

# Mykobakterien-Ringversuch

mit simuliertem Patientenmaterial



**Elvira Richter**  
**Nationales Referenzzentrum für Mykobakterien**  
**Borstel**

# Mykobakterien-Ringversuch

---

## **Nr. 421 Tuberkulosedagnostik I**

Mikroskopischer Nachweis säurefester Bakterien

## **Nr. 422 Tuberkulosedagnostik II**

Kultureller Nachweis von Mykobakterien  
und Differenzierung zwischen TB und NTM

## **Nr. 423 Tuberkulosedagnostik III**

Identifizierung von Mykobakterien

## **Nr. 424 Tuberkulosedagnostik IV**

Nachweis von Tuberkulosebakterien mit der  
Nukleinsäureamplifikation (PCR) (nicht NRZ)

## **Nr. 425 Tuberkulosedagnostik V**

Empfindlichkeitsprüfung

# Mykobakterien-Ringversuch

## Nr. 421 Tuberkulosedagnostik I

Mikroskopischer Nachweis säurefester Bakterien

6 Proben,  
Mikroskopische **Sputum**-Präparate,  
negativ und positiv

## Nr. 422 Tuberkulosedagnostik II

Kultureller Nachweis von Mykobakterien  
und Differenzierung zwischen TB und NTM

5 Proben,  
**Sputum zur Vorbehandlung**  
negativ und positiv,  
TB oder NTM

## Nr. 423 Tuberkulosedagnostik III

Identifizierung von Mykobakterien

## Nr. 424 Tuberkulosedagnostik IV

Nachweis von Tuberkulosebakterien mit der  
Nukleinsäureamplifikation (PCR) (nicht NRZ)

5 Proben,  
Mykobakterien-Kulturen,  
verschiedene Spezies

## Nr. 425 Tuberkulosedagnostik V

Empfindlichkeitsprüfung

5 Proben,  
TB-Kulturen,  
sensibel oder resistent

# Mikroskopischer Nachweis von Mykobakterien

---

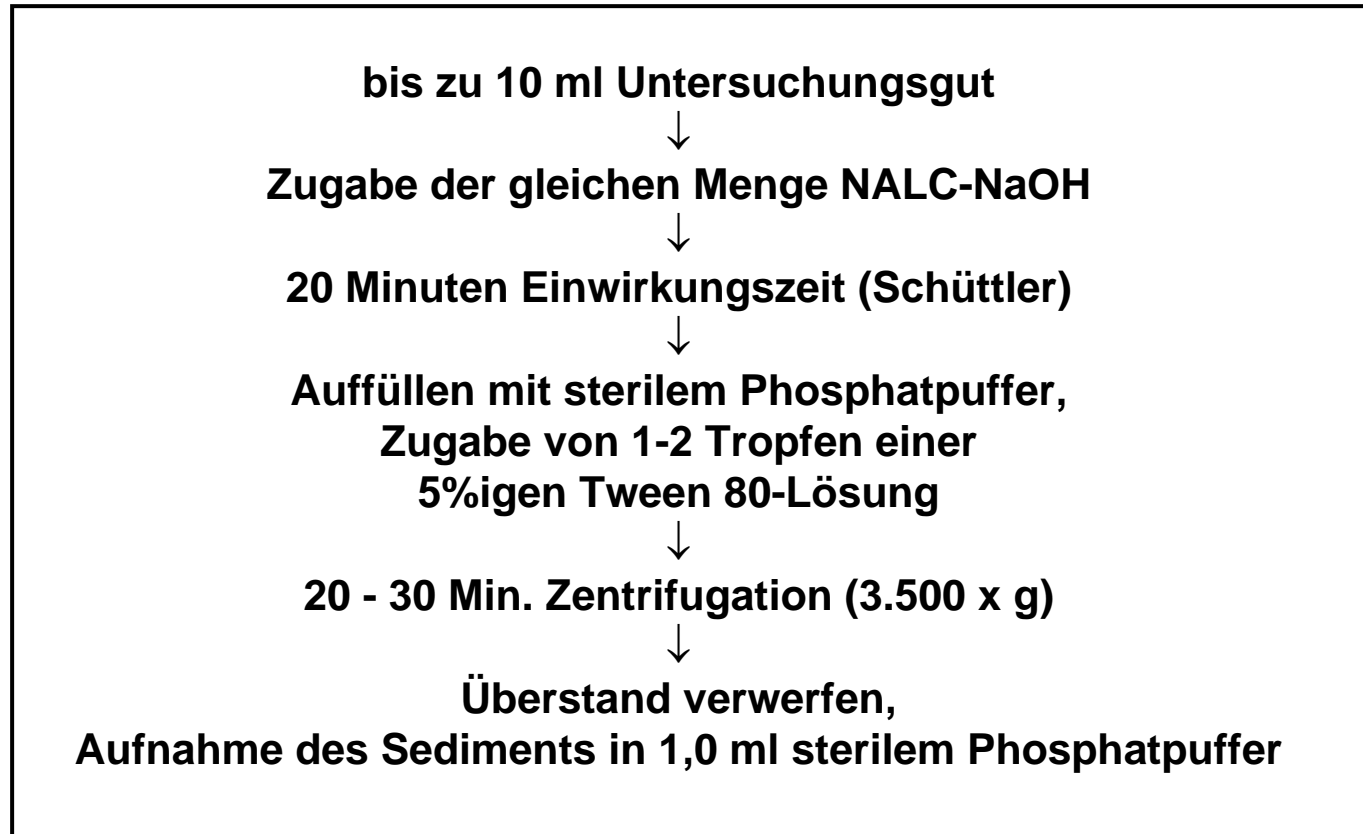
## Färbetechniken:

- Ziehl-Neelsen-Färbung
- Kinyoun-Färbung (Kaltfärbung)
- Auraminfärbung
- Auramin-Rhodaminfärbung

# Primärisolierung von Mykobakterien

---

## N-Acetyl-L-Cystein-Vorbehandlung



# Mykobakterien-Ringversuch

---

**2 x jährlich:**

## **Nr. 421 Tuberkulosediagnostik I**

Mikroskopischer Nachweis säurefester Bakterien

**ca. 280 Teilnehmer**

d.h. 1800 mikroskop. Präparate

**d.h. ca. 30 ml Sputum**

## **Nr. 422 Tuberkulosediagnostik II**

Kultureller Nachweis von Mykobakterien  
und Differenzierung zwischen TB und NTM

**ca. 200 Teilnehmer**

je 5 Proben á 1,0 ml Sputum

**d.h. ca. 1000 ml Sputum**

# Mykobakterien-Ringversuch

---

**Sammeln von 1000 ml Sputum:**



- ca. 300 – 500 Patientenproben dafür nötig
- Patienten-Einwilligung, da keine Reste verwendet werden können
- Ausschluss von Mykobakterien benötigt 6-8 Wochen
- keine Sicherheit über andere Infektionserreger

# Artifizielles Sputum

## Preparation of mycobacteria-containing artificial sputum for TB panel testing and microscopy of sputum smears

H. Yamada,\* S. Mitarai,† L. Aguiman,‡ H. Matsumoto,§ A. Fujiki §

\* Pathology and † Bacteriology Divisions, Mycobacterium Reference Center, Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, Tokyo, Japan; ‡ Cebu Regional Tuberculosis Reference Laboratory, Center for Health Development, Cebu, Philippines; § Research Division, Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, Tokyo, Japan

### SUMMARY

**SETTING:** Panel testing, blinded cross rechecking and on-site evaluation are the three methods for external quality assessment (EQA) of acid-fast bacilli (AFB) smear microscopy. Panel testing can provide data on laboratory capabilities prior to implementing a rechecking programme, assess the current status of laboratory performance and detect problems associated with diagnostic performance. Thus far, two methods for preparing panel test slides have been reported: these use real AFB-positive and -negative sputum treated with sodium hydroxide (NaOH) or N-acetyl-L-cysteine (NALC).

**OBJECTIVE:** To evaluate the above methods and to develop a new method to prepare panel test slides with artificial sputum.

**DESIGN:** Panel test slides were prepared using the NaOH and NALC methods. New artificial sputum preparation

methods were developed and examined using a cultured monocyte cell line, cultured avirulent mycobacteria and methylcellulose or polyacrylamide gel as substrate. Smears prepared by the four methods were compared.

**RESULTS:** Panel test slides prepared with NaOH and NALC methods are not macroscopically or microscopically similar to real smears. Our new artificial sputum is similar to real sputum in viscosity and macroscopic and microscopic appearance; it is also consistent in panel positivity grades.

**CONCLUSION:** The artificial sputum described here could contribute to the EQA and training in tuberculosis laboratories or microscopy centres.

**KEY WORDS:** panel test; artificial sputum; viscosity; external quality assessment; consistency

# Artifzielles Sputum

---

## Methylzellulose als Substrat

+ humane Zellen

+ ‚Begleitflora‘

+ Mykobakterien für die positiven Proben

# Artifizielles Sputum

---

sollte verwendet werden für:

- mikroskopische Präparate
- Sputumproben zur Vorbehandlung

d.h.

- mikroskopisches Bild sollte ähnlich wie bei Sputum sein
- gleiche Bakterienzahlen für alle mikr. Präparate (ca. 280 St.)
- Viskosität und Verarbeitbarkeit sollte wie bei Sputum sein
- ausreichende Mengen für ca. 1000 Proben

# Ergebnisse Ringversuche

---

## Nr. 421, mikroskopische Präparate:

- von den Teilnehmern nicht als artifiziell beurteilt
- Raten der falsch positiven und falsch negativen Ergebnisse im üblichen Bereich  
(1-8 % bzw. 3-6 %)

# Ergebnisse Ringversuche

---

## Nr. 422, kultureller Nachweis:

- normale Vorbehandlung möglich
- normale Verunreinigungsrate
- kultureller Nachweis von TB-Bakterien  
und NTM möglich

# Vorteile

---

## von artifiziellem Sputum zur Herstellung von RV-Proben

**mit Methylzellulose als Basis:**

- kann in ausreichenden Mengen hergestellt werden
- getrennte Ansätze für positive und negative Proben möglich
- kann sehr reproduzierbar hergestellt werden
- kein Patientenmaterial, damit keine Biogefährdung
- kein Risiko, dass Mykobakterien in dem Probenmaterial vorhanden sind
- keine toxische Gefährdung des Personals