

# Tuberkuloosin laboriotestien käytön lyhyt kertauskurssi

Dos. Hanna Soini

THL, Terveysturvallisuusosasto



NATIONAL INSTITUTE FOR HEALTH AND WELFARE, FINLAND



# Sidonnaisuudet

- Johtava asiantuntija, THL, Terveysturvallisuusosasto
- Dosentti, Turun yliopisto
- Asiantuntija, Labquality Oy

# TB Suomessa 2016

- 231 uutta tapausta
- Ilmaantuvuus 4,2/100 000
- Suurin ikäryhmä 15-29 v. ja keski-ikä 50 v.
  
- Suomalainen                      115 (50%)
- Ulkomaalainen                  106 (46%)
- Ei tietoa                            10 (4%)
  
- 116 (50%) tapauksista ulkomaalaissyntyisillä potilailla
- 38 (16%) tapauksella ei oikeellista henkilötunnusta
  - Näistä suurin osa on turvapaikanhakijoita

# Mykobakteerit

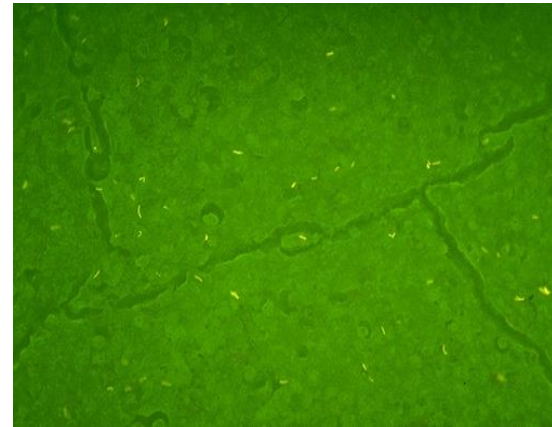
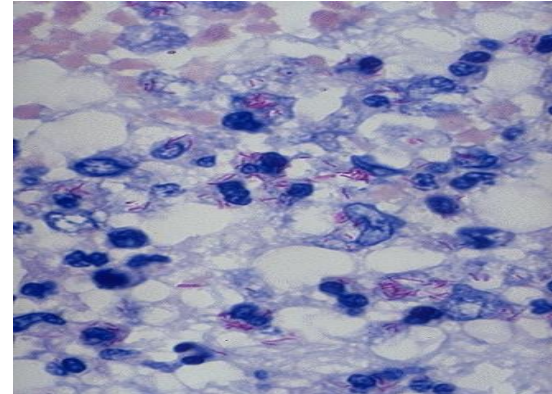
- Yli 100 tunnettua lajia
- *M. tuberculosis* complex (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canettii*) → TB
- *M. leprae* → lepra
- Atyyppiset eli ei-tuberkuloottiset ympäristömykobakteerit → kliininen merkitys vaihtelee (NTM)
- Haponkestävä, hidaskasvuinen sauvabakteeri
- Osa lajeista pigmentoituneita
- Työskentely BSL-3 tason turvalaboratoriossa
- 617 NTM löydöstä ilmoitettu v. 2016 tartuntatautirekisteriin

# TB:n laboriodiagnostiikka

- Näytteenotto ja -käsittely
- Värjäys < 1 vrk
- Geenimonistus < 1 vrk
- Viljely 1-8 vko
- Lajimääritys 1-4 vko
- Lääkeherkkyysmääritys 4-6 vko (THL)
- Kannan genotyyppitys 4-6 vko (THL)
- Kokogenomisekvensointi 4-6 vko (THL)

# TB-värjäys

- Tehdään aina
- AFB (acid fast bacilli), happovärjäys
- Herkkyys 10 000 bakt/ml
- Ziehl-Neelsen (karbolifuksiini)
- Auramiini (fluorokromi)
- Nopea ja halpa menetelmä
- Potilaan tartuttavuuden arviointi
- Ei erota *M. tuberculosis* atyyppisistä mykobakteereista



# TB-viljely

- Tehdään aina
- Herkkyys 10 bakt/ml
- Kiinteälle ja nestemäiselle elatusaineelle
- Lövenstein-Jensen -munamedium (LJ)
- MGIT-automaatti (fluoresoiva), nestemäinen elatusaine
- Kasvu 1-8 viikkoa

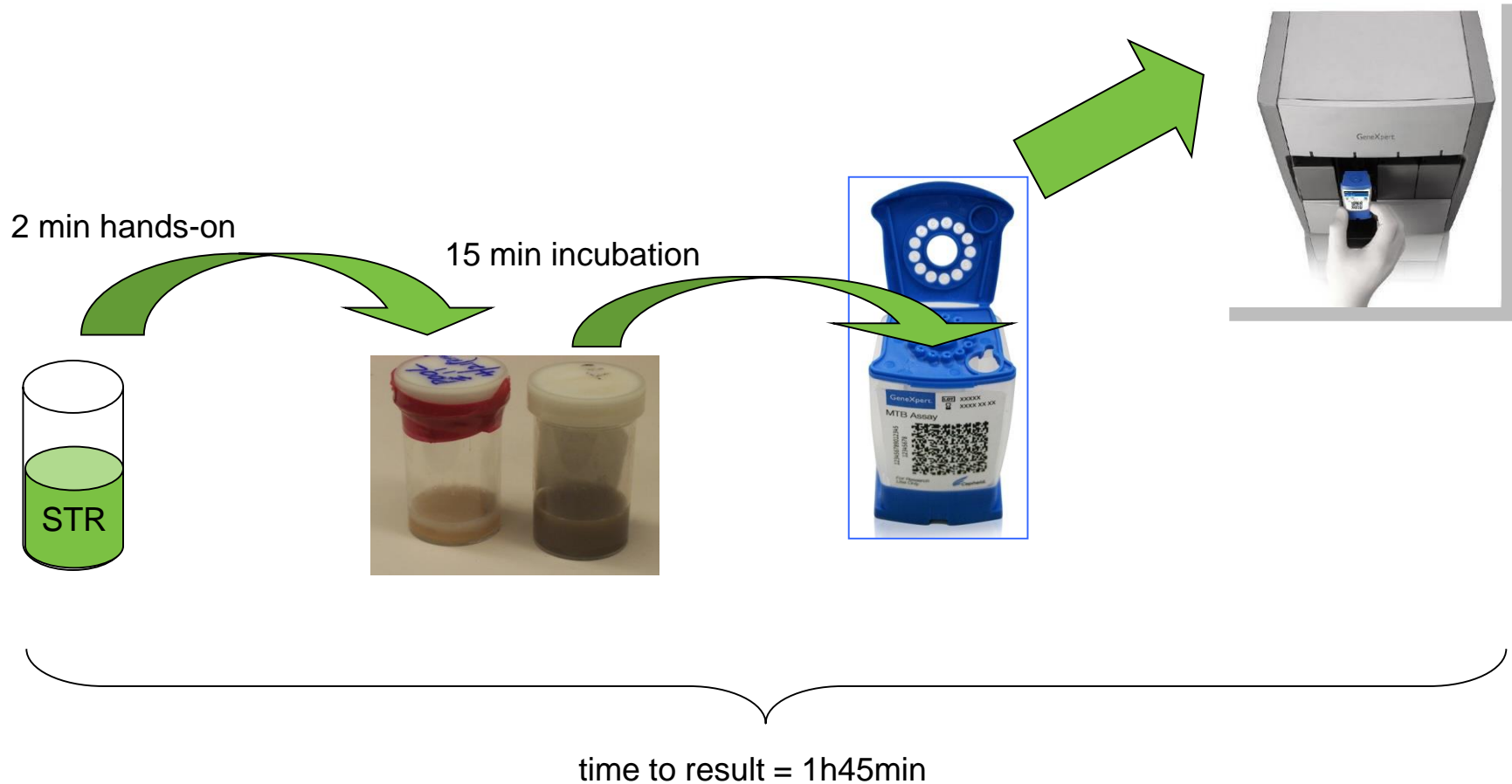


# Geenimonistus

- *M. tuberculosis* –bakteerin suora osoitus näytteestä geenimonistuksella ja tärkeimmät resistenssimutaatiot
- Suositellaan tehtäväksi aina
  - Värjäyspositiivisille näytteille (MTB vs. NTM)
  - Ulkomaalaisen potilaan näyte
  - Jos epäily lääkeresistenssistä
- Herkkyys ja spesifisyys hyvä - vaihtelee näytetyypistä riippuen
- Nopea testi < 1 vrk
- Xpert MTB/RIF (Cepheid) käytetyin testi
  - Tunnistaa yleisimmät RIF-resistenssiä aiheuttavat mutaatiot
  - Negatiivinen tulos ei sulje pois tuberkuloosia

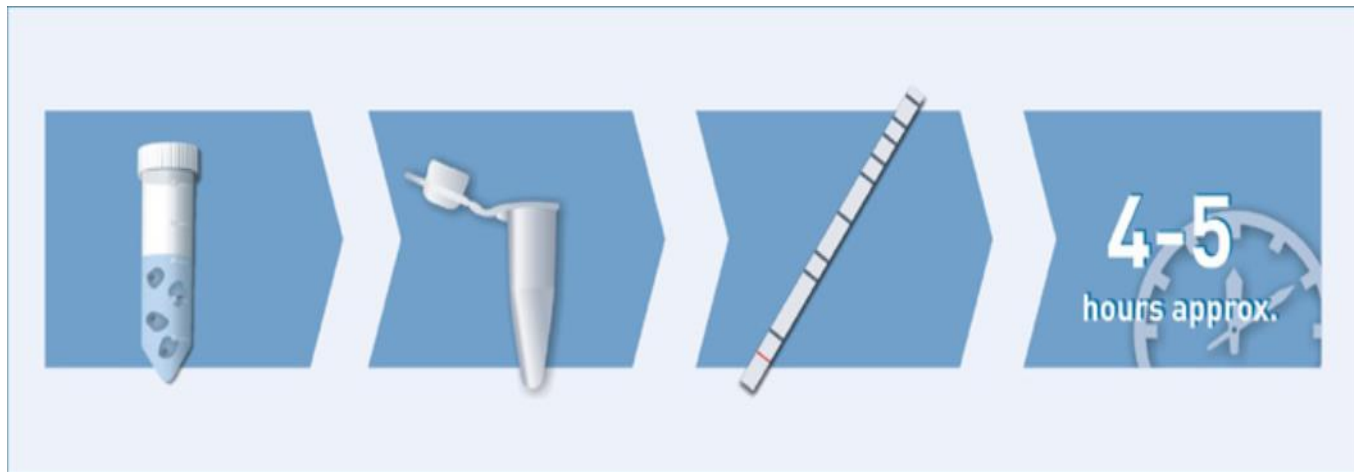


# Xpert MTB/RIF Protocol

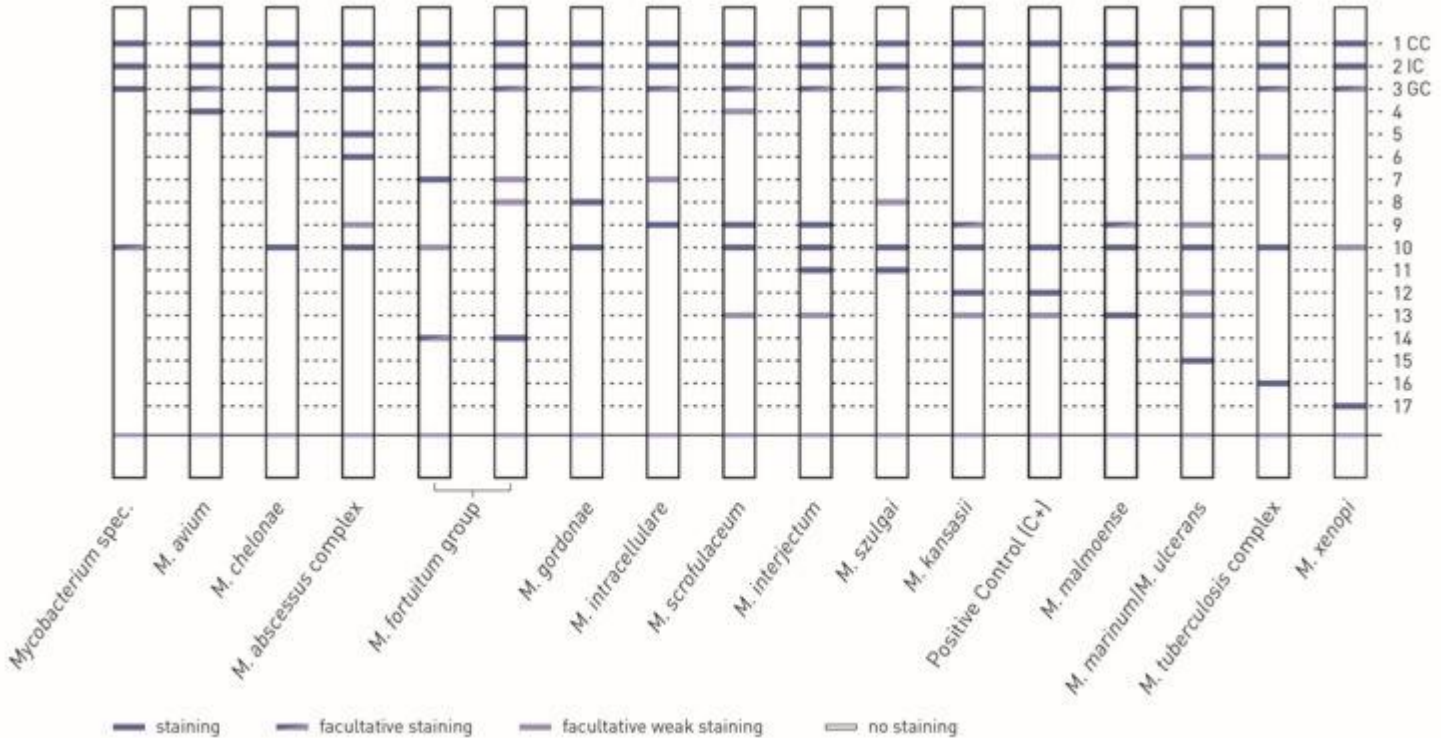


# Lajimääritys

- Tunnistaa näytteestä kasvaneen mykobakteerin lajin
- Tehdään yleisimmin geenimonistukseen ja hybridisaatioon perustuvilla kaupallisilla testeillä (nk. Line-probe assays)
- GenoType Mycobacterium CM/AS (Hain) testit yleisimpiä
- Harvinaiset lajit tunnistetaan DNA:n sekvensoinnilla



# GenoType CM testi

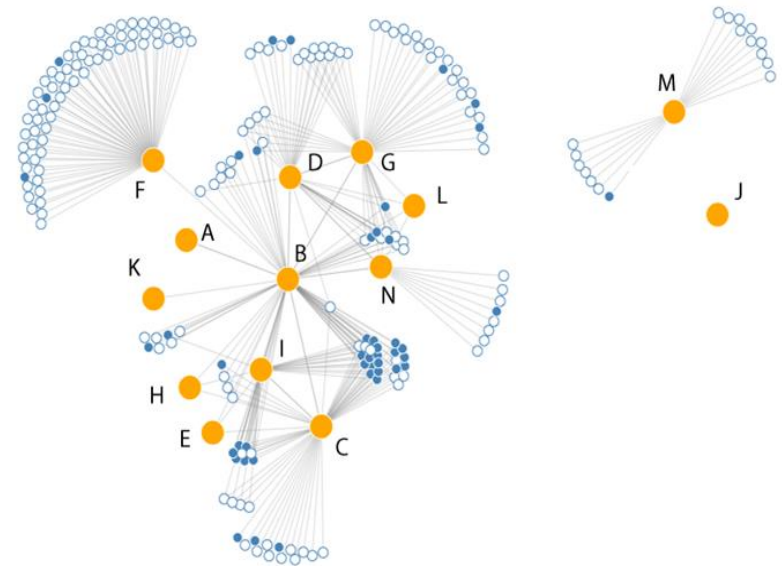


# Lääkeherkkyysmäärittäminen

- Tehdään kaikille uusille *M. tuberculosis* -kannoille MGIT-kasvuautomaatilla
- Tärkeimmät lääkeaineet tutkitaan aina
  - Isoniatsidi (INH)
  - Rifampisiini (RIF)
  - Streptomysiini (STR)
  - Etambutoli (EMB)
  - Pyratsinamidi (PZA)
- Jos viitteitä resistenssistä tutkitaan myös muita lääkeaineita
  - Amikasiini, kapreomysiini, kanamysiini (AG)
  - Ofloksasiini, moksifloksasiini (FQ)
  - Etionamidi, linetsolidi
- Pikamäärittäminen geenimonistuksella tunnistaa tärkeimmät resistenssiä aiheuttavat mutaatiot (INH, RIF, AG, FQ)

# TB:n genotyypitys

- Tehdään kaikille uusille *M. tuberculosis* -kannoille
- Tutkitaan TB:n epidemiologiaa ja tartuntaketjuja
- Käytetään tartunnanjäljityksen apuna
- Spoligotyypitys ja MIRU-määrittäminen
- Yksilöllinen DNA-profiili



# Kokogenomisekvensointi

- Whole genome sequencing, WGS
- Bakteerin koko genomien emäsjärjestys määritetään
- Sekvenssitiedosta voidaan tulkita bakteerin laji, genotyyppi ja tärkeimmät lääkeresistenssiä aiheuttavat mutaatiot
- Tullee korvaamaan monet nykyiset laboratorion menetelmät tuberkuloosin diagnostiikassa
- Toistaiseksi voidaan kuitenkin tehdä vain kasvaneesta viljelmästä
- Menetelmän validointi käynnissä THL:n mykobakteerilaboratoriossa

# Lopuksi

- Värjäys, viljely ja geenimonistus ovat TB-diagnostiikan kulmakivet
- Puolet uusista TB-tapauksista todetaan ulkomaalaissyntyisillä potilailla – lääkeresistenssimääritys entistä tärkeämpää
- TB-potilaat ovat entistä nuorempia ja joukkoaltistukset ovat yleistyneet – tartunnanjäljitys ja genotyypitys tärkeää
- Kokogenomisekvensointi (WGS) nopeuttanee lääkeherkkyysmäärityksiä ja tehostaa tartunnanjäljitystä