

# Mykobakteriologisk diagnostik

Kristian Ängeby, M.D., Ph. D.

# Kort CV:

- Läxarexamen 1997
- Forskning och om TB diagnostik i Honduras och på Smittskyddsintitutet 1998-2004
- Barn, AT m.m.
- Leg läk 2005
- ST mikrobiologi fr 2006, ansvarig för mykobakterielaboratoriet

# Diagnostik av Mykobakterieinfektioner på laboratoriet



# Farliga

# Långsamma



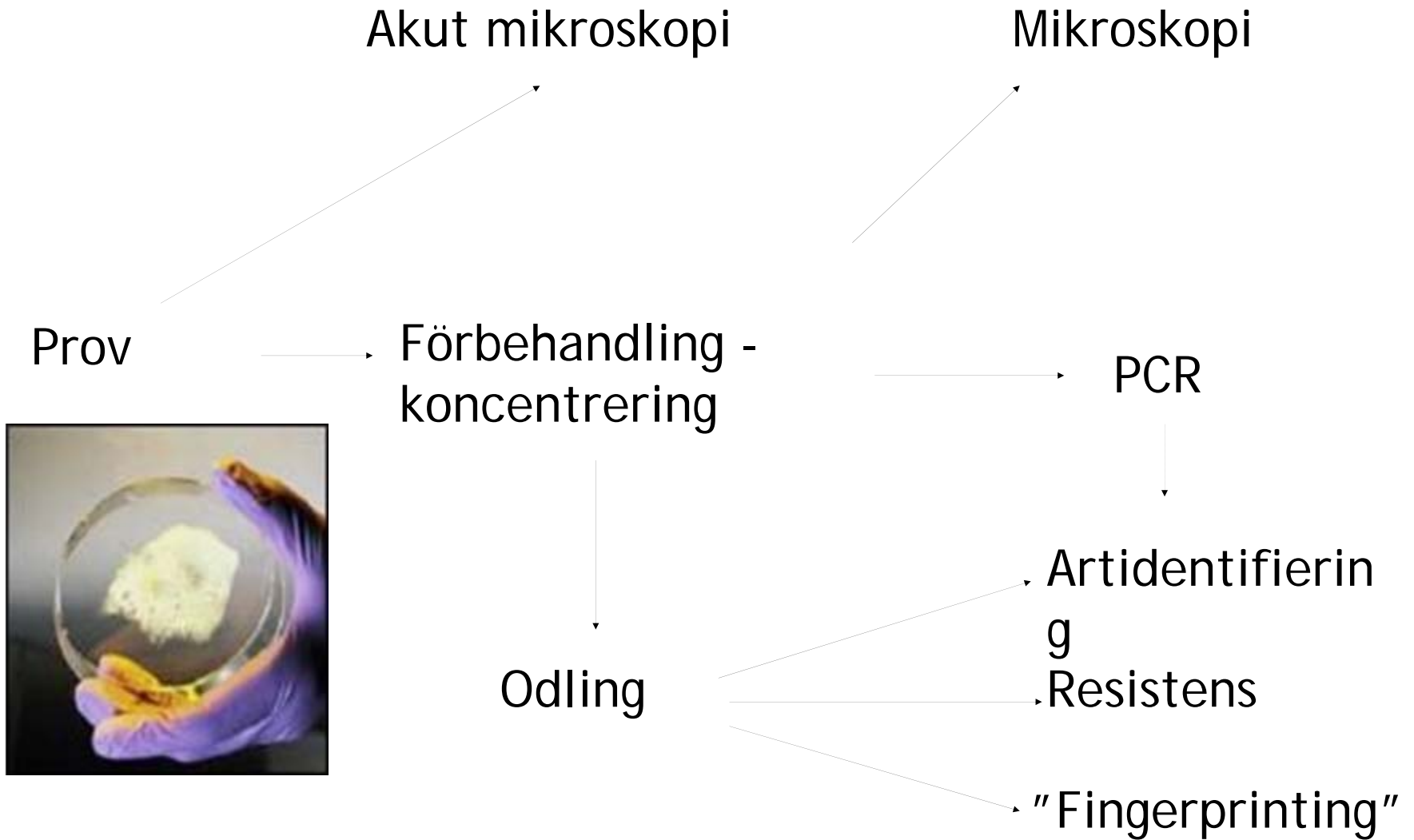


- Hitta mykobakterier
- Bestämma art
- Subtypa:
  - Resistensmönster
  - "Fingerprint"

\$



~~\$~~



# Mikroskopi



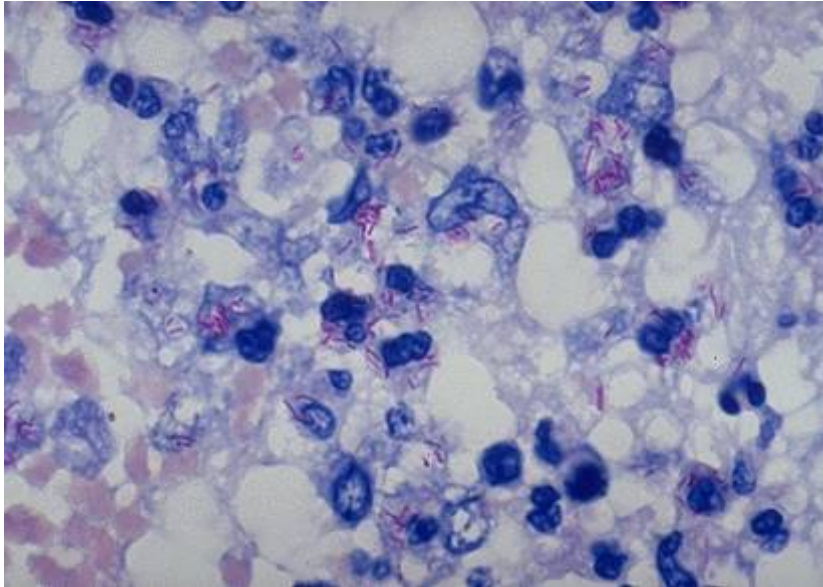
1. Färgning

2. Avfärgning med syra-  
alkohol

3. Kontrastfärgning

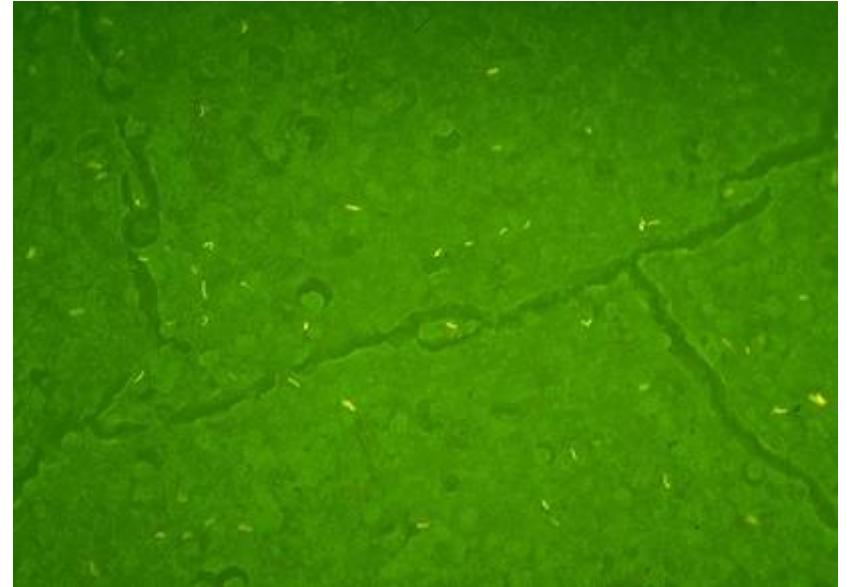
## Ljusmikroskopi

### Ziehl-Neelsen



## Fluorescence mikroskopi

### Auramine



# Mikroskopi, sensitivitet

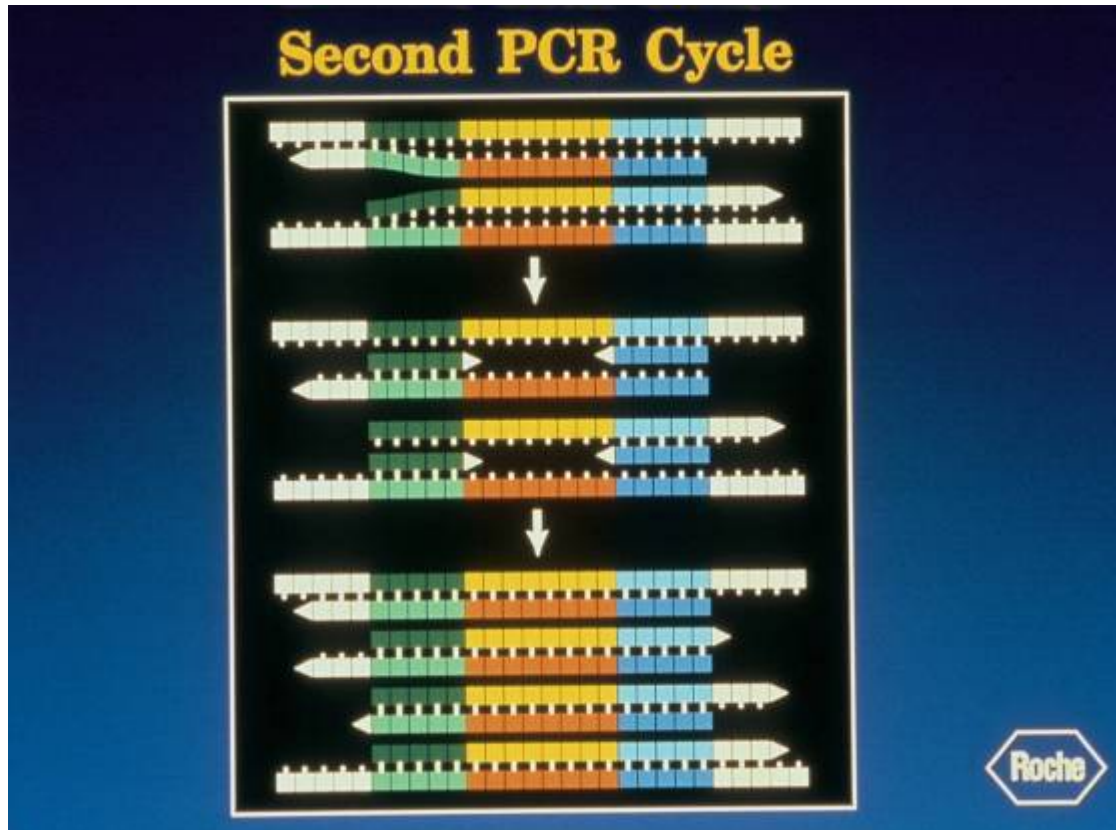
Direkt (akut) sputum  
odlingsresultatet 25 % av

Koncentrerat sputum  
odlingsresultatet 50 % av

10 000 mykobakterier/ml för positiv  
mikroskopi

Specificitet (för syrafasta stavar) nära 100%

# PCR



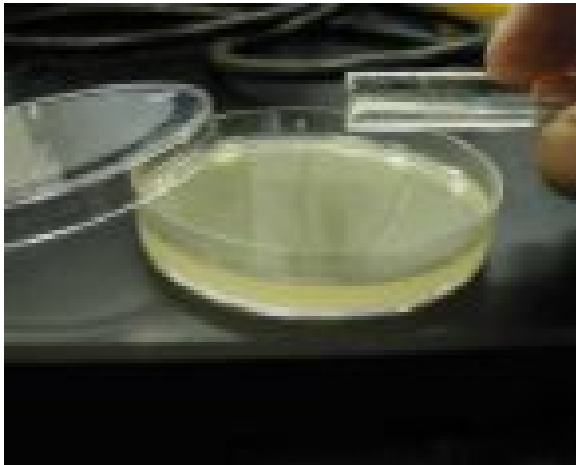


# Tolkning

Mikroskopi	PCR MTB	Interpretation
Pos	Pos	<i>M. tuberculosis</i> -komplexet
Pos	Neg	Sannolikt icke tuberkulös mykobakterie
Neg	Pos	<i>M. tuberculosis</i> -komplexet
Neg	Neg	Inte tuberkulos?

# Odling

10–1,000 viabla mykobakterier/mL för positiv odling



Agar

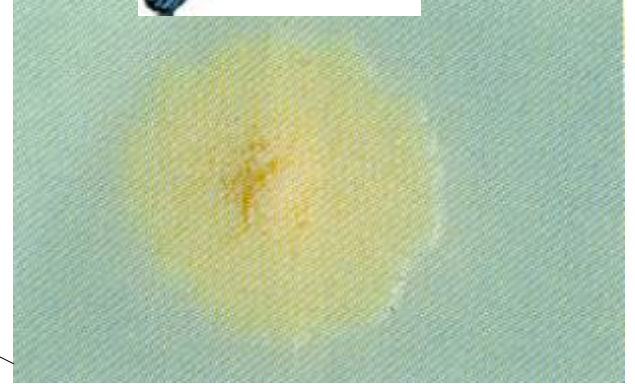


Buljong

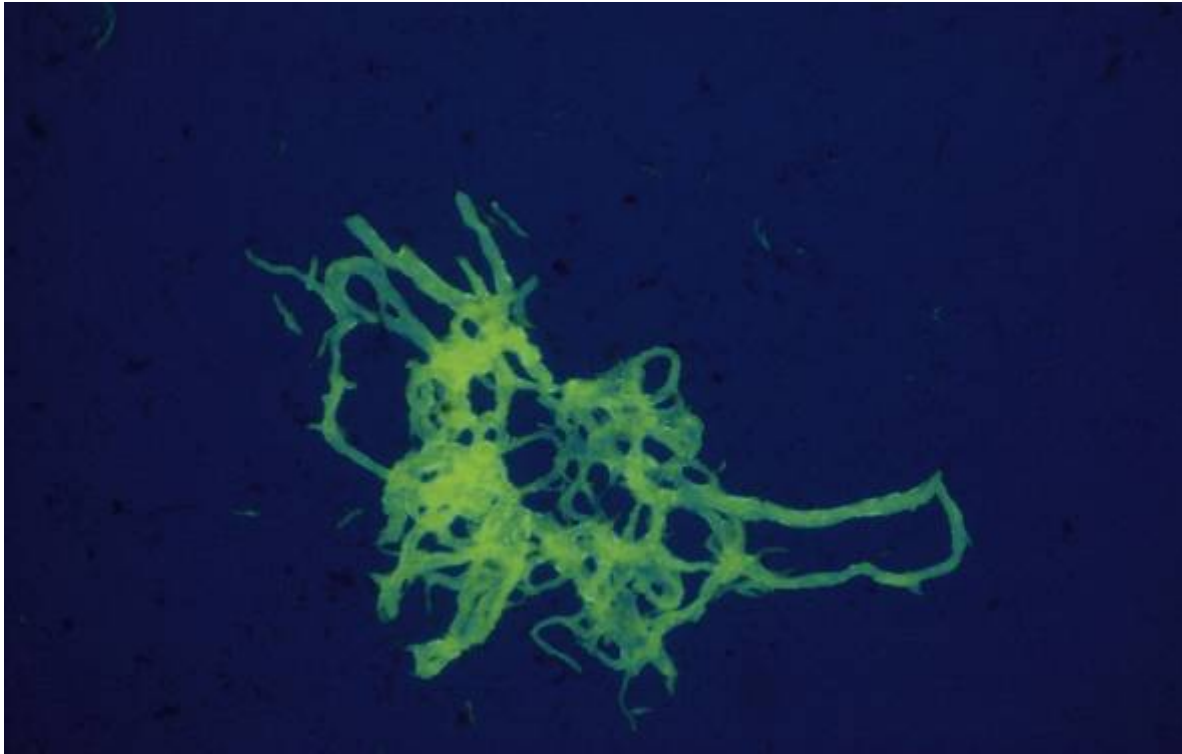


Ägg-baserat medium









# Identifiering

- PCR - MTB komplex
- Resistensmönster - Pyrazinamid
- Hybridiserings kits
- Sekvensering
  
- Biokemiska tester
- Tillväxt hastighet, pigmentering



# Omvänd hybridisering

**HAIN**  
LIFESCIENCE

**GenoType<sup>®</sup> Mycobacterium**

02 04 2004  
dd mm yyyy

#							
						species	
				CC 3 5 7 9 11 13 15 17 UC 4 6 8 10 12 14 16 M		1,2,3,5,7,10,12	
1.	949/04	<i>M. malmoense</i>	2/4 EK			1,2,10,13	<i>M. malmoense</i>
2.	1101/04		full sekvar.			1,2	—
3.	1280/04	<i>M. celatum</i>	2/4 EK			1,2,4,10	<i>M. celatum</i>

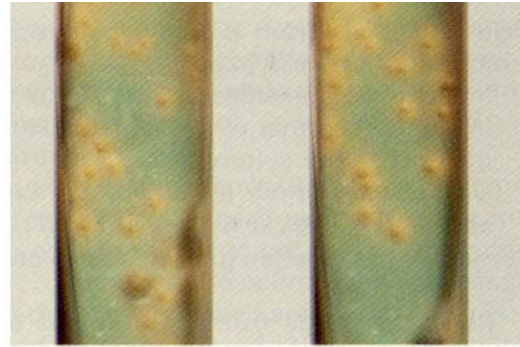


# Tillväxthastighet

- Långsamväxare
  - *M. tuberculosis*, *M. avium* komplex, *M. malmoense*
- Snabbväxare
  - Kolonier på <7 dagar
  - *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. fortuitum* komplex



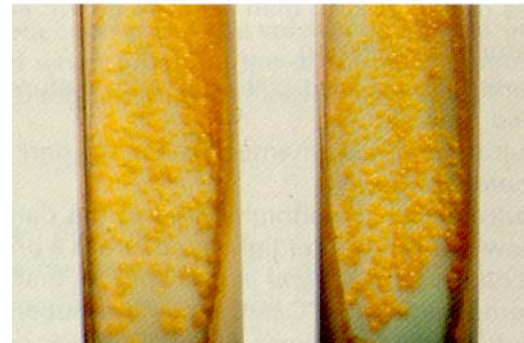
Inget  
pigment



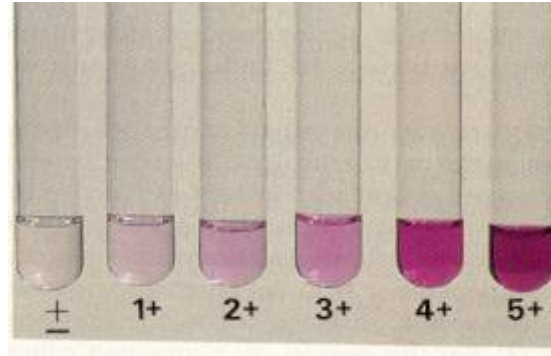
Fototokromogen



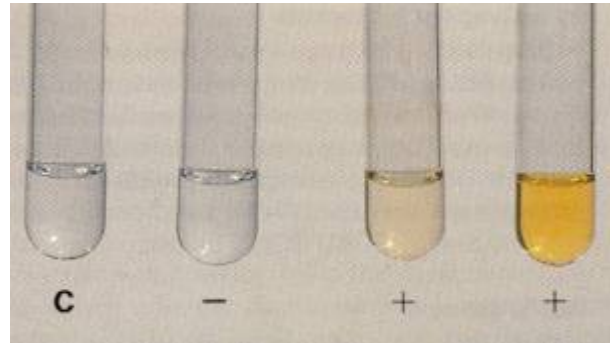
Skotokromogen



## Nitrat test



## Niacin test

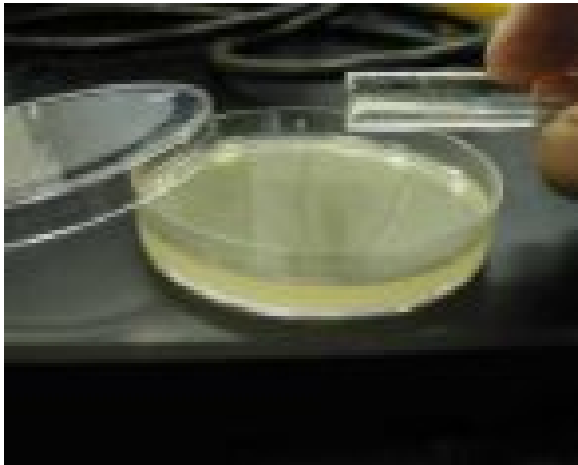


	<b>Mikroskopi</b>	<b>PCR</b>	<b>Odling</b>
<b>Sensitivitet</b>	<b>~50%</b>	<b>~70%</b>	<b>~100%</b>
<b>Specificitet</b>	<b>~100%</b>	<b>~100%</b>	<b>~100%</b>
<b>Hastighet</b>	<b>minuter</b> <b>(1-2 dagar)</b>	<b>timmar</b> <b>(1-2 dagar)</b>	<b>veckor</b>
<b>Kostnad</b>	<b>191 kr</b>	<b>896 kr</b>	<b>650 kr</b>

# Några kommentarer om provtagningen

- Sputum från nedre luftvägarna. Överväg allmän odling för relevansbedömning
- Biopsier överlägsna sekret eller vätskor
- Likvor, helst 5 mL
- Blod och benmärg i särskilda blododlingsflaskor

# Resistensbestämning



Agar  
medium



Buljong



Ägg-baserat

# Svårigheter med resistensbestämning

- Standardisera inokulat
- Långsam tillväxt
- Biosäkerhet



# Teoretisk bakgrund

- Slumpvisa spontana mutationer
- Isoniazid  $1/10^6$ ;
- Rifampicin  $1/10^8$
- Isoniazid *och* Rifampicin =  $1/10^6 \times 1/10^8 = 1/10^{14}$
  
- Om  $>1\%$  av bakterierna i ett isolat är resistenta betraktas stammen som resistent

# Proportions metoden (fast)

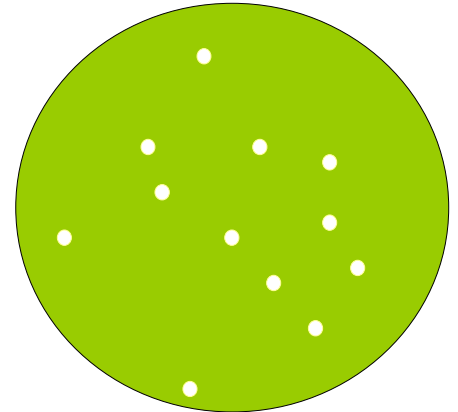
Serie-spädningar

Koloniräkning

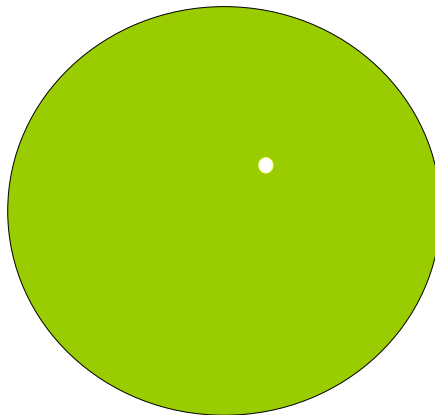
1:100 spädd kontroll

1:100 spädd

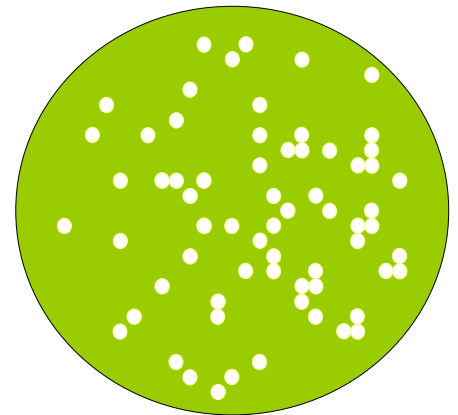
Kontroll



Ospädd  
Isoniazid

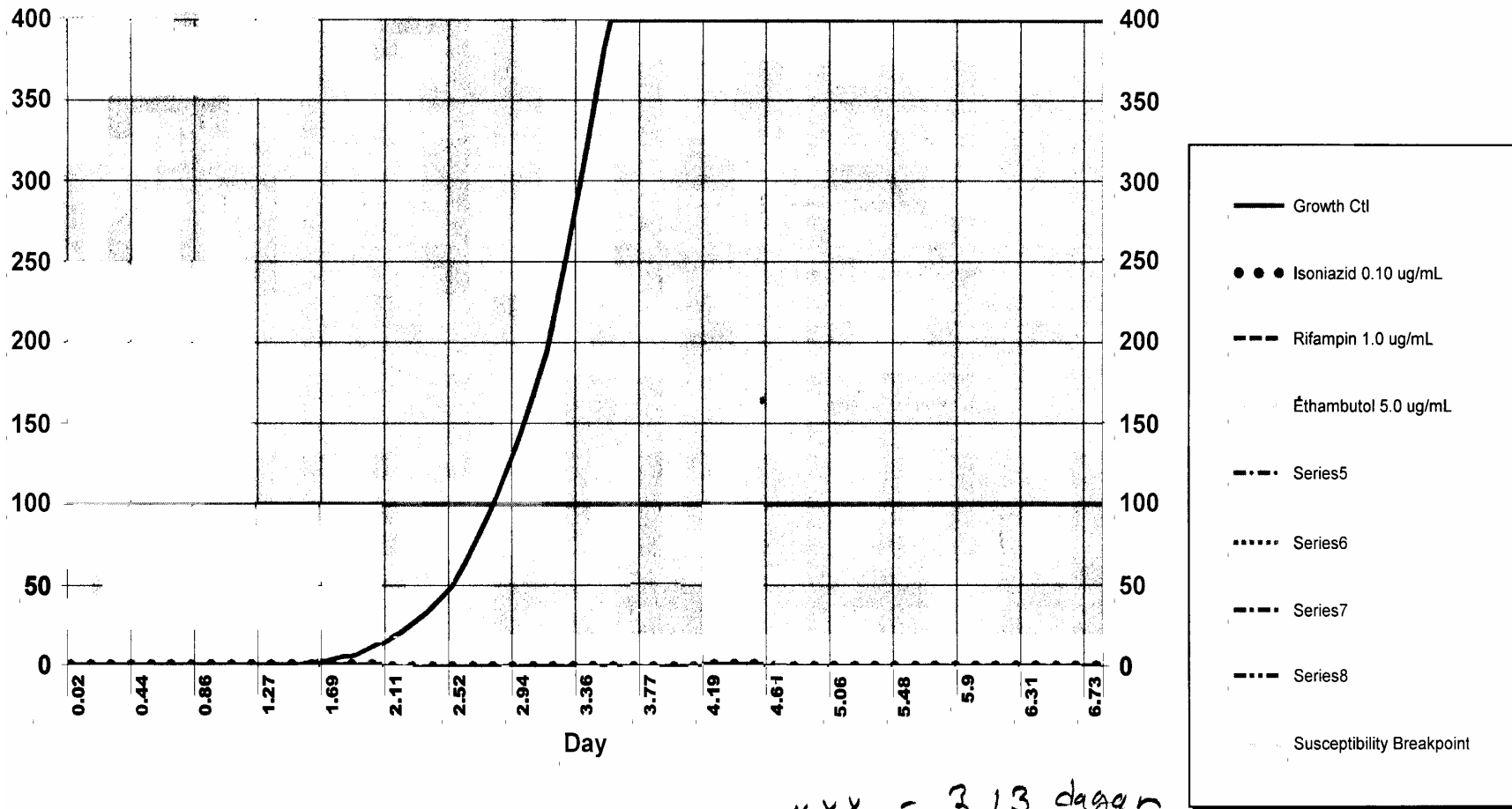


Ospädd  
Rifampicin





### AST Tube Carrier Set Plot (Up to 8 tubes)



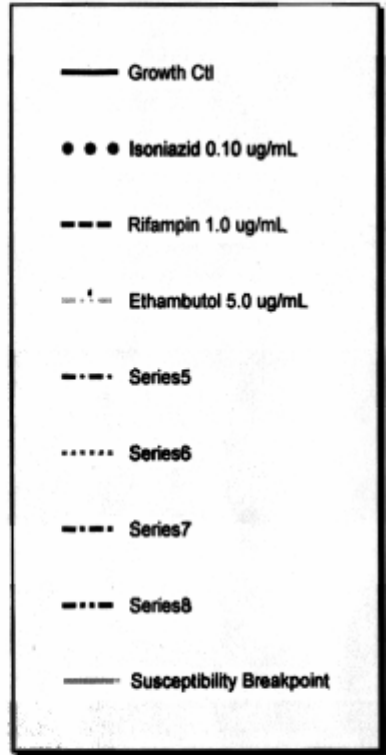
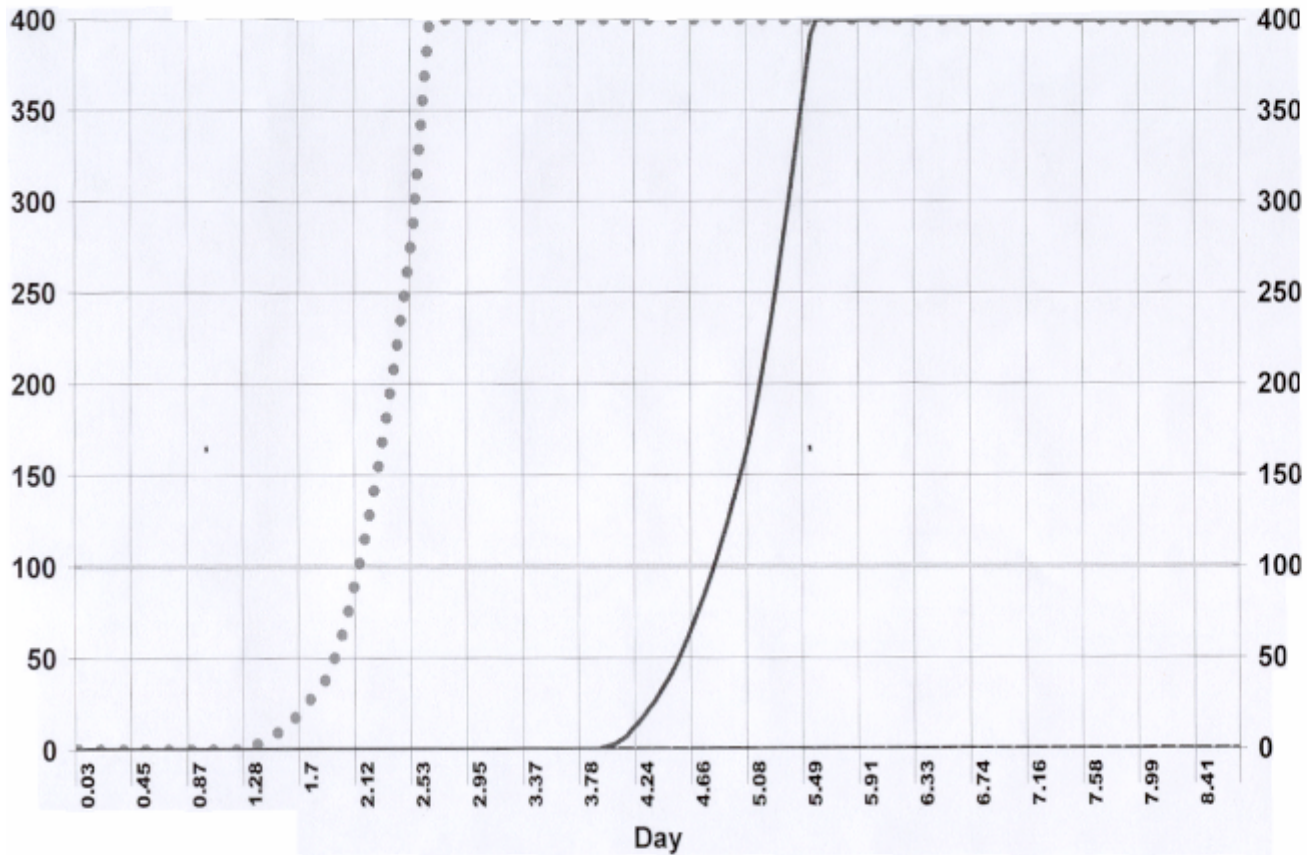
Start Date 09/24/2008  
 Sequence Number 439440012531

08TB07897 = 1RE = xxx = 3,13 dagen

TB-7897/08

MGIT

### AST Tube Carrier Set Plot (Up to 8 tubes)

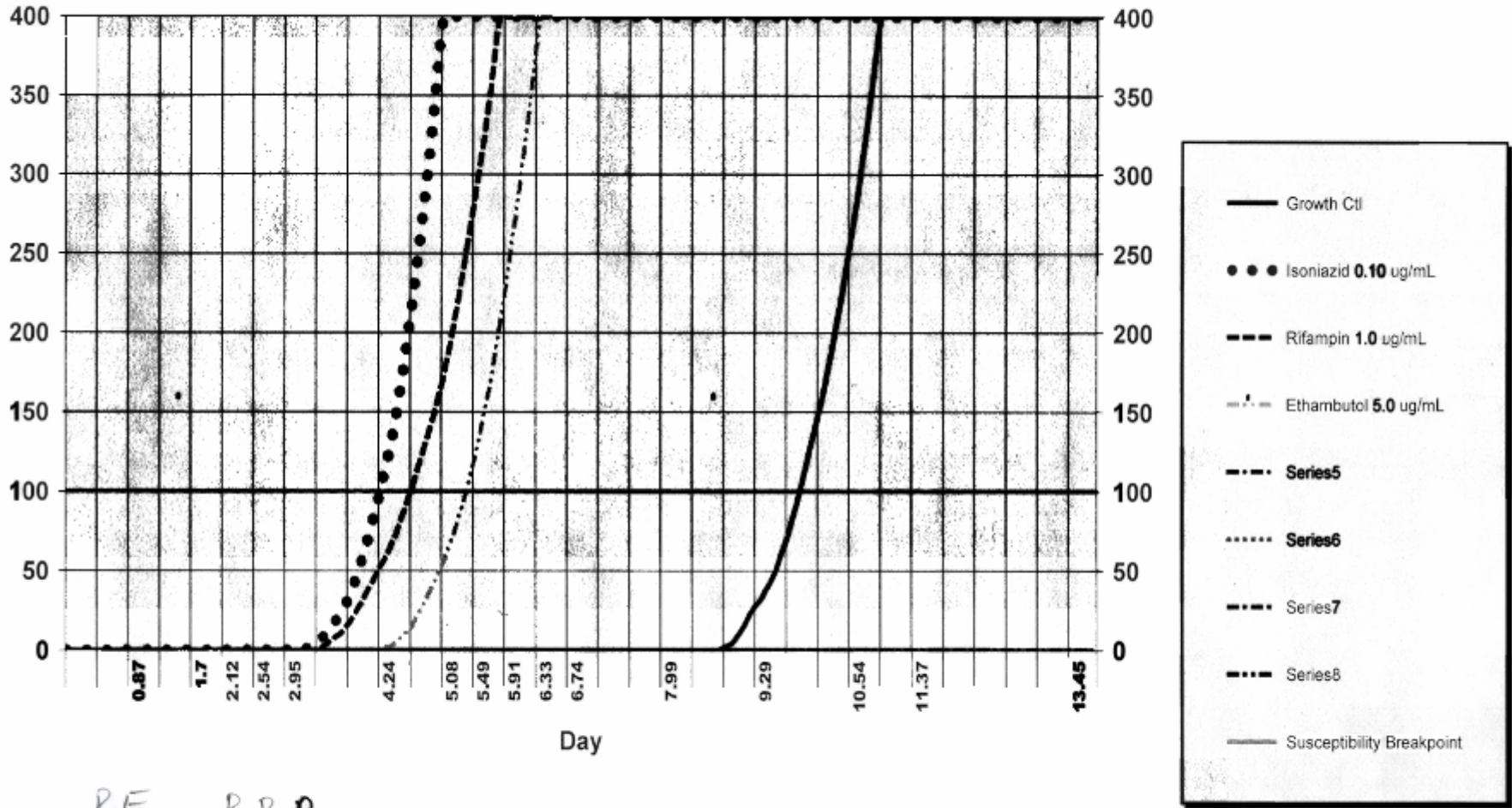


IRE R-S-S

Start Date 10/13/2008  
Sequence Number 439440012992

8925/08

### AST Tube Carrier Set Plot (Up to 8 tubes)

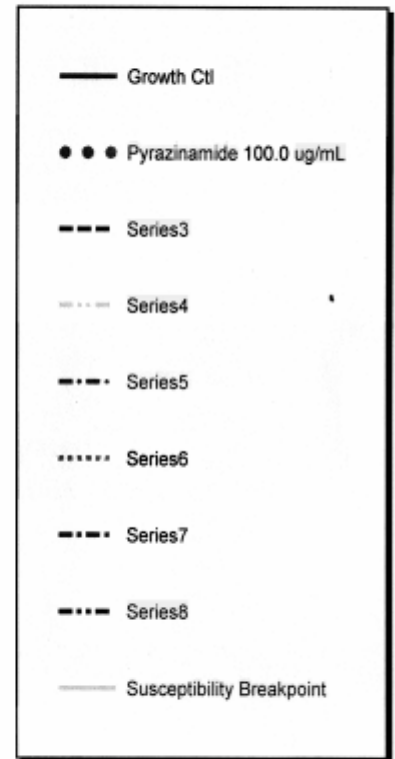
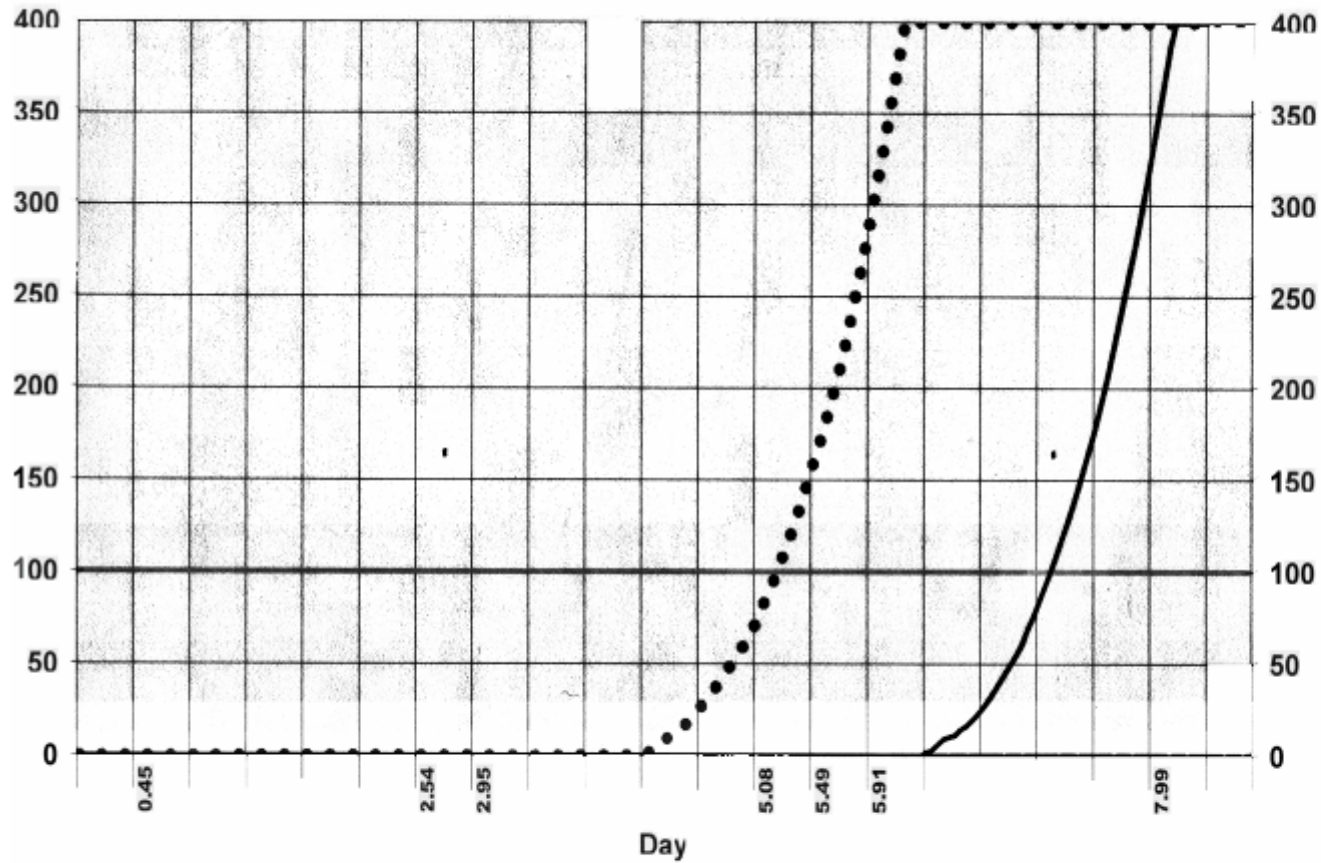


RE RRR

Start Date 10/13/2008  
Sequence Number 439440012947

8/29/08

AST Tube Carrier Set Plot (Up to 8 tubes)



PZ R

Start Date 10/13/2008  
Sequence Number 439220030904

8 9/0

