iz granulomov lahko izloča antiduretičnemu hormonu podobna snov.

Ob sumu na TB je naslednji korak v diagnostičnem algoritmu **rentgenogram prsnih organov**. Pogosto na osnovi rentgenograma ne moremo ločiti aktivne bolezni in starih sprememb (fibroza, brazgotine). Za TB so značilne zgostitve v zgornjih režnjih (posteriorni, apikalni) in v spodnjih režnjih (superiorni segment) lahko z razpadi in tkivno destrukcijo (fibroza s trakcijo). Seveda pa pogosto ni rentgenogram tipičen. Atipičen (lahko celo normalen) rentgenogram prsnih organov pogosto najdemo pri bolniku s HIV. Zgostitve so lahko prisotne v katerem koli delu pljuč. Poleg je pogosta hilarna in mediastinalna limfadenopatija (bolnik s HIV in nizkim številom CD4). Kot samostojna metoda rentgenogram, zlasti v okolju kjer je koinfekcij s HIV veliko, nima visoke napovedne vrednosti. Pri bolniki s simptomi in znaki aktivne TB normalen rentgenogram ne izključuje bolezni. V kombinaciji prisotnosti simptomov in/ali mikroskopije pa v okolju z veliko TB, rentgenogram podaja visoko negativno napovedno vrednost za potrditev le-te. Študiji opravljene v J Afriki poročata o več kot 95% negativni napovedni vrednosti.

HRCT prsnega koša je bolj občutljiva preiskava, zlasti če najdemo z TB značilne spremembe: centrilobularne nodule, tree in bud, kavitacije..

PET-CT nima mesta v rutinski diagnostiki TB.

Temeljna preiskava pa je **pregled kakovostnih respiratornih kužnin**. Bolnik s sumom na TB naj odda vsaj dva spontana ali inducirana izmečka ,vsaj eden naj bo jutranji izmeček (višja diagnostična vrednost). Želimo si, da je vzorca vsaj 5 ml. Ob veliki klinični verjetnosti za TB se odločamo za oddajo treh vzorcev, saj vemo da je izplen več preiskav večji. Izplen odvzema treh indiciranih izmečkov je primerljiv (po nekaterih študijah celo višji), vendar stroškovno ugodnejši, od izplena bronhoskopsko odvzetega bronhoalveolarnega izpirka. Če bolnik vsebine ne more izkašljati, ima mesto v diagnostiki želodčni aspirat. V našem okolju se pogosto odločamo tudi za odvzem aspirata zgornjih dihal.

V primeru da so trije izmečki mikroskopsko negativni, bolnik izmečkov ne more oddati, potrebujemo diagnozo takoj ali je diferencialno diagnostično možno, da gre za drugo bolezen (npr. malignom), se odločimo za **bronhoskopijo**. Pomembno je, da poseg izvedemo na koncu programa in aparat ustrezno očistimo in razkužimo (dokazan prenos bolezni na naslednjega bolnika). Ob preiskavi lahko opravimo krtačenje, bronhoalveolarni lavažo in odvezamemo tkivni vzorec (BB, TBB, PBP). Odločimo za tudi za odvzem tkivnega vzorca za histološko preiskavo.

Kužnine pošljemo v Laboratorij za diagnostiko mikobakterij – na mikroskopijo in kultivacijo. Za pozitivno mikroskopijo izmečka potrebujemo 5000-10.000 bacilov na ml, za kultivacijo pa zadostuje že 10-100 bacilov na ml. Za potrditev majhnega

števila bacilov je pomembna zadostna količina kužnine! **Kultivacija in testi občutljivosti ostajajo zlati standard v diagnostiki TB.**

V zadnjih letih pa so nam v veliko pomoč pri postavitvi diagnoze novi molekularni testi – testi pomnoževanja nukleinskih kislin (**NAATs – nucleic acid amplification test**). CDC priporoča, da NAAT opravimo pri bolniku s simptomi ali znaki TB; ki še nimajo postavljene diagnoze in bi izvid lahko spremenil njihovo obravnavo. Zaželeno je, da bi postal standardni postopek pri obravnavi bolnika s sumom na TB. Preiskava lahko skrajša čas do postavitve diagnoze in pričetka zdravljenja.

V Sloveniji uporabljamo test **GeneXpert MTB/RIF** (integriran, avtomatiziran test). Za pozitiven test zadostuje že 10 bacilov na ml. Ni navzkrižno reaktiven z netuberkuloznimi mikobakterijami. Poleg dokaza mikobakterij test s tarčo na rpoB genu zazna večino sevov rezistentnih na rifampicin (99,5%). Test je hiter, ponuja visoko senzitivnost (96% vs 60%) in specifičnost (85-98%) zlasti pri pozitivni mikroskopiji izmečka, pri negativni nekoliko nižjo. Slabost test je, da je drag in je še vedno slabše občutljiv od kultivacije,

WHO test priporoča v začetku diagnostičnega algoritma ob sumu na MDR-TB in kot nadaljevalni test po mikroskopiji (zlasti negativni mikroskopiji izmečka). Ne izključuje pa vloge običajne mikroskopije, kultivacije in testa občutljivosti, ki ju uporabljamo za spremljanje terapije in ugotavljanje rezistence na druga zdravila.

V **histološkem vzorcu** prisotno granulomsko vnetje s centralno nekrozo z veliko verjetnostjo potrjuje TB, vendar moramo izključiti ostale bolezni s podobnim izgledom (npr. glivična okužba, okužba z netuberkuloznimi mikobakterijami).

Pomanjkljivost **IGRA testov** je nemoč razlikovanja med latentno in aktivno TB. Občutljivost testov pri bolnikih z aktivno TB se glede na opravljene študije giblje med 65 – 100%. Uporabljajo se za diagnostiko latentne TB in ne nadomeščajo standardnih diagnostičnih metod za diagnostiko aktivne TB (mikrobiološka, molekularna in histološka diagnostika). V nekaterih primerih nam lahko le pomagajo pri diagnostiki aktivne TB (otroci, zunaj pljučna TB, redko pljučna TB).

Glede na WHO smernice TB potrdimo pri bolniku, kjer smo *M.tuberculosis Complex* dokazali na kliničnem vzorcu, s kultivacijo ali novejšimi diagnostičnimi metodami. V okolju kjer nimamo na voljo kultivacijo zadostuje pozitivna mikroskopija enega ali več izmečkov. Bolnik s potrjeno TB je tudi tisti, pri katerem se je zdravnik na podlagi ostalih podatkov odločil za zdravljenje TB.

Včasih ostanejo kulture oddanih vzorcev negativne, takrat govorimo o klinični diagnozi. Želimo si, da bi bilo takih primerov čim manj.

2. Obravnava bolnika s sumom na zunaj pljučno TB

Bolnika s sumom na zunaj pljučno TB obravnavamo na enak način kot bolnika s sumom na pljučno TB. Pljučna TB je namreč lahko pogosto pridružena zunaj pljučni TB. Pri vseh bolnikih s sumom na zunaj pljučno TB, zato opravimo rentgenogram prsnih organov. Odvzamemo tudi 2-3 spontana ali inducirana izmečka. Dodatno se določamo za odvzem kužnine iz prizadetega organa. Želimo si najmanj 3-5 različnih vzorcev. Količina odvzetih kužnina naj bo čim večja, saj gre za vzorce z manjšim številom mikobakterij kot pri pljučni TB. Bolezen zato težje dokažemo. Vzorce pošljemo tako na mikroskopijo kot na kultivacijo. Nobeden izmed komercialno dostopnih molekularnih testov s strani FDA (US Food and Drug Administration) še ni odobren za diagnostiko zunaj pljučne TB. Glede na do sedaj znane raziskave (18 študij, 4461 vzorcev, objavljeno v letu 2014) poročajo o dobri občutljivosti testa v primerjavi s kultivacijo za preiskavo opravljeno na bezgavkah (83% vs 94%), likvorju (81% vs 98%) in slabi ob pregledu pleralnega punktata (46% vs 99%).

Tkivni vzorec vedno pošljemo tudi na histopatološko preiskavo. Pomembno je, da kirurga, ki bo biopsijo opravil opozorimo, da vzorci v formalinu niso primerni za diagnostiko mikobakterij. Biopat naj bo v sterilni posodici. Dodamo nekaj kapljic fiziološke raztopine, da se ne izsuši. Kužnine je potrebno dostaviti v laboratorij čim hitreje. Do transporta jih hranimo v hladilniku.

Histologija tkivnih vzorcev opisuje granulomsko vnetje z epitelioidnimi makrofagi, Langerhansovimi celicami, limfociti ter značilno kazeozno nekrozo. Histologija ob ustrezni klinični sliki in epidemioloških podatkih podpira diagnozo TB, ni pa zanjo patognomonična.

Klinično sliko bolnika z zunaj pljučno TB sestavljajo sistemski in lokalni simptomi in znaki, ki so vezani na določen organ.

TB plevritis je najpogostejša oblika zunajpljučne TB v našem okolju. Plevralni izliv je najpogostejše enostranski. Bolezen se kaže s plevritično bolečino ali težko sapo ob obsežnem izlivu. Bolezen lahko dokažemo z odvzgom plevralnega punktata, ki je eksudat s prevlado limfocitov v citološki sliki. Je posledica zapoznele hipersenzitivne reakcije na mikobakterije ali njene antigene, ki verjetno prihajajo iz subplevralnih žarišč, zato je ob mikroskopiji acidorezistentne bacile dokažemo redko. Kultivacija potrdi diagnozo v do 80%. Za potrditev bolezni je pogosto potrebna biopsija plevre (slepa igelna biopsija parietalne plevre, torakoskopija) s senzitivnostjo preko 90%. Testi pomnoževanja nukleinskih kislin so visoko specifični, vendar nizko senzitivni in jih zaenkrat v diagnostiki ne priporočajo. Pridruženo parenhimsko bolezen z rentgenogramom dokažo v 50%, s CT preiskavo v 80%.

Pri tuberkuloznem empiemu je plevralni izliv gnojen, vedno mikroskopsko ali v kulturi pozitiven na *M. tuberculosis*.

Pri **bezgavčni TB** opazujemo neboleče, otekle bezgavke, ki ob napredovanju bolezni lahko ulcerirajo, fistulirajo, tvorijo abscese. Najpogostejše so prizadete bezgavke na vratu- škrofuloza. Kadar so prizadete bezgavke drugje v telesu, si pomagamo s slikovnimi metodami: UZ, CT in včasih MRI diagnostiko. Bolezen lahko dokazujemo z

briso fistule in citološko punkcijo bezgavke (občutljivost kulture okoli 62%). V kolikor s tema preiskavama diagnoze ne potrdimo, je na mestu biopsija bezgavke (občutljivost 100%).

TB kosti in sklepov po navadi prizadene statično obremenjene sklepe (**spondilitis** hrbtenice, **artritis** – najpogosteje prizadeto koleno, kolk, **osteomielitis** katerega koli sklepa.). Najdemo lokalno bolečnost, rdečino. Paravertebralno in ob sklepih najdemo hladne abscese.. Gre za bolezen neznačilnega, počasnega poteka. V 50% ni pridružene pljučne prizadetosti, Na bolezen pomislimo pozno, zato je čas do postavitve diagnoze in pričetka zdravljenja je dolg. Za opredelitev mest procesa opravimo slikovno diagnostiko. Najpomembnejša preiskava za ugotavljanje vnetnih procesov na okostju, sklepih in v mehkih obklesnih delih. Za postavitev diagnoze potrebujemo infektivni material, katerega pošljemo na mikroskopijo in nadalje kultivacijo. Napravimo lahko bris fistule (v kolikor do tega pride), punkcijo abscesa, biopsijo (npr. CT vodena punkcija), punkcijo sklepa ali biopsijo sinovije oziroma tkiva ob prizadetem sklepu.

TB sečil in rodil: bolniki so lahko brez simptomov. Opazujemo hematurijo in sterilno piurijo. Pridruži se bolečina, disurija, pogosto uriniranje. TB salpingitis je lahko vzrok za sterilnost. V pomoč pri diagnostiki so nam naslednje slikovne metode: UZ trebuha, intravenska urografija. Diagnostiko pričnemo z odvzemom več jutranjih vzorcev urina. V koliko nismo uspešni je potrebna biopsija obolelega dela (npr. biopsija mehurja, ledvice, endometrija..)

TB CŽS se pojavlja redko, v 1% primerov TB. **TB meningitis** ima raznoliko klinično sliko. Sistemskim znakom se pridruži glavobol. Lahko se kaže z meningealnimi znaki prizadetostjo možganskih živcev (VI., VII., III. živec). Z napredovanjem bolezni se pojavlja slabost, bruhanje, kasneje zmedenost, žariščni nevrološki izpadi, stupor, koma. Bolezen je v 5-8. tednih lahko smrtna, zato je nujno zgodnje prepoznavanje bolezni in hiter začetek zdravljenja (že ob sumu). Uporabljamo slikovno diagnostiko: CT in MRI preiskava (bazilarni arahnoiditis, možganski edem, infarkt, hidrocefalus). Ključnega pomena za diagnostiko je pregled likvorja, ki vsebuje nizko koncentracijo glukoze, povišano koncentracijo proteinov. Citološko prevladujejo limfociti, v začetku bolezni lahko nevtrofilci. Vzorec pošljemo tudi na mikroskopijo in kultivacijo. Najboljši diagnostični pristop je pregled več vzorcev, katerih volumen naj bo čim večji (vsaj 3 vzorci). Priporočena je tudi uporaba testov pomnoževanja nukleinskih kislin (Xpert MTB/RIF senzitivnost 81%, specifičnost 98%). Pri tretjini bolnikov je bolezen prisotna ob diseminirani obliki, zato iščemo tudi prizadetost drugih organov (tudi pregled očesnega ozadja).

Druga oblika je **intrakranialni tuberkulom**, ki se lahko kaže s pojavom krčev, glavobolom, hemiplegijo ter znaki povišanega intrakranialnega pritiska. Ob povišanem intrakranialnem tlaku se za lumbalno punkcijo ne odločamo. V kolikor jo opravimo, je pregled likvorja pogosto normalen. Diagnozo lahko postavimo s pregledom tkivnega vzorca (biopsija tuberkuloma).

TB perikarditis se pojavlja redko (1-2% bolnikov s pljučno TB). Povečano število bolnikov so zaznali v državah v razvoju, kjer je incidenca HIV višja. Ob sistemskih znakih TB bolniki poročajo še o kašlju, dispneji, ortopneji, bolečini v prsnem košu. V 25% bolezen poteka akutno, lahko s pojavom tamponade. V 30-60% pride do razvoja konstriktivnega perikarditisa. V diagnostičnem postopku opravimo še UZ srca, lahko CT ali MRI preiskavo. V kolikor je mogoče opravimo perikardiocentezo (eksudat z visokimi proteini s povišanimi levkociti na račun limfocitov in monocitov). Izplen mikroskopije perikardnega izliva je 40-60%, v le nekaj višjem odstotku bolezen potrди kultivacija. Priporočajo tudi uporabo NAAT's (GenXpert senzitivnost 52% na vzorcih odvzetih v diagnostiki zunajpljučne TB, 176 vzorcev). Naslednji korak je lahko biopsija bezgavke ob desnem m.scalenus in biopsija perikarda, ob kateri lahko najdemo posamezne granulome (senzitivnost 10 -64%). Torej normalna biopsija perikarda ne izključi TB perikarditisa. V endemskem okolju ob visokem kliničnem sumu biopsija pred uvedbo PTZ ni nujna. Klinični odziv na terapijo podpre diagnozo TB perikarditisa. Biopsija je svetovana v okolju, kjer TB ni endemska in z drugimi preiskavami bolezen nismo diagnosticirali.

Gastrointestinalna TB: Najpogosteje se pojavlja v obliki prizadetosti jeter, TB enteritis, TB peritonitis. Od slikovnih metod uporabljamo UZ trebuha in CT trebuha. Diagnozo lahko potrdimo s pregledom ascitesa in tkivnih vzorcev (biopsija jeter, črevesja, omentuma).

Do razvoja **miliarne TB** pride, kadar se bacil TB hematogeno razširijo po telesu. Na rentgenogramu vidimo miliaren vzorec (1-2 mm velike lezije po celotnih pljučih). Če bolnik izmečka ne izkašlja, napravimo bronhoskopijo, s katero odvezamo tako izpirek kot biopsij. V nadaljni diagnostiki ima mesto biopsija jeter, kostnega mozga, pregled likvorja. Odvezamo hemokulture na *M. tuberculosis*.

Zaključek:

Na osnovi kliničnih in epidemioloških podatkov postavimo sum na TB. Od tega trenutka dalje moramo upoštevati priporočila za preprečevanje prenosa *M. tuberculosis*. Rentgenogramu in ostali slikovni diagnostiki sledi odvzem kužnin. Bolnik naj odda 2-3 respiratorne kužnine. Potrjevanje zunaj pljučne TB je bolj zahtevno. Želimo si pridobiti 3-5 kužnin. Vse kužnine naj bodo kakovostne. Želimo si čim večjih vzorcev. Vse vzorce posredujemo v Laboratorij za diagnostiko mikobakterij, kjer opravijo mikroskopijo, kultivacijo in test občutljivosti. V zadnjih letih so nam v pomoč testi pomnoževanja nukleinskih kislin, ki so za pregled respiratornih kužnin visoko specifični in senzitivni. Nobeden izmed komercialno dostopnih molekularnih testov s strani FDA (US Food and Drug Administration) še ni odobren za diagnostiko zunaj pljučne TB. Glede na do sedaj znane raziskave poročajo o dobri občutljivosti za testiranje na bezgavkah, likvorju in slabi za pregled plevralnega punktata. Ob pregledu histoloških vzorcev iščemo granulomsko vnetje s centralno nekrozo, ki pa za bolezen ni patognomonično. Kultivacija in testi občutljivosti ostajajo zlati standard v diagnostiki TB in so tudi vodilo za nadaljnje zdravljenje. Želimo si, da bi bilo primerov, kjer nam *M. tuberculosis* ne uspe kultivirati, čim manj.

Literatura:

- Davies, Barnes and Gordon: Clinical tuberculosis, fourth edition, 2008
- European Respiratory Monograph, Tuberculosis, 2012
- WHO, Automated Real-time Nucleic Acid Amplification Technology for Rapid and Simultaneous Detection of Tuberculosis and Rifampicin Resistance: Xpert MTB/RIF System, Policy Statement, 2011
- WHO, Treatment of tuberculosis: guidelines – 4th ed., 2010
- Uptodate 2016
- Priporočila za preprečevanje prenosa okužb z *M.tuberculosis* v zdravstvenih ustanovah, 2012
- Šola za vodenje bolnikov s TB, 2010
- CDC, Core Curriculum on Tuberculosis: What the Clinician Should Know, 2013
- Zborniki sestankov: 18. in 20. redni posvet o obravnavi in spremljanju bolnikov s tuberkulozo (TB) v Sloveniji

OBRAVNAVA OTROKA OB SUMU NA TUBERKULOZO

Malena Aldeco, Uroš Krivec

Služba za pljučne bolezni, Pediatrična klinika, UKC Ljubljana

Uvod

Postavitev diagnoze tuberkuloze (TB) je pri otroku pogosto zahtevna. Klinična slika tuberkuloze je zelo nespecifična in je lahko podobna številnim drugim pogostejšim otroškim boleznim. Poleg tega je tuberkuloza v otroški dobi paucibacilarna bolezen, kar predstavlja največjo oviro pri mikrobiološki potrditvi (1). Otroško tuberkulozo lahko potrdimo pri manj kot 50 % primerov (2). Diagnoza zato pogosto temelji na podatkih o stiku s kužno odraslo osebo, kliničnih znakih, izvidih imunoloških testov (kožni tuberkulinski test in gamainterferonski test), radioloških znakov bolezni (oz. druge ustrezne preiskave pri zunajpljučni tuberkulozi) ter mikrobioloških izvidih odvzetih kužnin (3).

Anamneza o stiku s tuberkuloznim bolnikom

Pri diagnozi otroške TB je podatek o stiku z bolnikom s tuberkulozo zelo pomemben. Največja verjetnost prenosa obstaja ob tesnem stiku z bolnikom s tuberkulozo dihal, ki je BK pozitiven (v mikroskopskem razmazu izmečka so vidne mikobakterije). Tesni stik je opredeljen kot življenje v skupnem gospodinjstvu ali tisti stik, ko otrok preživi z bolnikom vsaj 4-6 ur dnevno več dni v tednu (4, 5). Zavedati se moramo, da obstaja možnost prenosa okužbe tudi pri bolnikih, ki so BK negativni, vendar imajo pozitivno mikrobiološko kulturo na *Mycobacterium tuberculosis* (MTB).

Klinična slika

Otroke obravnavamo pod sumom na TB bodisi zaradi simptomov in znakov, ki kažejo na to bolezen (pasivno iskanje primerov) ali, pogosteje, v sklopu obravnave otroka, ki je bil v stiku z bolnikom s TB (aktivno iskanje primerov). Klinična slika je med tema dvema skupinama precej različna, saj pri otrocih pregledanih v sklopu obravnave kontaktov običajno ugotovimo samo latentno tuberkulozno okužbo (LTBO) ali nenapredovano aktivno bolezen. Slednji ob postavitvi diagnoze večinoma (>50%) še nimajo simptomov TB (6).

Pri otrocih s simptomatsko aktivno boleznijo, se ta najpogosteje kaže z **dolgotrajnim kašljem, utrujenostjo in izgubo telesne teže**. Povišana telesna temperatura in nočno potenje sta pri otrocih redkeje prisotna (7,8). Med obolelimi prevladuje prizadetost pljuč, pri 25-35% bolnikov pa znaki prizadetosti drugih organov.

Pri bolezni pljuč so simptomi in znaki praviloma skopi. Dojenčki in najstniki pogosteje razvijejo simptome in znake bolezni, medtem ko je pri šolarjih bolezni pogosteje nema.

Pri dojenčkih in malčkih se bolezen lahko pokaže z neproduktivnim kašljem in blago oteženim dihanjem. Manj pogosto mlajši otroci kažejo znake splošne prizadetosti, kot

so: povišana telesna temperatura, slabši apetit, slabo napredovanje na telesni teži. Pri nekaterih dojenčkih in malčkih lahko povečana intratorakalna bezgavka povzroča delno ali popolno zaporo dihalne poti in ventilacijske motnje. V tem primeru odkrijemo piskanje v prsih ali oslabljeni dihalni šum s sočasno tahipnejo ter znake povečanega dihalnega dela (9).

Pri starejših otrocih in mladostnikih lahko pričakujemo znake post primarne bolezni značilne za odrasle: povišano telesno temperaturo, slabo počutje, izgubo telesne teže, nočno potenje, produktiven kašelj, bolečino v prsih in hemoptize (7).

Klinična slika **zunajpljučne tuberkuloze (ZPTB)** je odvisna od lokacije bolezni. Najpogostejša oblika ZPTB je **periferni limfadenitis**. Kaže se z nebolečim otekanjem bezgavk, ki lahko kasneje tudi fistulirajo.

Plevralna tuberkuloza se pojavi pogosteje pri mladostnikih ali starejših otrocih. Običajno je plevralni izliv enostranski. Pokaže se z bolečino v prsnem košu, s povišano telesno temperaturo in suhim kašljem.

Posebni in težki obliki ZPTB v otroški dobi sta TB osrednjega živčnega sistema in miliarna oblika tuberkuloze. Večina otrok s **TB osrednjega živčnega sistema** je mlajša od 2 let. Simptomi so sprva precej nespecifični, povišana telesna temperatura, glavobol, slabost in razdražljivost. Kasneje pride do razvoja hidrocefalusa, ki se lahko kaže s parezo možganskih živcev, meningelanimi znaki in krči.

Miliarna oblika TB predstavlja nenadzorovano hematogeno diseminacijo iz primarnega žarišča v več organov (pljuča, jetra, vranica, kostni mozeg). Pojavi se pri dojenčkih in mlajših otrocih ter pri imunsko oslabljenih bolnikih(8).

Imunološki testi

Tuberkulinski kožni test (TKT)

TKT je preiskava, na kateri je temeljila diagnoza tuberkulozne okužbe v zadnjem stoletju. Uporabljajo se prečiščeni derivati – mešanica antigenov bacila tuberkuloze (PPD), ki spodbudijo odziv telesa z preobčutljivostjo reakcijo poznega tipa. Le-ta je odraz celičnega odziva na stik z bacili tuberkuloze in se kaže z značilnim kožnim odzivom na mestu vnosa PPD - tvorbo zatrdline v 48 do 72 urah.

TKT opravimo na volarni strani leve podlakti in ga odčitamo po 72 urah. Pozitiven rezultat predstavlja premer zatrdline, ki meri ≥ 10 mm pri besežiranem otroku ali ≥ 5 mm pri otroku, ki ni bil cepljen z BCG cepivom. Test postane pri večini otrok pozitiven 3 do 6 tednov po okužbi, lahko pa tudi šele 3 mesece za tem. Posameznik ima običajno kasneje, tudi po zdravljenju, test dosmrtno pozitiven.

Tuberkulinski test ima nizko občutljivost in nizko specifičnost, še posebno v zgodnjem otroštvu. Do 10 % otrok z mikrobiološko dokazano boleznijo ima v začetku negativen test (10). Dejavniki, kot so nizka starost, imunosupresija ali diseminarna oblika TB lahko zmanjšajo odzivnost na TKT.

Določeni antigeni v PPD so prisotni tudi v netuberkuloznih mikobakterijah in v *Mycobacterium bovis*, zato imajo lahko otroci, ki so bili cepljeni s BCG cepivom ali ki so imeli okužbo netuberkuloznimi bakterijami, lažno pozitiven rezultat TKT.

Gamainterferonski testi

Gamainterferonski testi (ang. interferon- γ relase assays - IGRA) so sodobnejša metoda *ex-vivo* testiranja imunskega spomina. Temeljijo na meritvi izločenega interferona gama iz limfocitov preiskovanca, ki jih *in vitro* izpostavimo antigenom, specifičnim za *MTB*, ki niso prisotni pri večini netuberkuloznih mikobakterij in *Mycobacterium bovis* BCG.

Njihova glavna prednost v primerjavi s TKT je, da zmanjšajo možnost pozitivnega rezultata zaradi okužbe z drugimi mikobakterijami ali zaradi cepljenja z bacilom Calmette-Guerin (BCG). Komercialno sta razvita dva testa: QuantiFERON-TB Gold In – tube (QFT-GIT) (Cellestis, Avstralija) in T SPOT – TB (Oxford Immunotec, UK). V Sloveniji je dostopen samo QFT –GIT.

Gamainterferonski testi imajo večjo specifičnost za diagnozo LTBO kot TKT (11-14), kar omogoča zmanjšanje števila otrok, ki bi lahko prejeli nepotrebno zdravljenje ob pozitivnem TKT zaradi cepljenja z BCG cepivom ali izpostavljenosti netuberkuloznim mikobakterijam. IGRA testi so predvsem koristni za diagnozo LTBO pri besežiranih otrocih (12).

IGRA testi so namenjeni ugotavljanju imunskega odziva telesa na MBT, nikakor pa ne dokazujejo prisotnosti mikobakterij pri preiskovancu in zaradi tega ne morejo razlikovati med LTBO in aktivno boleznijo.

Številne raziskave kažejo, da IGRA testi pri postavljanju diagnoze aktivne TB pri otrocih nimajo večje občutljivosti kot TKT (11-13) . Kljub temu, se občutljivosti zboljša, če se TKT in IGRA pri diagnozi aktivne TB uporabljata skupaj (15). Niti IGRA testi niti TKT niso dovolj občutljivi ali specifični za potrditev ali izključitev aktivne TB, zato jih lahko uporabljamo le kot dodatne preiskave.

Obstaja sorazmerno malo podatkov o delovanju IGRA testov (predvsem o zanesljivosti negativnih rezultatov) pri otrocih mlajših od 5 let. Poleg tega pri mlajših otrocih potrebujemo visoko občutljivost, saj ima ta starostna skupina večjo verjetnost za razvoj aktivne bolezni in ima lahko pogosteje težke oblike bolezni. Tudi nejasni rezultati so pri tej starostni skupini pogostejši. Zato mednarodni strokovnjaki predlagajo previdno uporabo oz. izogibanje uporabi IGRA testov pri otrocih mlajših od 5 let in predvsem pri mlajših od 2 let pri postavljanju diagnoze LTBO (13).

Tabela 1. Priporočena uporaba IGRA in TKT pri otrocih glede na doslej znane raziskave

TKT primernejši:	- pri otrocih <5 let
IGRA primernejši, sprejemljiv, TKT	- pri otrocih \geq 5 let, ki so bil cepljeni s BCG cepivom
TKT + IGRA:	- pri otrocih s kliničnim sumom na aktivno TB - pri imunokompromitiranih otrocih - če je začetni IGRA nejasen - če je začetni TKT pozitiven pri otrocih \geq 5 let, ki so bil cepljeni s BCG cepivom

Slikovna diagnostika

Rentgenogram prsnih organov (Rtg pc): je pomembna preiskava pri obravnavi bolnika s sumom na tuberkulozo. Kljub temu je Rtg pc pri 10-15% otrok s mikrobiološko potrjeno pljučno tuberkulozo lahko normalen(16).

Značilne spremembe pri otrocih s pljučno tuberkulozo je *hilarna in/ali mediastinalna limfadenopatija*. Hilarna limfadenopatija je pogosteje prisotna pri mlajših otrocih. Stranski posnetek poveča možnost ugotovitve hilarne limfadenopatije, zato pri otrocih mlajših od 6 let naredimo poleg antero-posteriornega tudi stranski posnetek (17).

Zlasti pri dojenčkih in malčkih lahko povečana hilarna bezgavka povzroča delno zaporo dihalne poti in ventilacijske motnje, kar se na Rtg pc kaže kot *segmentna hiperinflacija*. Povečane bezgavke lahko nekrotizirajo preko stene dihalne poti in s kazeozno vsebino zaprejo svetlino, kar povzroči distalno *atelektazo*.

Druge spremembe, ki jih lahko najdemo v pljučnem parenhimu, so pljučne *konsolidacije* in *plevralni izliv*. *Kavitacije* so zelo redko prisotne pri mlajših otrocih, lahko pa jih najdemo pri mladostnikih. Redko lahko ugotovimo spremembe značilne za miliarno tuberkulozo, kot so drobne *retikularne obojestranske zgostitve z izgledom snežene nevihte* v pljučnem parenhimu (18).

V nekaterih primerih **računalniška tomografija prsnega koša** omogoči natančnejšo oceno prizadetosti dihalnih poti in mediastinalnih struktur (19).

Mikrobiološka potrditev

Zaradi paucibacilarnosti oblike otroške tuberkuloze je mikrobiološka potrditev v tej starostni skupini zelo težavna. S pozitivno mikrobiološko kulturo lahko potrdimo samo 40- 50% primerov (20, 21). Kljub omejitvam razpoložljivih metod moramo vedno posvetiti veliko skrb poskusu mikrobiološke potrditve bolezni.

Skupna priporočila ECDC/ERS za obravnavo tuberkulozev Evropi od leta 2012 (22) svetujejo odvzem kužnin pri vsakem otroku s klinično sliko skladno z aktivno TB. Mikrobiološke preiskave so potrebne tudi pri otrocih, ki nimajo simptomov skladnih s TB, vendar se pri njih v sklopu obravnave kontaktov ugotovi pozitiven imunološki test in skladne spremembe na Rtg pc. Ustrezen odvzem kužnin moramo vedno opraviti ob postavitvi diagnoze in pred uvedbo tuberkuloznega zdravljenja.

Vzamemo 3 vzorce iz spodnjih dihal ali ustrezne druge vzorcev primeru, da gre za ZPTB. V mikrobiološki laboratoriji za mikobakterije je potrebno opraviti mikroskopski pregled in kultivacijo materiala, v primeru izolaciji MTB, tudi teste občutljivosti na tuberkulostatike prvega reda.

Odvzem reprezentativnih vzorcev iz spodnjih dihal

Rezultat bakteriološke preiskave je močno odvisen od načina odvzema in pošiljanja kužnin. Natančna navodila za odvzem in transport kužnine na Laboratorij za mikobakterije, Klinika Golnik so elektronsko dostopna (23).

- Izmeček: tisti otroci ali mladostniki, ki produktivno kašljajo, lahko oddajo jutranji izmeček spodnjih dihal.
- Aspirat želodčnega soka (AŽS): vzamemo ga v zgodnjem otroštvu ali pri starejših otrocih, ki ne kašljajo produktivno. Priporočen je jutranji vzorec, optimalno takoj, ko se otrok zbudi. Mikroskopski pregled aspirata želodčnega soka je redko pozitiven, kultura pa pozitivna v manj kot 50%. Rezultati so podobni, če preiskavo opravijo ambulantno ali če otroka hospitaliziramo (24).
- Induciran izmeček: je neinvazivna preiskava, ki jo lahko opravimo ambulantno. Otrok prejme bronhodilatator, ki ji sledi inhalacija hipertoničnega (3-5%) NaCl. Otrok nato izloček izpljune sam, oz. ga aspiriramo iz žrela. Donos kulture je podoben kot pri aspiratu želodčnega soka (21,25).
- Aspirat nazofarinksa/ žrela: je neinvazivna, enostavna preiskava, ki jo lahko opravimo ambulantno. Z majhno količino 0,9% NaCl in aspiracijskim katetrom pri otroku induciramo refleks kašlja, nato izloček aspiriramo. Raziskave kažejo na zmanjšan donos kultur v primerjavi z AŽS (26), zato aspirat NF/žrela priporočamo samo, ko ni možno opraviti druge metode oz. v kombinaciji z le-timi.
- Bronhoalveolarni zperek (BAL): mikrobiološka analiza BAL je invazivna preiskava, ki pa ne poveča verjetnosti potrditve bolezni, zato ni mikrobiološka preiskava prvega izbora. Bronhoskopija sicer omogoča opredelitev endobronhialne bolezni, transbronhialno punkcijo mediastinalnih bezgavk in biopsijo pljučnega tkiva, zato je koristna preiskava pri napredovani obliki bolezni ali za opredelitev diferencialne diagnoze. Pri otroku mikrobiološko analizo BAL naredimo samo, če so podane druge indikacije za izvedbo bronhoskopije (27).

Laboratorijske tehnike:

- Mikroskopski pregled kužnin: je hitra in poceni metoda, ki omogoča identifikacijo bakterij, odpornih na kisline in alkohol (acido-alkoholerezistentni bacili). V zadnjih letih je metoda tehnično napredovala, kar je izboljšalo njeno občutljivost. Kljub temu je pri diagnozi otroške tuberkuloze njena občutljivost še zmeraj nizka, pod 15% (21).
- Osamitev MT (izolacija, kultivacija): je najbolj specifična in občutljiva laboratorijska metoda. Pozitivna je pri manj kot 50% otrok s pljučno tuberkulozo (2). V zadnjih letih je razvoj avtomatiziranega gojenja tekočih kultur omogočil večjo občutljivost in krajši čas do pozitivnih rezultatov v primerjavi s tradicionalno metodo kultivacije na trdnem gojišču (28). S to metodo lahko določamo občutljivost na antibiotike.
- Testi pomnoževanja nukleinskih kislin (amplifikacijski testi, PCR): omogočajo hitro identifikacijo genetskega materiala MT. Testi so bolj občutljivi in specifični od mikroskopskega pregleda, vendar manj občutljivi od kultivacije. Občutljivost je visoka pri BK pozitivnih vzorcih, vendar nizka pri paucibacilarnih oblikah, ki

predstavljajo večino primerov otroške tuberkuloze, zato je njihova korist pri otrocih omejena (10).

Eden izmed novejših molekularnih testov je test *Xpert MTB/RIF* (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA), ki je hitra in natančna metoda za mikrobiološki dokaz okužbe z MBT. Z njim lahko dokažemo tudi morebitno odpornost na rifampicin. Test je enostaven, njegov rezultat pa je na voljo že v 100 minutah. Kljub temu da je kultivacija še zmeraj bolj občutljiva metoda, je *Xpert MTB/RIF* precej hitrejša in bolj občutljiva kot mikroskopija. Omogoča praktično takojšnjo potrditev in usmerjeno zdravljenje predvsem, ko sumimo na MBT, odporno na antibiotike (29).

Postavitev diagnoze

Osamitev MTB iz kulture potrdi diagnozo aktivne TB. Sicer pri otrocih mikrobiološka potrditev ni vedno možna, v tem primeri kombinacija klinične slike in radioloških izvidov, skupaj s podatkom o izpostavljenosti tuberkulozi in pozitivnim izvidom imunoloških preiskav v večini primerov omogoča postavitve diagnoze.

Zdravljenje

Študije zdravljenja tuberkuloze pri otrocih potrjujejo uspešnost in varnost sočasne uporabe več tuberkulostatov. Pljučno tuberkulozo zdravimo prva dva meseca s protirno terapijo: izoniazid (INH), rifampicin (RMP) in pirazinamid (PZA). Po dveh mesecih PZA ukinemo in nadaljujemo z INH in RMP še 4 mesece (30,31). Dodatno zdravljenje z etambutolom (EMB) v začetni fazi terapije (štiritirno) predlagamo pri otrocih z razširjeno obliko pljučne tuberkuloze ali če obstaja sum, da gre lahko za MT odporno na INH (npr. vir okužbe iz države z visoko pojavnostjo MT, odporne na INH). V primeru tuberkuloznega meningitisa, tuberkuloze kosti in sklepov ali diseminirane oblike TB, je prav tako potrebno začetno dvomesečno štiritirno zdravljenje. Po dveh mesecih nadaljujemo z dvotirno terapijo za daljše obdobje (10 mesecev) (2, 31).

Tabela 2. Režim zdravljenja/ kemoprofilakse glede na obliko okužbe/bolezni

Oblika TB	Začetna faza zdravljenja	Nadaljevalna faza	Komentar
Stik s TB - Primarna kemoprofilaksa	INH +RMP		Do kontrolnega pregleda 8-12 tednov po zadnjem stiku s TB bolnikom
LTBO	3 m INH + RMP		
Pljučne TB in zunajpljučne TB razen (1)	2 m INH + RMP + PZA 2 m INH + RMP + PZA + EMB	4 m INH + RMP	Štiritirno pri razširjeni obliki pljučni TB oz. ob možni odpornosti na INH
(1) TB meningitis, TB kosti, sklepov in diseminirana/miliarna	2 m INH + RMP + PZA + EMB	10 m INH + RMP (7-10 m pri diseminirani TB)	

Predlagamo dodatek piridoksina pri izključno dojenih otrocih, pri podhranjenih otrocih in pri otrocih na dieti s pomanjkanjem/deficitom mesa ali mleka. Pred uvedbo terapije opravimo teste jetrne funkcije.

Prijavo v register za tuberkulozo pošljemo na obrazcu DEL 1 (Prijava aktivne tuberkuloze) ob odkritju aktivne TB. Takrat pričnemo z izpolnjevanjem obrazca DEL 2 (Karton zdravljenja). Ob zaključku terapije pošljemo v Centralni register izpolnjen obrazec DEL 2 in obrazec DEL 3 (Končno poročilo o uspehu zdravljenja).

V prvih dneh po postavitvi diagnoze tudi izpolnimo in pošljemo v Centralni register, prijavo na obrazcu DEL 5 (Epidemiološka anketa tuberkuloznega bolnika). Otroci so redko kužni, vendar je v redkih primerih pozitivne mikroskopije pri otroku potrebna obravnava kontaktov. Če je pri otroku z aktivno TB vir okužbe neznan, je po drugi strani treba v otrokovi najbližji okolici aktivno poiskati odraslega pacienta z aktivno boleznijo. Pregled kontaktov bolnega otroka se izvaja z namenom, da se odkrije vir okužbe.

Priporočeni odmerki zdravil in razpoložljive farmacevtske oblike zdravil v Sloveniji

Nedavne raziskave in ponovne analize podatkov so pokazale, da so pri otrocih starejših od 3 mesecev za doseganje terapevtske ravni v krvi potrebni večji odmerki zdravil prvega izbora (predvsem INH in EMB). Na podlagi tega je WHO leta 2010 izdala nova priporočila za zdravljenje TB pri otroku (32). Pri primarni kemoprofilaksi, zdravljenju LTBO in aktivne oblike tuberkuloze priporočamo zdravila v odmerkih prikazanih v Tabeli 3, kjer so tudi prikazane farmacevtske oblike zdravil, razpoložljive v Sloveniji ter morebitni neželeni učinki zdravil (2, 5).

Tabela 3. Priporočeni odmerki zdravil in razpoložljive farmacevtske oblike zdravil v Sloveniji

Zdravilo	Dnevni odmerek (razpon odmerkov) mg/kg	Največji dnevni odmerek mg	Farmacevtske oblike v RS	Neželeni učinki
Izoniazid	10 (10 - 15)	300	Rifinah® kombinirane tablete: - 300 mg/150 mg (RMP 300 mg/INH 150 mg) - 150 mg/100 mg (RMP 150 mg/INH 100 mg)	Blag porast jetrnih encimov Hepatitis Periferna nevropatija Gastritis Kožni izpuščaji
Rifampicin	15 (10 – 20)	600	Rifinah® kombinirane tablete: - 300 mg/150 mg (RMP 300 mg/INH 150 mg) - 150 mg/100 mg (RMP 150 mg/INH 100 mg) Rifadin a 300mg in 450 mg kaps	Rdečkasto obarvanje izločkov Bruhanje Hepatitis Preobčutljivost : izpuščaji, gripi podobni simptomi, povišana temperatura
Pirazinamid	35 (30 - 40)	2000	Pyrafat® 500 mg Rifater® kombinirane tablete (INH 50 mg, RPM 120 mg, PZA 300 mg)	Hepatitis Hiperuricemija Bolečine sklepov Kožni izpuščaji
Etambutol	20 (15 – 25)	2500	Myambutol 400 mg tbl	Optični nevritis Zmedenost Glavobol

Odsotnost komercialne oblike zdravil primernih za mlajše otroke zahteva prilaganje zdravil, ki so namenjena odraslim. Lekarne lahko iz vseh preparatov pripravijo praške, ki so primernejša oblika za mlajše otroke. Nemalokrat mlajši otroci slabo prenašajo zdravila v obliki praška, kar je lahko ponekod velik izziv pri zdravljenju. V slovenskih lekarnah je možno pripraviti tudi suspenzije, ki vsebujejo posamezne učinkovine (Tabela 4).

Tabela 4. Razpoložljive suspenzije

Ime pripravka	Pakiranje	Rok uporabe/ Shranjevanja
Izoniazid suspenzija: - 10 mg/ml - 20 mg/ml	50 ml	Zaprto 21 dni v hladilniku. Po odprtju do konca rok uporabe v hladilniku. Zaprto 7 dni v hladilniku. Po odprtju do konca rok uporabe v hladilniku.
Rifampicin suspenzija - 25 mg/ml - 50 mg/ml (rok uporabe 7 dni)	50 ml	Zaprto 28 dni na sobni temp. Po odprtju do konca roka uporabe na sobni temperaturi Zaprto 7 dni na sobni temp. Po odprtju do konca roka uporabe na sobni temperaturi
Pirazinamid suspenzija 100 mg/ml	50 ml	Zaprto 45 dni na sobni temp. Po odprtju 1 mesec na sobni temp.
Piridoksin (vit. B6) sirup 25mg/ml	30 ml	Zaprto: 30 dni v hladilniku. Po odprtju: do konca roka uporabe v hladilniku

Literatura:

- Whittaker, E., Jones, C. Kampmann, B.. TB in children. In: European Respiratory monograph: Tuberculosis 58; 206-218 (2012)
- American Academy of Pediatrics. Tuberculosis . In: Red book: 2012. Report of the Committee on Infetious Diseases (Pickering, L.) 736–759 (2012).
- World Health Organization. Guidance for national tuberculosis programmes on the management of tuberculosis in children. (2006).
- Bolnišnica Golnik. Nacionalni program obvladovanja tuberkuloze. 1–35 (2010).
- Canadian Tuberculosis Society. CANADIAN TUBERCULOSIS STANDARDS , 7 TH EDITION. *Can. Respir. J.* **20**, 1A–175A (2013).
- Zivkovic, Z., Paton, J. Pulmonary TB, latent TB and in vivo and in vitro test. In: ERS Handbook: Pediatric Respiratory Medicine (Eber, E., Midulla, F.) 270 – 283 (2013).
- Shingadia, D. & Burgner, D. in *Pediatr. Respir. Med.* (Taussig, L. & Landau, L.) 597–614 (Mosby, 2008).
- Marais, B. J. *et al.* A refined symptom-based approach to diagnose pulmonary tuberculosis in children. *Pediatrics* **118**, e1350–9 (2006).
- Starke, J.R. Tuberculosis in Children. *Semin Respir Crit Care Med.* 2004; 25 (3). www.medscape.com
- Shingadia, D. The diagnosis of tuberculosis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **31**, 302–5 (2012).
- Mandalakas, a M., Detjen, a K., Hesseling, a C., Benedetti, a & Menzies, D. Interferon-gamma release assays and childhood tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* **15**, 1018–32 (2011).

- 12) Machingaidze S, Wiysonge CS, Gonzalez-Angulo Y, Hatherill M, Moyo S, Hanekom W, Mahomed H. The utility of an interferon gamma release assay for diagnosis of latent tuberculosis infection and disease in children: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J.* 30(8):694-700. (2011)
- 13) Starke, JR; Committee On Infectious Diseases. Interferon- γ release assays for diagnosis of tuberculosis infection and disease in children. *Pediatrics* **134**(6):e1763-73 (2014)
- 14) Lighter J, Rigaud M, Eduardo R, Peng CH, Pollack H. Latent tuberculosis diagnosis in children by using the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test. *Pediatrics*123(1):30-7 (2009)
- 15) Kampmann, B. , Whittaker, E, Williams, A. et al. Interferon-gamma release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. *Eur Respir J.*;33(6):1374-82 (2009).
- 16) Marciniuk, D. D., McNab, B. D., Martin, W. T. & Hoepfner, V. H. Detection of pulmonary tuberculosis in patients with a normal chest radiograph. *Chest*115, 445–52 (1999).
- 17) Smuts NA, Beyers N, Gie RP, et al. Value of the lateral chest radiograph in tuberculosis in children. *Pediatr Radiol.*1994;24 :478– 480
- 18) Kim, W. S. *et al.* Pulmonary tuberculosis in infants: radiographic and CT findings. *AJR Am J Roentgenol/American J. Roentgenol.*187, 1024–33 (2006).
- 19) Uzum, K., Karahan, O. I., Dogan, S., Coşkun, A. & Topcu, F. Chest radiography and thoracic computed tomography findings in children who have family members with active pulmonary tuberculosis. *Eur. J. Radiol.*48, 258–262 (2003)
- 20) Starke, J. R. Pediatric tuberculosis: time for a new approach. *Tuberculosis* 83, 208-212 (2003).
- 21) Zar, H. J., Hanslo, D., Apolles, P., Swingler, G. & Hussey, G. Induced sputum versus gastric lavage for microbiological confirmation of pulmonary tuberculosis in infants and young children: a prospective study. *Lancet*365, 130–4 (2005).
- 22) Migliori, G. B. *et al.* European union standards for tuberculosis care. *Eur. Respir. J.*39, 807–19 (2012).
- 23) Navodila za odzem in transport kužnin - Klinika Golnik - Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik. at <http://www.klinika-golnik.si/dejavnost-bolnisnice/klinicna-dejavnost/laboratorijska-dejavnost/navodila-za-odzem-in-transport-kuznin.php>
- 24) Lobato, M. N., Loeffler, A. M., Furst, K., Cole, B. & Hopewell, P. C. Detection of Mycobacterium tuberculosis in Gastric Aspirates Collected From Children: Hospitalization Is Not Necessary. *Pediatrics*102, e40– (1998).
- 25) Stockdale, A. J., Duke, T., Graham, S. & Kelly, J. Evidence behind the WHO guidelines: hospital care for children: what is the diagnostic accuracy of gastric aspiration for the diagnosis of tuberculosis in children? *J. Trop. Pediatr.*56, 291–8 (2010).
- 26) Oberhelman, R. a *et al.* Diagnostic approaches for paediatric tuberculosis by use of different specimen types, culture methods, and PCR: a prospective case-control study. *Lancet Infect. Dis.*10, 612–20 (2010).
- 27) Bibi, H. Should Bronchoscopy Be Performed in the Evaluation of Suspected Pediatric Pulmonary Tuberculosis? *Chest*122, 1604–1608 (2002).
- 28) Scarparo, C. *et al.* Evaluation of the BACTEC MGIT 960 in comparison with BACTEC 460 TB for detection and recovery of mycobacteria from clinical specimens. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*44, 157–61 (2002)
- 29) Rachow, A. *et al.* Increased and expedited case detection by Xpert MTB/RIF assay in childhood tuberculosis: a prospective cohort study. *Clin. Infect. Dis.*54, 1388–96 (2012).
- 30) World Health Organization. Treatment of Tuberculosis in Children. **274**, 722–723 (2010).
- 31) Beden, A. B. & Maček, V. OBRAVNAVA OTROKA OB STIKU S TUBERKULOZNIM BOLNIKOM. *Zdr. Vestn.*75, 235–240 (2006).
- 32) World Health Organization. Treatment of Tuberculosis in Children. **274**, 722–723 (2010).

PROTITUBERKULOZNA ZDRVILA (PTZ) – ALI SE RAZLIKUJEJO OD DRUGIH ZDRAVIL

Janez Toni, mag. farmacije, klinični farmacevt

Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

E-pošta: janez.toni@klinika-golnik.si

ODMERKI PROTITUBERKULOZNIH ZDRAVIL ZA ODRASLE

Rifater tbl (50mg/120mg/300mg)

TM	odmerek
<40kg	3 tbl
40-49kg	4 tbl
50-64kg	5tbl
>65kg	6tbl

Rifinah tbl

TM	zdravilo	odmerek
<50kg	Rifinah 150mg/100mg	3 tbl
≥50kg	Rifinah 300mg/150mg	2 tbl

Odmerki monokomponent zdravil 1. reda

učinkovina	odmerek	prilagoditev oGF<30ml/min	odmerka	pri
rifampicin	10mg/kg, max 600mg	nespremenjen		
izoniazid	5mg/kg, max 300mg	nespremenjen		
pirazinamid	15-30mg/kg, max 2g	3x tedensko		
etambutol	15-25mg/kg	3x tedensko		

M.Košnik e tal. *Interna medicina*, 4. Izdaja, Littera picta. Ljubljana 2011.

SmPC zdravil Rifater in Rifinah

OPOMNIK ZA JEMANJE

- Jemanje na zdravil tešče (vsaj 2 uri po zadnjem obroku in vsaj 30 minut pred naslednjim obrokom). Jemanje s hrano lahko zmanjša biološko uporabnost.
- Tudi nekatera zdravila lahko zmanjšajo biološko uporabnost (npr. kalcij, magnezij, železo), zato naj se jemljejo ločeno od PTZ (vsaj 2-urni razmik).

učinkovina	vpliv hrane na absorpcijo zdravil
rifampicin	zmanjšanje Cmax za 26% , ni vpliva na AUC
izoniazid	zmanjšanje plazemskih koncentracij (Cmax in AUC) do za 69%, predvsem zaradi OH in maščob
pirazinamid	ni vpliva na Cmax, ni vpliva na AUC
etambutol	zmanjšanje Cmax za 17%, ni vpliva na AUC

V primeru želodčnih težav je bolje, da se zdravila jemljejo z antacidi kot s hrano. V res izjemnih primerih lahko bolnik zdravila zaužije z lažjim obrokom.

Lin e tal. Impact of food and antacids on the pharmacokinetics o fanti-tuberculosis drugs: systematic review and meta-analysis. Int J tubec Lung Dis 14(7):806-818. 2010 The Union.

C.Lange, GB Miglioriet al. Tuberculosis. European Respiratory Monograph Number 58, December 2012.

OPOMNIK ZA NEKATERE POMEMBNE NEŽELENE UČINKE

neželeni učinek	vzrok	pozornost	ukrepi
hepatotoksičnost	izoniazid, pirazinamid, rifampicin	etanol, jetrne bolezni, sočasna hepatotoksična zdravila	Spremljanje jetrne funkcije, prekinitiv zdravljenja
trombocitopenija, trombocitopenična purpura	rifampicin	trombocitopenija v preteklosti	ukinitev rifampicina
periferna neuropatija	izoniazid	prisotni drugi dejavniki tveganja za neuropatijo	piridoksin 100- 200mg/dan
retrobulbarni nevritis	etambutol	zdravljenje z etambutolom > 2 meseca, ledvična odpoved	prekinitiv, napotitev k specialistu
artralgie	pirazinamid, etambutol, izoniazid		NSAR ali Aspirin
kožna preobčutljivost	izoniazid, rifampicin, pirazinamid, etambutol		antihistaminiki, lokalni kortikosteroidi
akutna ledvična odpoved	rifampicin	uporaba drugih nefrotoksičnih zdravil	spremljanje oGF

**neželeni učinki se lahko razvijejo kadarkoli tekom zdravljenja (pomembne redne kontrole)!*

C.Lange, GB Miglioriet al. Tuberculosis. European Respiratory Monograph Number 58, December 2012.

Zaleskis R. Adverse Effects of Anti-tuberculosis Chemotherapy. European respiratory Disease 2006.

POZORNOST PRI KRONIČNI TERAPIJI

- Rifampicin je močan induktor CYP 1A2, 2A6, 2B6, 2C19, 2C18, 2C9, 3A4, P-glikoproteina, UGT1A1
- Isoniazid je srednje močan inhibitor CYP 2A6, 2C19, 2D6, 2E1

Nastop **indukcije** se izrazi postopoma, polni učinek je izražen v roku 1 meseca po začetku terapije. Ob ukinitvi induktorja indukcija izzveni postopoma, učinek popolnoma izzveni v roku 1 meseca.

Nastop **inhibicije** je po prvem odmerku inhibitorja in se v polnosti izrazi po nekaj odmerkih. Ob ukinitvi inhibitorja učinek inhibicije izzveni v roku 1 tedna.

Glavne skupine zdravil*, na katera lahko vplivata rifampicin in isoniazid (seznam NI dokončen):

- **Kalcijevi antagonisti; periferni (amlodipin...) in centralni (verapamil)**
- **Posamezna zdravila za zdravljenje HIV**
- **Hormonsko nadomestno zdravljenje**
- **Kontraceptivi**
- **Statini**
- **Zaviralci protonske črpalke**
- **Zaviralci beta (karvedilol, propranolol)**
- **Antiepileptiki (karbamazepin, valproat)**
- **Imunosupresivna zdravila (ciklosporin)**
- **Glukokortikoidi**
- **Peroralni antikoagulanti**
- **Antimikotiki**
- **Sulfonilsečnine**
- **Opioidi**

*med zdravili znotraj posamezne skupine so pri vplivu indukcije/inhibicije razlike

Finch CK, Chrisman CR, Baciewicz AM, Self TH. Rifampin and Rifabutin Drug interactions. Arch intern Med, vol 162, May 13, 2002

www.uptodate.com, dostop 15.3.2016

ZDRAVSTVENA OSKRBA BOLNIKA S TUBERKULOZO

Barbara Zadnik, dipl.m.s.

Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

E- pošta: barbara.zadnik@klinika-golnik.si

Uvod

Zdravstvena nega in oskrba pacienta s tuberkulozo (TB) ali sumom na TB zahteva od zdravstvenega osebja poseben pristop. Zdravstveni delavec mora poznati bolezen in obvladovati vsebine s področja preprečevanja prenosa okužbe z *M.tuberculosis* in učinkovito delovati v timu. Ena izmed najpomembnejših vlog medicinske sestre pri vodenju teh bolnikov je predvsem zdravstvena vzgoja in nudenje podpore v okviru koordiniranega odpusta tudi po končanem bolnišničnem zdravljenju.

Sprejem pacienta

Na oddelek za zdravljenje bolnikov s TB so lahko sprejeti pacienti z že potrjeno diagnozo TB oziroma s sumom na TB iz: drugih bolnišnic, splošnih in pulmoloških ambulant zdravstvenih domov ter urgentnih ambulant drugih bolnišnic.

Zaradi poenotenega postopka sprejema le teh pacientov imamo v Kliniki Golnik izdelan algoritem sprejema pacienta s TB oz. s sumom na TB. Postopki se razlikujejo glede na kužnost pacienta.

Pacientom, pri katerih je diagnoza TB že potrjena in so kužni ali pri pacientih s sumom na TB, se v sprejemnem postopku izvede le administrativna obravnava. Govorimo o t.i. dogovorjenem sprejemu, kjer je bolnišnično osebje že vnaprej seznanjeno s prihodom pacienta. Pravilno je, da imajo ti pacienti že med samim transportom nameščeno ustrezno kirurško masko.

Zaradi omejevanja širjenja okužbe (dodatna pot na preiskave) pacient že pred sprejemom na oddelek opravi rentgensko slikanje pljuč. Zagotoviti moramo, da pacient čaka na sprejem izjemoma in še to v ločenem prostoru. Čakalnica mora imeti nameščeno UV luč in imeti možnost prezračevanja. Od ostalih prostorov mora biti ločena z vrati. Pacienti brez spremstva zdravstvenega osebja čakalnice ne smejo zapuščati.

Pacienti, ki so sprejeti po dogovoru z diagnozo limfadenitis, TB plevritis, mikroskopsko negativno (v kulturi pozitivno) TB pljuč in z oblikami zunaj-pljučne TB (TB kosti, ledvic, rodil, bezgavk,...) praviloma niso kužni in ne potrebujejo zaščitne maske. Pogoj: direktno negativen izmeček; v kolikor tega ne moremo dokazati/preiskava ni bila izvedena, pacienti dobijo zaščitno kirurško masko. Pacienti nosijo kirurško masko dokler ne oddajo treh ustreznih izmečkov, ki pa morajo biti direktno negativni.

Slednjim pacientom po administrativnem sprejemu sledi v urgentni ambulanti merjenje vitalnih, snemanje EKG in napotitev na rentgensko slikanje pljuč. Praviloma se pacientu odvzame tudi kri za laboratorijske preiskave. Po zaključku obravnave se

pacienta napoti na oddelke za zdravljenje TB. Po naročilu zdravnika se vse preiskave lahko izvedejo tudi na oddelku.

Namestitev pacienta

Pacienta na oddelku namestimo v bolniško sobo glede na vrsto diagnoze. Kadar obstaja sum na TB, je nujno pacienta izolirati v enoposteljno sobo, z lastnimi sanitarijami (soba s podtlakom). Pri pacientih, pri katerih je TB laboratorijsko dokazana in je uvedeno zdravljenje s proti-tuberkuloznimi zdravili (PTZ), uporabljamo princip kohortne izolacije. Vse paciente pri katerih gre/ali bi lahko šlo za rezistentno obliko TB namestimo v enoposteljno izolacijsko sobo (podtlak).

Odvzem kužnin

Namestitvi in higieni ureditvi sledi odvzem kužnin, kar je naloga medicinske sestre. Najpogosteje se poslužujemo indukcije izmečka, če pri bolniku ne obstajajo kontraindikacije (npr. hemoptize). Indukcijo smemo izvajati le v komori za indukcijo, ki mora ustrezati varnostnim standardom in nuditi zaščito (poleg uporabe ostalih ukrepov) pred prenosom okužbe.

Praviloma mora pacient oddati tri zaporedne izmečke v treh zaporednih dneh. Če je prvi inducirani izmeček pozitivni, pacient nadalje oddaja spontane izmečke.. v primeru, da sta dva izmečka pozitivna, izmečkov ni potrebno več izvajati.

Kadar obstajajo kontraindikacije za indukcijo ali bolnik zanjo ni sposoben (hemoptize, slabo sliši, je slep, slabo pokreten), mora oddati spontane izmečke. Naloga medicinske sestre je, da pacienta pouči kako se naj pravilno in zadostno (vsaj 3ml9 izkašlja.

Pri nepokretnih, starejših pacientih kužnino lahko pridobimo s pomočjo aspiracije zgornjih dihal ali z lavažo želodca.

Po naročilu zdravnika odvozamo tudi druge kužnine: bris ali punktati bezgavke, bris rane, urin, kri,...

Dokumentacija

Po sprejemu pacienta in identifikaciji (identifikacijska zapestnica) na oddelek medicinska sestra pridobi pacientove podatke za negovalno anamnezo, pacienta oceni glede možnosti padca, načrtuje in izvede ukrepe za preprečitev teh. naredi oceno po Waterloo shemi in izvede ustrezne ukrepe, če so potrebni. Na podlagi pridobljenih podatkov oceni stanje pacienta, identificira negovalne probleme in napiše načrt zdravstvene nege. Izpolni obrazec »Obravnava pacienta na oddelku za zdravljenje tuberkuloze«, ki zajema podatke: vzroku sprejema, kraju napotitve, katere preiskave so bile izvedene, katere kužnine odvzete,... Zdravnik izpolni temperaturno listo in indicira zdravljenje ter nadaljnje preiskave.

Zdravstvena vzgoja

Z zdravstveno vzgojo pacienta je potrebno pričeti takoj, že ob samem sprejemu na oddelek. Pacienta je potrebno naučiti kako in zakaj se uporablja kirurška maska, kako se izvaja higiena izkašljevanja. Seznanjeni ga s pomenom prezračevanja in uporabo UV svetilke. Z naštetimi vsebinami so seznanjeni vsi pacienti, ne glede na to, ali gre za potrjeno TB ali le za sum.

Pred prvim prejetjem PTZ pacienta poučimo o:

- Pravilnem načinu jemanja zdravil
- Uživanju hrane in pijače
- Obarvanosti telesnih tekočin
- Stranskih učinkih

Enkrat tedensko se izvaja skupinska zdravstvena vzgoja. V šoli za paciente s TB sodeluje medicinska sestra, zdravnik, farmacevt, laborant in dietetik. Šola za posamezne izvajalce poteka ločeno.

Vsebine šole, ki jo vodita medicinska sestra/zdravnik:

- kaj je tuberkuloza
- oddaja kužnin
- ukrepi za preprečevanje prenosa okužbe
- poznavanje PTZ, pomen in način jemanja zdravil
- stranski učinki PTZ
- nadzorovano zdravljenje

Družinski razgovori

Pri zdravstveni obravnavi pacienta s TB je potrebno vključevati tudi svojce ali pomembne bližnje. Tekom hospitalizacije je potrebno opraviti vsaj en družinski razgovor. Na družinskem razgovoru so poleg pacienta in njegovih svojcev prisotni še zdravnik, medicinska sestra, socialna delavka. Razgovor je namenjen informiranju o bolezni in zdravljenju in zdravstveni vzgoji, še posebej takrat kadar pacient sodelovanja ni zmožen (starost, nerazumevanje,...) S pomočjo odprte komunikacije je lažje odpraviti morebitne strahove in vzpostaviti podporni sistem za pacienta in njegove svojce.

Družinski sestanek je namenjen tudi načrtovanju pacientovega odpusta in organizaciji nadzorovanega zdravljenja. Na srečanju je možno pridobiti podatke za izvedbo potrebnih pregledov kontaktov. Občasno se zaradi neugodne socialne mreže ali anamnestičnih podatkov (alkoholizem, uživanje prepovedanih drog, ipd. zdravnik odloči za podaljšano bolnišnično zdravljenje z namenom zagotavljanja ustreznega nadzorovanega zdravljenja.

Prehrana

Zdrava prehrana je pri zdravljenju TB bistvenega pomena. Neješčne paciente je potrebno spodbujati, da sodelujejo pri načrtovanju jedilnika. Pacientom omogočamo prilagoditev individualne prehrane (npr. hrana po želji). Zaradi zagotavljanja ustreznega prehranskega režima (kaloričnost, kakovost, količina, konsistenca, navade,...) je potrebno redno sodelovanje s kliničnim dietetikom, ki mora skupaj s pacientom načrtovati primeren jedilnik. Spremembe v telesni teži je potrebno redno spremljati (vsaj na 5 dni) zaradi prilagajanja doz PTZ.

Obiski

Obiski na oddelku za zdravljenje TB so dogovorjeni, evidentirani in omejeni na dvakrat po eno uro na dan. Na obisk smeta priti dve osebi (eni in isti: npr.: žena in sin), ki sta bili že pred sprejemom v tesnejšem in pogostejšem stiku s pacientom. Ukrep omejevanja obiskov izvajamo z namenom preprečevanja širjenja okužbe z bacilom TB: Nosečnicam, majhnim otrokom in akutno bolnim so obiski prepovedani. Bolniki s sumom na TB obiskov praviloma nimajo. Z namenom informiranja pacientov in svojcev smo izdelali navodila obiskovalcem na oddelku za zdravljenje TB.

Socialna problematika

Na oddelku za zdravljenje TB zaradi sledeče problematike pogosto vzpostavljamo komunikacijo s socialno službo Klinike Golnik:

- neurejeno zdravstveno zavarovanje,
- brezdomstvo,
- pomoč pri nameščanju v socialne zavode,
- brezposelnost/izgube službe,
- neustrezne socialna mreže (npr.: disfunkcionalna družina),
- stigmatizacija,
- itd.

Koordiniran odpust bolnika

Ne glede na to, da je hospitalizacija bolnikov s TB praviloma daljša, je potrebno odpust bolnika načrtovati že ob samem sprejemu v bolnišnico. Tekom hospitalizacije imamo čas za pridobitev informacij o življenju bolnika v domačem okolju (domače razmere, delo, zdravstveno zavarovanje, uživanje alkohola in/ali prepovedanih drog.

Aktivnosti v zvezi z odpustom.

- evalvacija zdravstvene vzgoje,
- individualna organizacija nadzoranega zdravljenja ZA VSE PACIENTE S TB,

- vključitev v modul koordinacije odpusta pacienta s TB,
- preskrba z zdravili (vključevanje kliničnega farmacevta),
- dokumentacija zdravstvene nege (npr. Poročilo službi zdravstvene nege),
- zdravniška odpustnica,
- obrazec »Navodila za jemanje zdravil za zdravljenje tuberkuloze« in
- obrazec »Navodila bolnikom obolelim za tuberkulozo in njihovim svojcem ob odpustu«.

Vse bolnike z dokazano obliko TB vključimo v modul koordiniranega odpusta bolnika s TB. Medicinska sestra je poleg organizacije nadzorovanega zdravljenja odgovorna za sledenje pacienta do zaključka celotnega režima PTZ. S tem namenom komunicira z izvajalci nadzorovanega zdravljenja v domačem okolju pacienta.

Najpogosteje nadzorovano zdravljenje izvajajo medicinske sestre v pulmoloških ambulantah, pri starejših pacientih pa patronažne medicinske sestre. Pogosto sodeluje z domovi starejših občanov, socialnih zavodov, metadonskimi ambulantami, ambulantami osebnih zdravnikov, azilnim centrom ipd. Vsako komunikacijo s terenom (klici v okviru koordinacije odpusta) beleži v računalniški sistem, kar zagotavlja sledljivost, natančnost in poudarja samostojno vlogo in odgovornost medicinske sestre. Koordiniran odpust je pomemben predvsem zaradi komunikacije med bolnišničnim okoljem in terenom, saj zagotavlja podporo tako pacientu in njegovim svojcem kot tudi medicinskim sestram, ki vodijo paciente v domačem okolju.

Zaključek

Delo s pacientom s TB zahteva od medicinske sestre veliko strokovnega znanja, kreativnega mišljenja in sposobnosti empatije. Zaradi pogosto dolgotrajne hospitalizacije je potrebna redna in poglobljena komunikacija s pacientom in njegovimi svojci, da lahko pacient uspešno dokonča zdravljenje.

UKREPI ZA PREPREČEVNAJE PRENOSA OKUŽBE Z

M. Tuberculosis

Maruša Ahačič, mag. zdr. nege

Klinika Golnik

E- pošta: marusa.ahacic@klinika-golnik.si

Uvod

Tuberkuloza (TB) je nalezljiva bolezen. Najpomembnejši ukrepi za učinkovit program preprečevanja tuberkuloze so zgodnje prepoznavanje, osamitev, učinkovito zdravljenje. Pomembni so ukrepi za preprečevanje okužbe v zdravstvenih ustanovah in domačem okolju. Sodelovanje pacientov je ključen za preprečevanje širjenja okužbe.

Ukrepi za preprečevanje prenosa okužbe z *M. tuberculosis* (MT)

Izredno pomembno pri učinkovitosti preprečevanja prenosa okužbe z MT v zdravstvenih ustanovah je čimprejšnje odkrivanje okužbe. Pri pacientih, kjer je postavljen sum na TB je potrebno strogo izvajanje izolacije pacienta, kužne paciente pa ustrezno zdraviti. Potreben je tudi nadzor nad zdravstvenim stanjem zaposlenih, ki prihajajo v stik s pacienti, ki se imajo kužno obliko TB.

Da bi dosegali vse cilje, moramo izvajati hierarhično urejene ukrepe, ki so razporejeni na treh nivojih.

1. ADMINISTRATIVNI UKREPI - vsaka zdravstvena ustanova mora imeti izdelano oceno tveganja. Glede na oceno tveganja morajo imeti v zdravstvenih ustanovah izdelane pisne protokole, implementacijo in izvedba učinkovitih delovnih navad in postopkov, izobraževanje, treningi in svetovanje zdravstvenih delavcem glede TB ter pregledi zdravstvenih delavcev na latentno okužbo in na bolezen.
2. TEHNIČNI UKREPI - Izvajamo jih v prostorih, kjer se nahajajo kužni pacienti s TB. Najučinkovitejši sistem zmanjševanja koncentracija kužnih delcev v prostoru je uporaba ventilacije s podtlakom, uporaba HEPA filtrov. Uporaba ultravijoličnih svetilk sicer ne nadomesti podtlaka ali HEPA filtrov, vendar se njihova uporaba priporoča v prostorih z nepredvidljivo količino kužnega aerosola oziroma v prostorih, kjer se zadržujejo pacienti. Pomembno je temeljiti zračenje prostorov, kjer se zadržujejo kužni pacienti, zlasti v prostorih, kjer drugačna ventilacija ni možna.

3. OSEBNA ZAŠČITNA SREDSTVA - uporaba respiratorjev pri zdravstvenih delavcih kot zaščita pred okužbo z bacili MT, ki zagotavljajo filtriranje vsaj 95 % vseh delcev, manjših od enega mikrona in morajo dopuščati manj kot 10 % uhajanja zračnega toka ob stiku maske z obrazom (standard FFP3) in delujejo od zunaj navznoter. Zdravstveni delavci morajo biti o pravilni uporabi seznanjeni, masko morajo uporabiti ob vsakem kontaktu s pacientom s sumom na TB, s kužnim pacientom ali pri posegih, kjer je stopnja tvorbe aerosola MT večja (aspiracije, bronhoskopija, ob respiratorni fizioterapiji, indukcija izmečka). Zaščitni respirator lahko uporabljamo dokler je suh in nepoškodovan oziroma največ 8 ur, po uporabi pa ga zavržemo med infektivne odpadke. O pravilni uporabi je potrebno naučiti tudi svojce, ki pridejo na obisk k pacientom.

Uporaba zaščitnih kirurških mask je potrebna tudi pri pacientih, da ne širijo število aerosolov v času kužnosti v stiku z zdravstvenimi delavci.

Za čim bolj varno obravnavo pacientov s TB in preprečevanje prenosa moramo imeti razvite še dodatne ukrepe. Mednje zagotovo sodi IZOLACIJA pacientov, s katero preprečimo morebitno širjenje bacilov. Kadar pri pacientih obstaja sum na TB so izolirani v enoposteljnih sobah do izključitve (po treh negativnih izmečkih) ali potrditve TB. V teh izolacijskih sobah je vzpostavljen tudi podtlak. V času izolacije se zdravstveni delavci obnašajo kot da obravnavajo kužnega pacienta. Ko je TB dokončno potrjena, so pacienti premeščeni na oddelek za zdravljenje TB, kjer izvajamo kohortno izolacijo in so pacienti izolirani od ostalih pacientov.

V Kliniki Golnik je zdravljenju TB namenjeno 14 postelj na oddelku za TB, kamor dostopamo preko dvojnih vhodnih avtomatskih vrat, med katerimi je vzpostavljen podtlak. Poleg tega imamo na oddelku zagotovljeni dve izolacijski sobi s podtlakom, ki sta med seboj popolnoma ločeni in sta namenjeni pacientom s sumom na TB. Ena izolacijska soba se nahaja na intenzivnem oddelku, kjer je ravno tako vzpostavljen podtlak za življenjsko ogrožene paciente s TB.

Pri preprečevanju prenosa TB ima zelo pomembno vlogo medicinska sestra z natančno in redno zdravstveno vzgojo že v času suma na TB. Paciente je že v času bivanja v izolaciji potrebno naučiti pravilne HIGIENE KAŠLJA. Pacient mora ob siljenju na kašelj vzeti dva robčka, v katera se izkašlja in ju nato odvrže v koš za infektivne odpadke. Higieno kašlja morajo pacienti izvajati več čas kužnosti oziroma dokler je prisoten produktiven kašelj.

Poleg zdravstvene vzgoje pacientov, se medicinske sestre na oddelku za TB posvečajo tudi zdravstveni vzgoji svojcev, ki prihajajo na obisk k pacientom, ki ostajajo na zdravljenju dolgo časa. Tudi svojci morajo upoštevati in uporabljati zaščitna sredstva, pravilne uporabe jih naučijo medicinske sestre in sprotno

preverjajo pravilno namestitve in jih opozarjajo na primernost mask. Število svojcev je zmanjšano na minimalno število, da bi zmanjšali možnost prenosa okužbe.

Zelo pomembno je stalno izobraževanje zdravstvenih delavcev, ki delujejo na oddelku za TB kot tudi na drugih ravneh zdravstvene obravnave. Dobro izobraženi zdravstveni delavci se namreč znajo zaščititi pred okužbo s TB. Zdravstveni delavci, ki dalj časa delajo na oddelkih s TB, sčasoma podcenjujejo pomembnost uporabe zaščitnih respiratorjev, zato je znanje potrebno nadgrajevati. Zagotovo pa je potrebno, da so v vseh zdravstvenih ustanovah pravilna zaščitna sredstva tudi dostopna za vse zdravstvene delavce, ki pridejo v stik s pacientom s sumom na kužno obliko TB, saj je preventiva precej cenejša kot odsotnost in zdravljenje zdravstvenega delavca

Zaključek

Pomembno je, da zdravstveni delavci poznajo vse nivoje preprečevanja prenosa tuberkuloze, saj v stik s pacienti s sumom ali aktivno boleznijo prihajajo v stik na vseh ravneh zdravstvene obravnave. S poznavanjem ukrepov in dostopnostjo zaščitnih sredstev in stalnim izobraževanjem se zmanjša možnost prenosa TB med zdravstvenimi delavci in pacienti.

Literatura:

1. Svetina Šorli P., Eržen D. & Košnik M. Preprečevanje prenosa okužbe z MT v zdravstvenih ustanovah in pregledovanje zdravstvenih delavcev. V: 16. redni posvet o obravnavi in spremljanju bolnikov s tuberkulozo (TB) v Sloveniji (Košnik M, ed) mar 24; 2011; Ljubljana. Ljubljana: Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik, 2011; 20-8.
2. Svetina Šorli P. Pljučna in izvenpljučna tuberkuloza. V: Tuberkuloza in okužbe dihal pri imunokompromitiranih pacientih (Prestor L., ed.) maj 14 in 15; 2010. Kranjska gora: Zbornica zdravstvene in babiške nege Slovenije- ZDMSBZTS, Sekcija medicinskih sester in zdravstvenih tehnikov v pulmologiji; 11-22.
3. Softič B. Vloga medicinske sestre pri obravnavi pacienta s tuberkulozo, diplomsko delo, 2013.
4. Zadnik B. Ukrepi za preprečevanje prenosa okužbe z M. tuberculosis. V: Priporočila za preprečevanje prenosa okužb z M. tuberculosis v zdravstvenih ustanovah (Svetina Šorli, P, ed.) okt 23; 2013. Golnik: Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo, 2013; 14-7.
5. CDC. Guidelines for Preventing the Transmission of Mycobacterium tuberculosis in Health-Care Settings, 2005. Dostopno na: www.cdc.gov/tb/publications/slidesets/InfectionGuidelines/default.htm (1.3.2016).
6. Zhou F., Zhang L., Gao L., Hao Y., Zhao X., Liu J., Lu L., Li X., Chen J. & Deng. Latent Tuberculosis Infection and Occupational Protection among Health Care Workers in Two Types of Public Hospitals in China. J.PLoS One. 2014; 9(8): e104673.
7. Jensen P. A., Lambert L. A., Iademarco M.F., Ridzon R. Guidelines for Preventing the Transmission of Mycobacterium tuberculosis in Health-Care Settings. Division of Tuberculosis Elimination, National Center for HIV, STD, and TB Prevention, 2005; 1-141.

Postrska sekcija:

Spoligotyping – one way of typing *Mycobacterium tuberculosis* Nation-wide characterization of Slovenian isolates

Urška Bidovec-Stojkovič, Manca Žolnir – Dovč

University Clinic of Respiratory and Allergic Diseases, Laboratory for Mycobacteria,
SI-4204 Golnik, Slovenia, e-mail: urska.bidovec@klinika-golnik.si

Background

Infectious diseases, in particular tuberculosis (TB) represent a global threat for human health. Globally numbers of new TB cases are increasing. Slovenia is one of the countries with low incidence of TB: 14.7, 13.2 and 13.9 / 100,000 inhabitants in 2003, 2004 and 2005, respectively. Molecular genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) isolates with different methods (RFLP IS6110, spoligotyping, MIRU VNTR) is a useful tool for epidemiological studies and for understanding the transmission of tubercle bacilli from one patient to another. Spoligotyping is rapid and economical way of typing *M. tuberculosis* isolates which is based on polymerase chain reaction (PCR) amplification of a highly polymorphic direct repeat locus (DR) in the *M. tuberculosis* genome (*Figure 1*). It can recognize one group of strains, the Beijing family, which has been associated with outbreaks in a number of communities throughout the world.

Aim

To characterize with spoligotyping method all culture positive isolates *M. tuberculosis* in Slovenia in the three year period 2003-2005 and to recognize the most interesting spoligotypes.

Method

A total of 734 Slovenian *M. tuberculosis* isolates were characterized by international standardized spoligotyping method. Isolates were obtained from 734 culture-positive TB patients.

Results

Among 734 *M.tuberculosis* isolates 192 different spoligotype patterns were obtained. Unique spoligotype pattern was found in 129 isolates (17.6%) while 605 isolates (82.4%) were in 63 spoligotype clusters (2-113 isolates / cluster). Only one strain from Beijing family was found, isolated from Chinese patient living in Slovenia. The most common spoligotype pattern was S29 (shared type 53) found in 113 patients (15.4%). Spoligotype S13 (shared type 47) was found with 95 patients (13%). In addition, spoligotype S28 (shared type 50) was found in 86 patients (11.7%), (*Figure 3*). Only 129 patients (17.6%) had unique spoligotype pattern.

Conclusion

M. tuberculosis isolates with ubiquitous spoligotypes were found to be common in Slovenia, but many spoligotype patterns specific to Slovenia were also detected. Nevertheless, Beijing family isolates were rarely encountered (in one case only), although this spoligotype is predominant in some parts of the world.

Identification of non-tuberculous mycobacteria species in routine clinical practice using MALDI-TOF mass spectrometry

Authors: Eva Sodja¹, Nada Šorli Peranović¹, Helena Ribič², Manca Žolnir-Dovč¹

¹University Clinic of Respiratory and Allergic Diseases Golnik, Laboratory for Mycobacteria, Golnik 36, 4204 Golnik, Slovenia

²National Laboratory of Health, Environment and Food, Centre for Medical Microbiology, Gosposvetska 12, 4000 Kranj, Slovenia

Background: Significant number of new mycobacteria species is described each year. Therefore, there is an urgent need for new methodologies to rapidly identify clinically relevant non-tuberculous mycobacteria (NTM) species isolated from clinical samples. Matrix-assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) has been recently proven to effectively identify mycobacteria directly from cultures. The aim of our study was to compare MALDI-TOF MS Biotyper system (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) to Geno Type *Mycobacterium* CM/AS (GTM; Hain Lifescience, Nehren, Germany) and to evaluate its use in our routine laboratory practice.

Methods: A total of 34 NTM isolates from various clinical materials were tested in this study. NTM subcultures grown on solid media (Middlebrook 7H10 or Löwenstein-Jensen) were initially identified with GTM assays. For MALDI-TOF MS analysis, the NTM colonies were inactivated by heating up to 100°C and 0.5mm zirconia/silicate beads were used for mechanical disruption, as recommended by Bruker Daltonics. Protein extraction was elicited with acetonitrile and formic acid. The samples were pipetted onto MALDI target plate and identified with Bruker MALDI Biotyper using automatic spectral acquisition and Bruker Mycobacteria Library 1.0.

Results: All mycobacterial isolates were identified using GTM as NTM of which 5 were *M. avium*, 5 *M. chelonae*, 5 *M. xenopi*, 4 *M. goodii*, 4 *M. fortuitum*, 2 *M. intracellulare*, 1 *M. interjectum*, 2 *M. kansasii*, 4 *M. abscessus* and 2 *M. fortuitum* 2/M.

mageritense. The Bruker mycobacteria library gave a spectral scores higher than 1.7 for 30 (88.2%) NTM isolates and 28 (93.3%) of these isolates were correctly identified to the species level when compared with the GTM. The remaining 4 (11.8%) NTM isolates yielded in spectral scores lower than 1.7 (3) or no spectra were found (1) during MALDI TOF analysis. Two (5.9%) isolates identified as *M. fortuitum*2/*M. mageritense* with GTM were identified as *M. senegalense* using mycobacteria library (scores higher than 2.0) and will be subjected to 16S rRNA sequencing.

Conclusion: According to our data, MADLI-TOF MS has potential for identifying mycobacteria in the clinical laboratory practice, by reducing identification turnaround time and laboratory costs. Nevertheless, further work to optimize limiting factors (type of medium used for mycobacteria growth, quantity and age of the mycobacteria culture, maycobacteria library with higher number of species) is still crucial.

The importance of pre-analytic factors in QUANTIFERON-TB GOLD test

Urška Bidovec-Stojkovič, Manca Žolnir-Dovč

University Clinic of Respiratory and Allergic Diseases, Laboratory for Mycobacteria,
SI-4204 Golnik, Slovenia, e-mail: urska.bidovec@klinika-golnik.si

Background

Addition of a third (mitogen, M) tube to Nil (N) and Antigen (A) tubes in QuantiFERON - TB Gold in-tube (QFT-IT) test represented an important step as the test gained a new value; the result of M tube can give information about immune status of a person or incorrect transport of blood to the laboratory.

QFT-IT is used in our laboratory since 2004. Mitogen tube was introduced into daily routine in 2008. The aim of our study was to evaluate the influence of pre-analytic factors on the percentage of indeterminate results.

Methods

A total of 4185 samples obtained between 2008 and 2010 were analyzed in this study. Only data obtained with all three tubes (N, A and M) were used. In 2009 and 2010, all (100%) samples were collected into all three tubes while in 2008, 822 samples (73.4%) included all three tubes.

Approximately 1.4% of blood samples were rejected by the laboratory due to errors in transport (time of transport exceeding 16 hours, incorrect transport at 4°C, blood collected in wrong type of tubes). In 256 cases (6.1%), the result was indeterminate while in 709 (17.0%) cases the result was positive. Negative result was found in 75.8%.

Results

Detailed insight into indeterminate results per year revealed 93 (11.3%), 82 (5.9%) and 81 (4.1%) indeterminate results in 2008, 2009 and 2010, respectively.

The samples collected in one hospital showed a particularly high number of indeterminate results, 17% in the first half of 2009. The hospital has a large number of immunocompromised patients; nevertheless, the percentage was still very high. The communication with the head nurse responsible for the samples led to improved results (11% of indeterminate samples; unchanged until present).

Conclusions

Pre-analytical steps of QFT-IT importantly affect the result of QFT-IT test. In our case, the implementation of QFT-IT into daily laboratory routine started with large number of activities to assure good quality of the results, including practical and theoretical education of nurses responsible for the collection of blood, reducing the number of places where blood is collected, well organized transport, written instructions and providing information and instructions over the phone.

As a consequence of using the third (M) tube and occurrence of indeterminate results, the laboratory has introduced even more serious measures in pre-analytical steps, e.g. more strict control over transport, recommendation on shorter transport time (4 hours if possible) and communication with people responsible for the transport of samples. These measures helped to improve the results of QFT-IT test and the number of indeterminate results significantly decreased.

Growth of *Mycobacterium avium* in various culture media

Irma Perko, Manca Žolnir-Dovč

University Clinic of Respiratory and Allergic Diseases Golnik, Laboratory for Mycobacteria,
Golnik 36, SI-4204 GOLNIK, SLOVENIA

Bacteria *Mycobacterium avium* (MA) belongs to the genus *Mycobacterium* whose most famous representative is *Mycobacterium tuberculosis* (MT). MA is with 155 other mycobacteria species a part of the so-called nontuberculous mycobacteria (NTM), which are ubiquitous bacteria in the nature like water, soil, plants and house dust. MA and some other NTM are capable of infecting and causing disease (so called mycobacterioses) especially in immunocompromised patient. Frequency of mycobacterial species in the environment and in human samples is different in different geographical regions of the world.

The aim of our study is to analyse laboratory diagnostics of *Mycobacterium avium* in Laboratory for Mycobacteria Golnik in the period 2013-2014.

In the period 1.1.2013-31.12.2014 we got 16,672 different human specimens for laboratory diagnostics tuberculosis and NTM. Primary non-sterile samples were decontaminated with Nalc-NaOH method and inoculated on three media: liquid MGIT tube and two solid Loewenstein-Jensen (LJ) and Stonebrink (ST) media. MGIT tubes were incubated in BACTEC MGIT 960 (BACTEC). LJ and ST were incubated in thermostats on 37°C and ones per week manually checked for growth. Bacteria from positive cultures were dyed by auramine and Ziehl-Neelson method. MA was identified by molecular test GenoType Mycobacterium CM (Hain, Nehren, Germany).

From 16,674 samples in the two year period in 782 samples (4.7%) MT was isolated and in 650 samples NTM (3.9%). In 94/650 NTM mycobacteria (14.5%) MA was identified at 44 patients. Twenty-one of 94 MA positive cultures (22.4%) were positive by microscopy too. MA was grown in 89 from 94 MGIT tubes (94.7%), on 42/94 LJ

(44.7%) and on 41/94 ST (43.6%) solid media. The highest rate contaminated media was on LJ medium (31.9%).

MA is still relatively rarely isolated from human samples in our country. Liquid MGIT medium is much better for isolation of MA as solid media LJ and ST. Reasons for this are at least three: (i) liquid media are the most optimal for growth of mycobacteria; (ii) MGIT media can be incubated in BACTEC machine, where are ideal conditions for growing and checking for positive cultures is ones per hour (oxygen consumption); (iii) reading of positive cultures on solid media is difficult because the morphology of MA colonies are not very typical and may be overlooked.

In conclusions, liquid media, especially automated systems can greatly facilitate and improve the isolation of MA from clinical samples.

Key words: *Mycobacterium avium*, nontuberculous mycobacteria, liquid medium MGIT, solid medium

E-mail: irma.perko@klinika-golnik.si

Preference of presentation: poster

Topic: microbiology

Suspected sarcoidosis was a *M. tuberculosis* infection – a case report

Zala Leštan¹, Izidor Kern², Petra Svetina² and Marjeta Terčelj¹

¹Department for Respiratory diseases and Allergy, University Medical Centre Ljubljana,
Faculty of Medicine, Ljubljana, Slovenia

²University Clinic of Respiratory and Allergic Diseases, Golnik, Slovenia.

Correspondence: Zala Lestan. Address: Department for Respiratory diseases and Allergy, University Medical Centre Ljubljana, Zaloska 7, 1000 Ljubljana, Slovenia. Email: zala.lestan@gmail.com Telephone number: 00 386 40 534 741 Fax number: 00 386 1522 2347

BACKGROUND

Mycobacterium tuberculosis infection and sarcoidosis have similar clinical and radiologic presentations, both being systemic granulomatous inflammatory diseases, albeit of a different etiopathogenesis. Tuberculosis is thus a disease that must be excluded before the diagnosis of sarcoidosis can be made.

CASE REPORT

A 74-year-old female non-smoker was referred to our department because of suspected sarcoidosis. She presented with a history of chronic cough, weight loss and granulomatous lymphadenitis confirmed from an enlarged left supraclavicular lymph node. The IGRA (QuantiFERON) test was twice negative, sputum was negative for tuberculosis bacilli on both direct examination and cultivation. A CT scan of the thorax showed enlarged lymph nodes and interstitial changes typical of sarcoidosis. Black pigmentation highly suspicious for tuberculosis was seen on fiberoptic bronchoscopy and a diagnosis of pulmonary granulomatosis made. Despite negative cultures from biopsy samples, the supervising physician ordered a repeat sputum to be obtained after bronchoscopy. Two colonies of *M. tuberculosis* were subsequently cultured from bronchial washing and ten colonies from the repeat sputum sample. The patient was started on a 3-drug anti-TB regimen.

CONCLUSION

We present a case where *M. tuberculosis* infection was only proven by culture from sputum and bronchial washing obtained at/after bronchoscopy, despite prior negative results from sputum, biopsy samples and IGRA tests. Persistence in the face of a strong clinical suspicion was necessary to obtain the correct diagnosis needed for appropriate treatment.

Keywords:

Sarcoidosis, *M. tuberculosis* infection, anti-TB treatment

Klinični primer bolnika s pljučno tuberkulozo in epidermoidnim karcinomom pljuč

Diana Ramšak, dr.med., Suzana Cuznar Četina, dr.med., Majda Kočar, dr.med.,
spec. interne medicine, Bolnišnica Topolšica

Pljučna tuberkuloza in pljučni rak se lahko pojavita sočasno pri istem bolniku. Ena bolezen lahko prekrije drugo in tako povzroči zamik v diagnostiki in zdravljenju.

V prispevku predstavljamo primer 58-letnega bolnika, ki je bil napoten zaradi suma na tuberkulozo. S slikovnimi diagnostičnimi metodami smo ob sprejemu ugotovili tri spremembe v pljučih in sicer dve v levem pljučnem krilu ter eno v desnem. Ker so bili izmečki na BK trikrat zapored direktno negativni smo se odločili za invazivno diagnostiko – bronhoskopijo. Na bronhoskopiji je bilo desno videti zaporo DB9 od koder so citohistološki vzorci pokazali epidermoidni karcinom (ocenjeni radiološki stadij T1 N1 M0), ciljano odvzeti aspirati LB6 pa so pokazali v kulturi pozitivno tuberkulozo.

Po enomesečnem predhodnem zdravljenju tuberkuloze, je bil bolnik nato operiran, po operaciji je prejel še adjuvantno kemoterapijo. Po skupno šestih mesecih je zaključil tudi z zdravljenjem tuberkuloze. Od tedaj se bolnik že leto in pol redno spremlja v pljučni, onkološki in kirurški ambulanti in je brez kliničnih ali radioloških znakov za ponovitev katerekoli izmed obeh bolezni.

Uspešno sodelovanje s kliničnim farmacevtom pri zdravljenju TB bolnice na nadomestnem hormonskem zdravljenju po operaciji jajčnikov

Kočar Majda, spec. int. med., Bolnišnica Topolšica,
Toni Janez, mag. farmacije, klinični farmacevt, UKPA Golnik

Vse bolj smo pozorni na medsebojno učinkovanje zdravil, ki jih bolnik uporablja. Znano je, da protituberkulozna zdravila vplivajo na spremenjeno presnovo in tako učinek številnih zdravil zaradi zavore ali indukcije presnove v jetrih. Predstavljamo primer uspešnega sodelovanja s kliničnim farmacevtom pri mladi bolnici, ki je prejela nadomestno hormonsko zdravljenje zaradi operacije jajčnikov.

33-letni bolnici, ki je bila zaradi cistične bolezni jajčnikov operirana pred 4 leti in so ji jajčnike odstranili, smo ugotovili v razmazu pozitivno kavernožno pljučno tuberkulozo. Zdravili smo jo s standardno 4 tirno terapijo. Prejemala pa je tudi nadomestno hormonsko zdravljenje – Trisequens (noretisteron in estrogen)). Ob izhodno povišanih transaminazah je zdravljenje dobro prenašala in se je do odpusta hepatogram normaliziral. Imela pa je vse več težav z znojenjem, vrednosti ščitničnih hormonov so bile normalne, mikobakterija TB je bila normalno občutljiva na standardna zdravila.

Posumili smo na spremenjen metabolizem nadomeščenih hormonov. V dogovoru s kliničnim farmacevtom smo prilagajali dozo zdravila Trisequens, ob čemer se je do odpusta simptomatika povsem umirila.

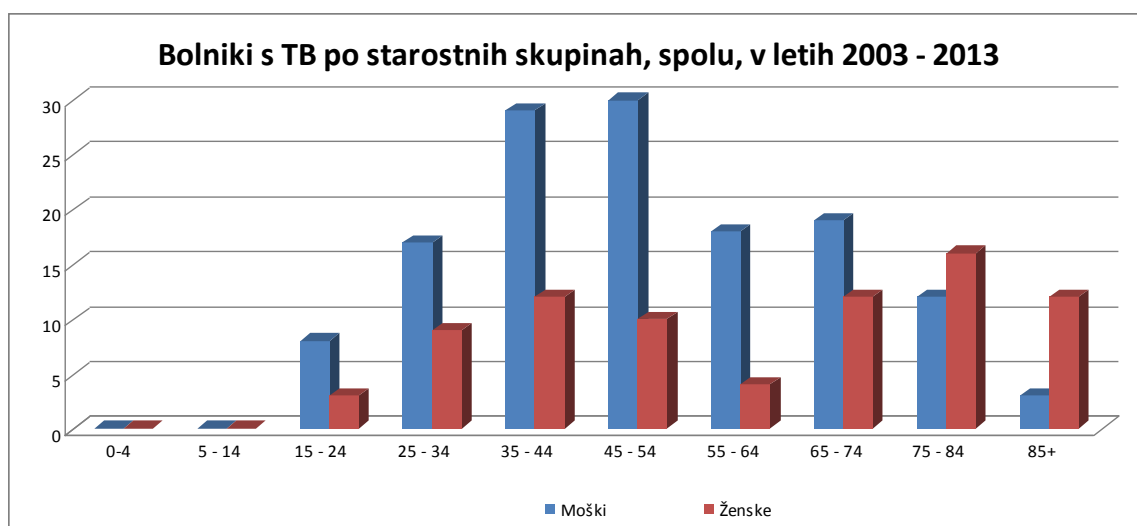
Ob odpustu smo svetovali povečan odmerek hormonske nadomestne terapije (2tbl po shemi), dokler prejema rifampicin, s kontrolo pri ginekologu in ponovnim zmanjšanjem odmerka po končanju terapije.

Pregled desetletnega obdobja zdravljenih bolnikov s TB v Bolnišnici Topolšica med leti 2004 in 2014

Kočar Majda, spec. int. med., Bolnišnica Topolšica

Zdravili smo 177 bolnikov, od tega v prvih 5 letih 106, (68 moških in 38 žensk), v drugi polovici pa 71 bolnikov (36 moških in 35 žensk).

Ena tretjina zdravljenih je bila neslovenskega porekla, večina iz BIH, 2 Kitajca in 2 Romuna.



Preseneča kar velik delež starostnikov, tudi v kasnejšem življenjskem obdobju (80+). Bolezen je bila le pri 6 bolnikih (3.4%) dokazana histološko, 1 primer iz dokumentacije ni jasen, v ostalih primerih je bila rast mikobakterij TB dokazana (56% bolnikov je imelo v razmazu pozitivno TB, ostali le v kulturi).

Rizične okoliščine smo poskušali razbrati iz dokumentacije: vsaj 30x je bilo v ozadju moč neposredno zaznati pretirano uživanje alkohola, 19 primerov bolnikov je bilo izrazito slabo prehranjenih, 17 bolnikov je imelo v anamnezi ali aktualno različne karcinome. 12x je bila prisotna zmanjšana odpornost zaradi različnih razlogov, 9 bolnikov je bilo na zdravljenje sprejetih iz DSO, 8 jih je imelo sladkorno bolezen.

Pri 15 bolnikih smo ugotovili kontakt s TB med bližnjimi svojci v preteklosti, 2 bolnika sta imela TB ugotovljeno iz pregleda kontaktov aktivnega bolnika. 10 bolnikov se je zaradi TB zdravilo že v preteklosti.

Pri 10 smo se soočili s hujšimi zapleti napredovale bolezni: 3x hemoptoe, 3x pnevmotoraks, 2x empiem, vsaj 2x MOF. 19 bolnikov je med zdravljenjem umrlo.

25 bolnikov (14%) je imelo izvenpljučno TB: 13x TB bezgavk, 9x samo prizadetost plevre, 1x orhitis, 1x osteitis, 1x spondilitis.

Rezistenco na standardna ATL zdravila smo ugotovili 9x (5%): 7x STM, 1x INH, 1x PZA.

Zapleti zdravljenja so bili redki, večinoma blagi pričakovani in obvladljivi (porast transaminaz, izpuščaj po koži s srbežem, febrilnost, nausea, bruhanje). Težje reakcije na zdravila so imeli 3 bolniki: 1x vaskulitis, 1x neprenašanje RMP, 1x neprenašanje PZA.

Relaps bolezni zaradi nejemanja zdravil smo ugotovili 8x, (1 bolnik 3x, 1 bolnik 2x).

Skeletna tuberkuloza v Sloveniji (2011-2015)

Maja Batinič¹, Sanja Grm Zupan², Izidor Kern², Igor Požek², Matevž Gorenšek³,
Manca Dovč Žolnir², Petra Svetina²

¹ študentka, Medicinska fakulteta Ljubljana

² Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik

³ Ortopedska klinika Ljubljana

UVOD

Po podatkih iz literature predstavlja skeletna tuberkuloza 2% vseh primerov tuberkuloze oziroma 10-35% vseh primerov zunajpljučne tuberkuloze in je poleg tuberkuloznega plevritisa in tuberkuloznega limfadenitisa najpogostejša zunajpljučna oblika tuberkuloze. Bolezen se pogosteje pojavlja pri starejši populaciji, pri osebah okuženih s virusom HIV in pri osebah, ki so v preteklosti prebolele tuberkulozo. Pogosteje se pojavlja v državah z višjo incidenco tuberkuloze. Prizadeti so predvsem statično močno obremenjeni sklepi. Razvija se kot počasno napredovanje bolečin v kosteh in sklepih. Približno polovico primerov skeletne tuberkuloze zajema spondilitis, najpogosteje na telesih spodnjih torakalnih in zgornjih ledvenih vretenc. Zdravljenje je večinoma konzervativno, z večmesečnim prejetjem protituberkuloznih zdravil; redko je potrebno kirurško zdravljenje.

METODE

Retrospektivno smo pregledali dokumentacijo bolnikov, ki so se v petletnem obdobju (2011-2015) zdravili zaradi skeletne tuberkuloze v Sloveniji. Podatke smo dobili iz Registra za tuberkulozo in arhiva Klinike Golnik, kjer so se vsi ti bolniki zdravili.

REZULTATI

V obdobju 2011-2015 je bilo v Register za tuberkulozo prijavljenih 12 bolnikov s skeletno TB. Vseh 12 bolnikov (trije moški, povprečna starost 64 let; devet žensk; povprečna starost 75 let), se je zdravilo na Kliniki Golnik. 10 bolnikov je imelo TB hrbtenice, en bolnik je imel TB kolena in en bolnik TB simfize. Štirje bolniki so imeli sočasno tudi bakteriološko dokazano TB pljuč. Sočasne okužbe z virusom HIV pri teh bolnikih nismo dokazali. Trije bolniki so se v preteklosti zdravili zaradi TB pljuč.

Za postavitev diagnoze in odvzem ustreznih kužnin smo sodelovali z ortopedi in radiologi, tako da smo pri 11 bolnikih (92%) bolezen bakteriološko dokazali s porastom *M. tuberculosis* na gojiščih materiala odvzetega iz skeleta - devet biopsij hrbtenice (vretenca, vretenčne ploščice ali hladni abscesi), en punkt at kolenskega sklepa in ena biopsija simfize. V enem primeru smo bolezen potrdili na osnovi histološkega izvida.

Vsi bolniki so bili zdravljeni po priporočilih in so protituberkulozna zdravila prejeli vsaj devet mesecev, zdravljenje so uspešno zaključili.

ZAKLJUČEK

V petletnem obdobju smo v Sloveniji zdravili 12 bolnikov s skeletno tuberkulozo, kar predstavlja 1,6% vseh bolnikov s tuberkulozo. Večina teh bolnikov je imela tuberkulozo hrbtenice. Bolezen je bila pogostejša pri starejših ženskah.

Slovenija sodi med države z največjim deležem bakteriološko dokazane tuberkuloze in glede na našo analizo, sodimo tudi v sam vrh držav z bakteriološko potrjeno skeletno tuberkulozo (92%), kar je rezultat dobrega interdisciplinarnega sodelovanja.