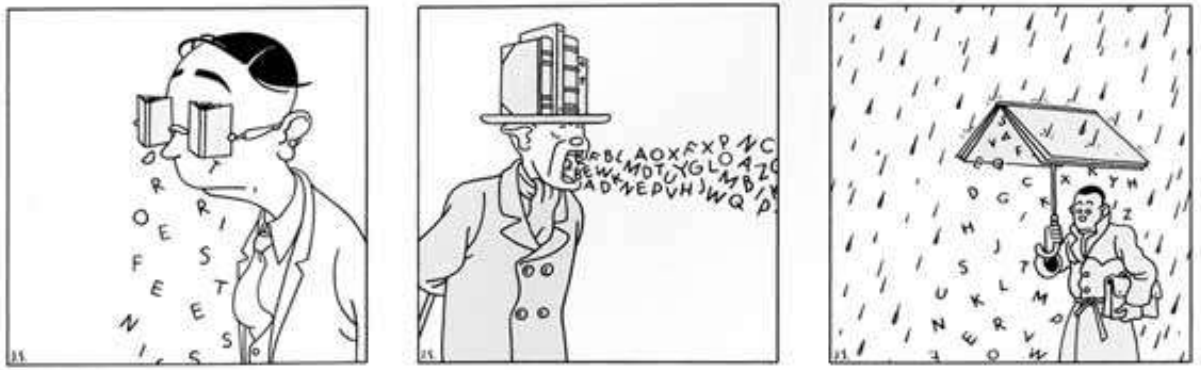
Weefsel Specifiek 2014.3 ZN kleuring

SKML sectie Pathologie 16-06-2015

Drs. S. Dubois



meander MEDISCH CENTRUM

Gewoon beter!

Overzicht

- Inleiding
- Aantallen
- Samples A-D
- Verdiepingsvragen

Inleiding

- **Wereldgezondheidsprobleem**
  - 40% van de wereldbevolking is besmet met M. tuberculosis (MTB)
  - Aantal doden 3 a 5 miljoen/jaar
  - Europa: stijging, met name van multiresistente MTB

Inleiding

- **Strikt pathogene mycobacteriën**
  - M tuberculosis complex = verwekkers van tuberculose
    - Belangrijkste: M. tuberculosis en M. bovis
  - M. leprae, de verwekker van lepra

Inleiding

- **Atypische mycobacteriën:**
  - 30 soorten
  - potentieel pathogeen
  - sommige geven tuberculeuze afwijkingen, met name bij immuungecompromitteerde patiënt
  - belangrijkste: M. avium complex, hierin M. avium-intracellulare

Inleiding



- **Sensitiviteit en specificiteit**
  - wisselend gerapporteerd
    - maximaal sens 93% en spec 100%!
  - Maximale opbrengst met histologisch materiaal
    - pleura
    - laparoscopisch biopt (ascites rel slecht)
    - long
    - beenmerg, pericard, lymfklieren, gewrichten, lever, hersenen etc.
  - Verwachte opbrents groter bij granulomen

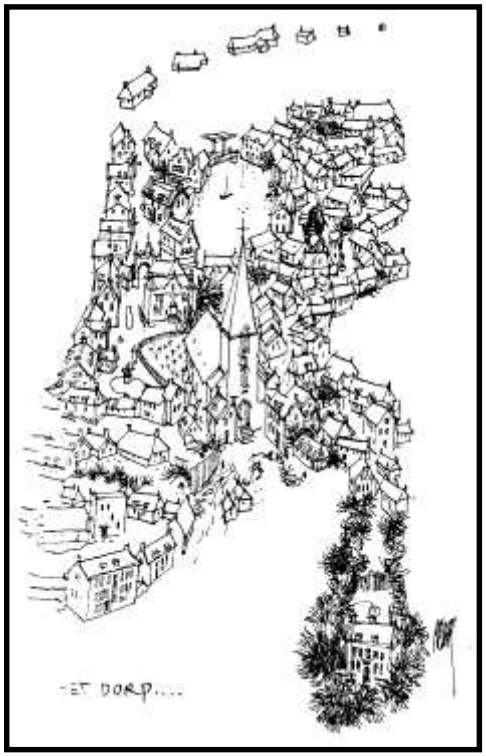
Inleiding

- **Moleculaire testen**
  - om de diagnose (hard) te stellen
  - aanvullend soortspecificiteit
  - aanvullend gevoeligheid voor tuberculostatica
  - Specifieke Nucleic acid amplification test (NAAT's)
    - In NL veelal "home brew"pcr's
    - GenProbe (Hologic)en Amplicor (Roche). Binnen 24 uur. (FDA)

Inleiding

- Specifieke Nucleic acid amplification test (NAAT's) - vervolg
  - GeneXpert MTB/RIF assay
    - geautomatiseerd in cassettes: tegelijk TB en rifampicine resistentie testen
    - sensitiviteit 81%, specificiteit 99% op extrapulmonale TB.
    - Algemene sensitiviteit 63 tot 100%.
    - CSF wisselend (29-85%).
    - Ook in derde wereldlanden.

Getallen



- **deelnemers**
  - verstuurd naar 52 laboratoria
  - 45 retour
  - 43 Q-base
  - 35 ook de verdiepingsvragen
- **aantallen uit 2013**
  - 0 en 1 tot 650
  - gemiddelde 167, mediaan 125

Getallen

- **deelnemers**
  - twee labs alleen auramine/rhodamine – stuurden dit ook in
  - een lab 96 ZN en 180 auramine
  - ander lab 101 ZN en 3 auramine
  - histologische én cytologische preparaten

Getallen

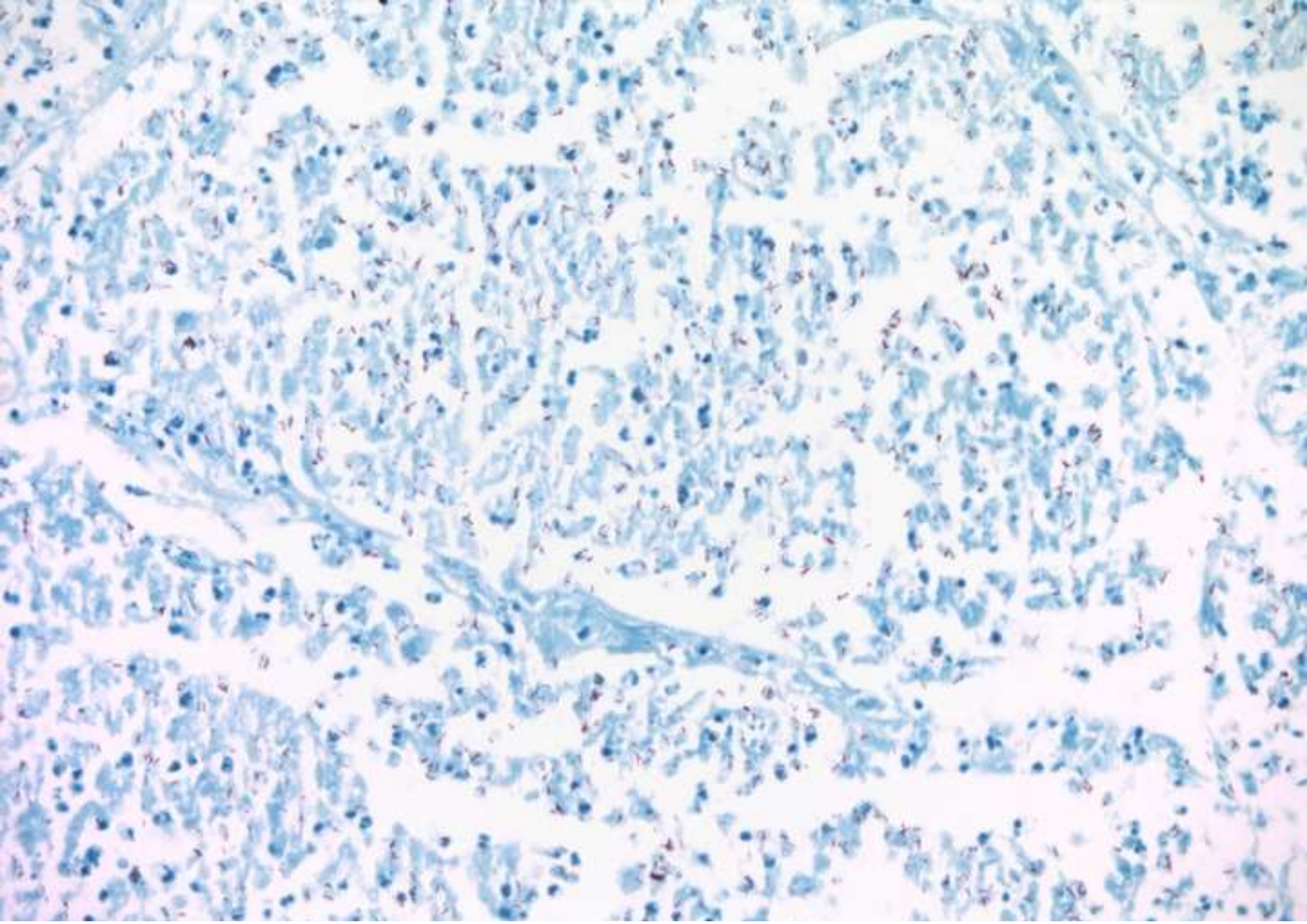
- **deelnemers**
  - twee labs alleen auramine/rhodamine – stuurden dit ook in
  - een lab 96 ZN en 180 auramine
  - ander lab 101 ZN en 3 auramine
  - histologische én cytologische preparaten

Samples

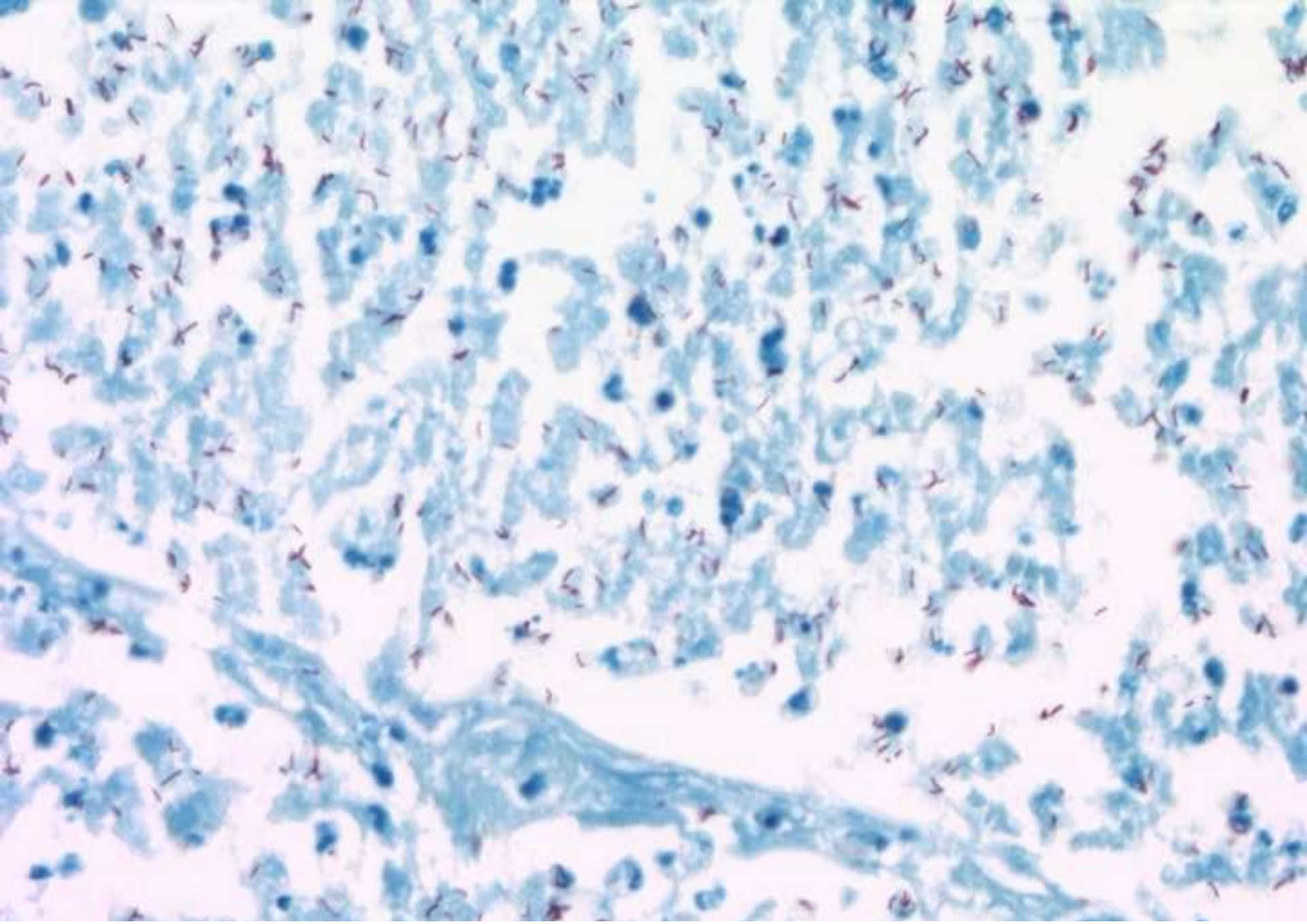
- **kleuring**
  - variatie in intensiteit en scherpte van de zuurvaste staven (ZVS'en)
  - variatie in achtergrondaankleuring met methyleen blauw
  - één lab hematoxyline (prachtig!)
  - lab dat maar één ZN had uitgevoerd in 2013 had een lichte aankleuring in A maar fraai in C

Sample A: long 1

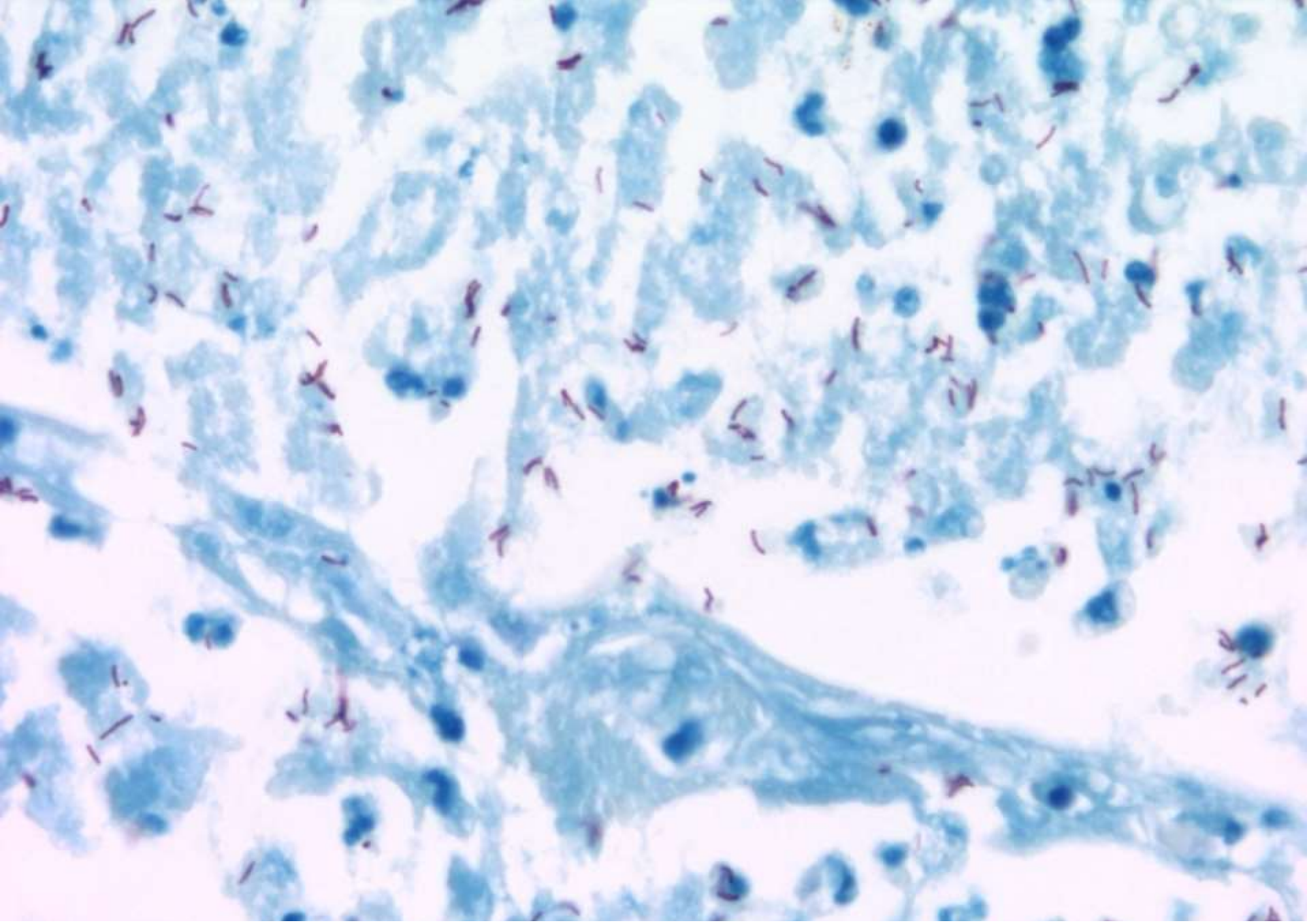
- veel ZVS’en: antwoord A.
- meestal scherpe ZVS’en
- lichte, goed gedefinieerd achtergrondaankleuring met methyleen blauw



A 200x



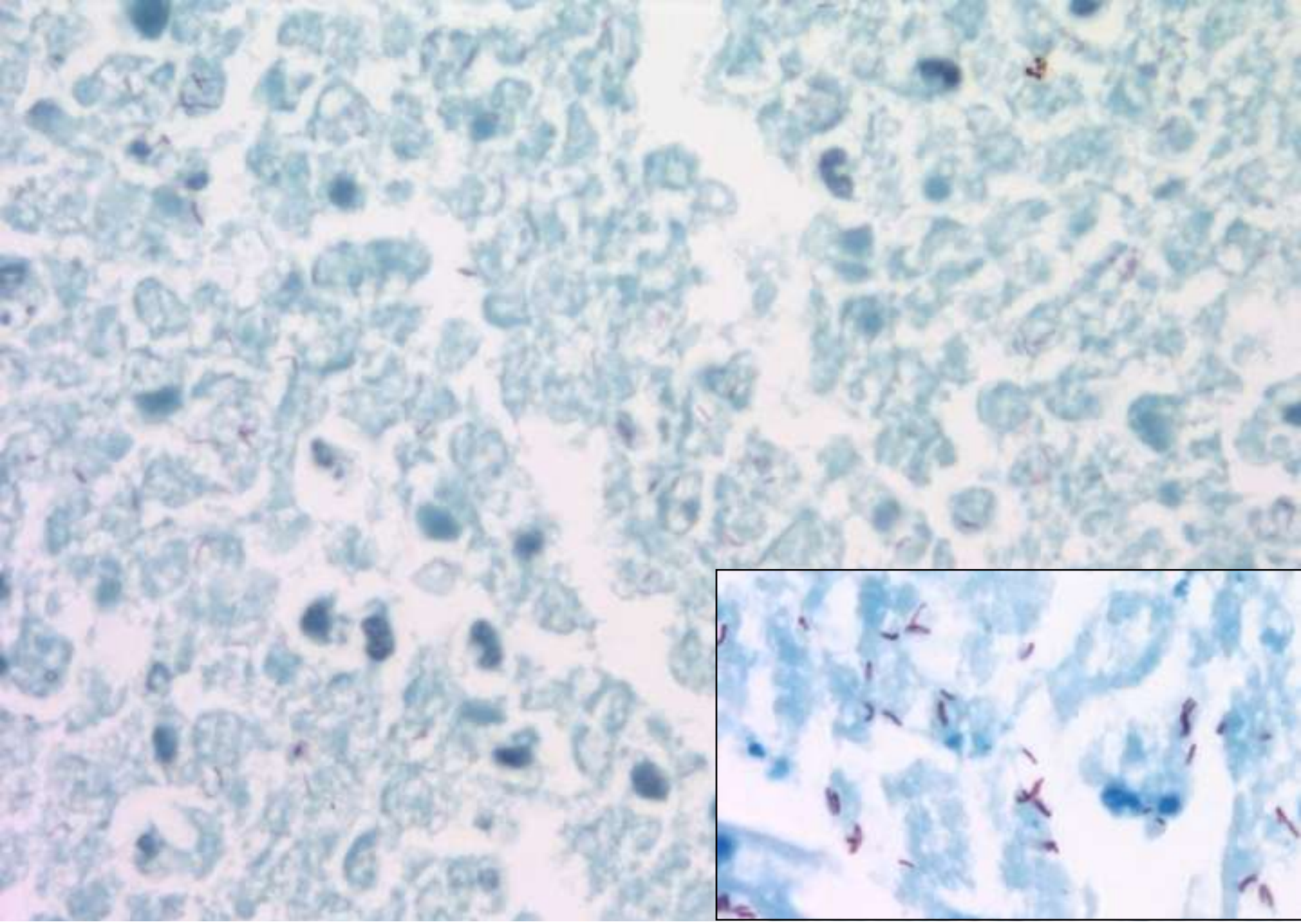
A 400x



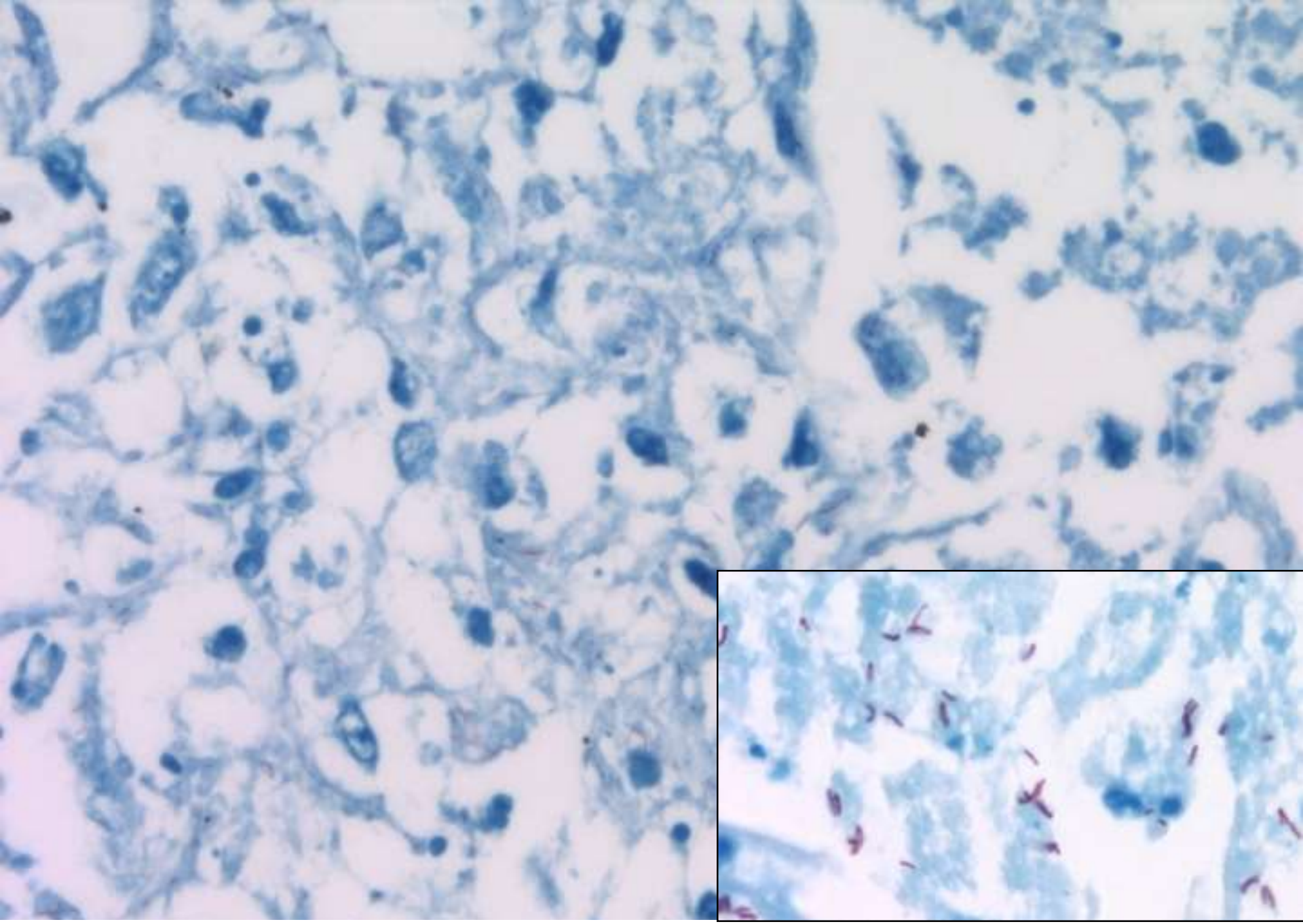
A 630x

Sample A: long 1

- soms zwak aangekleurde ZVS’en
- lastiger zoeken, zeker bij lage load



A 630x zwak

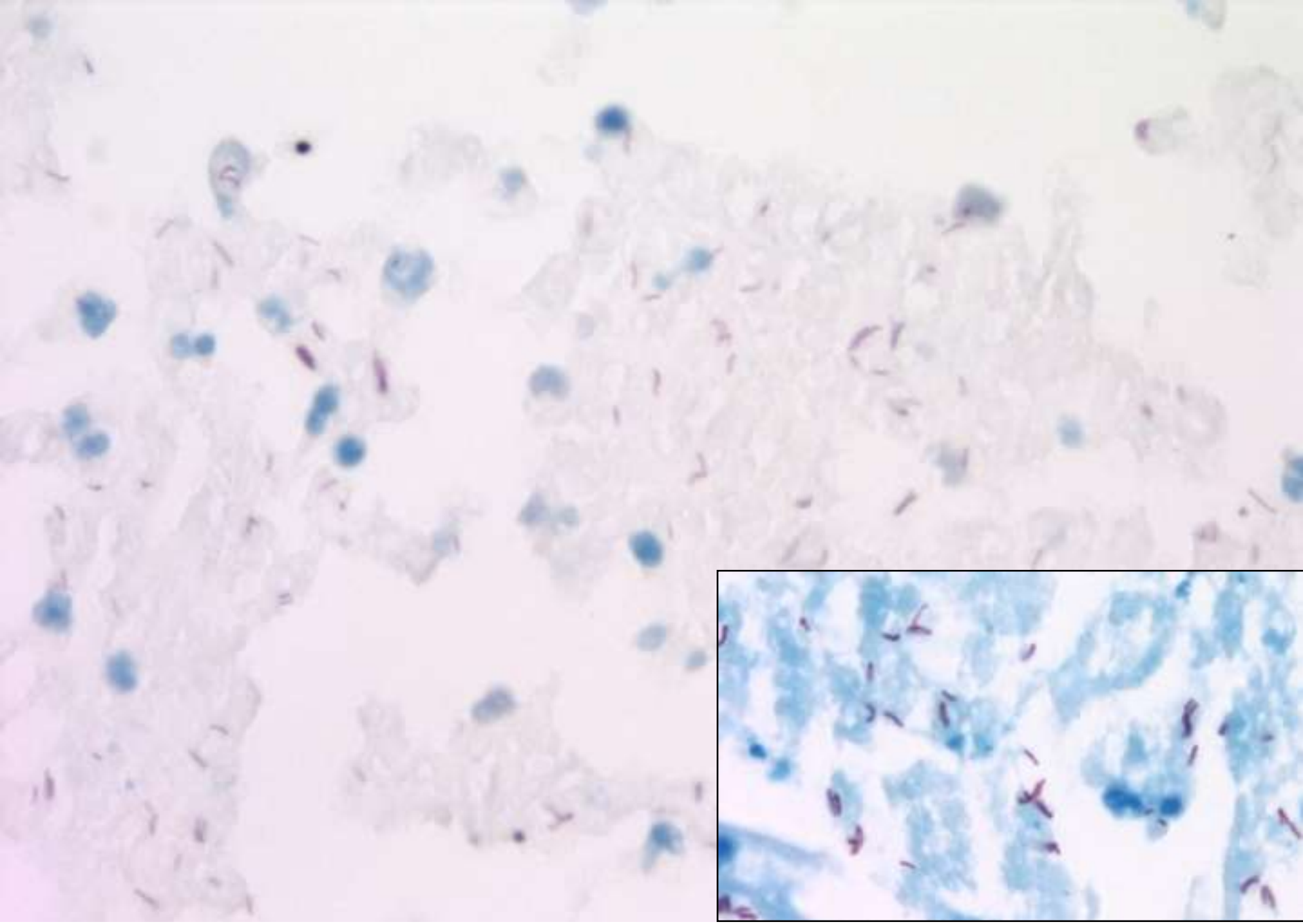


630x veel te zwak

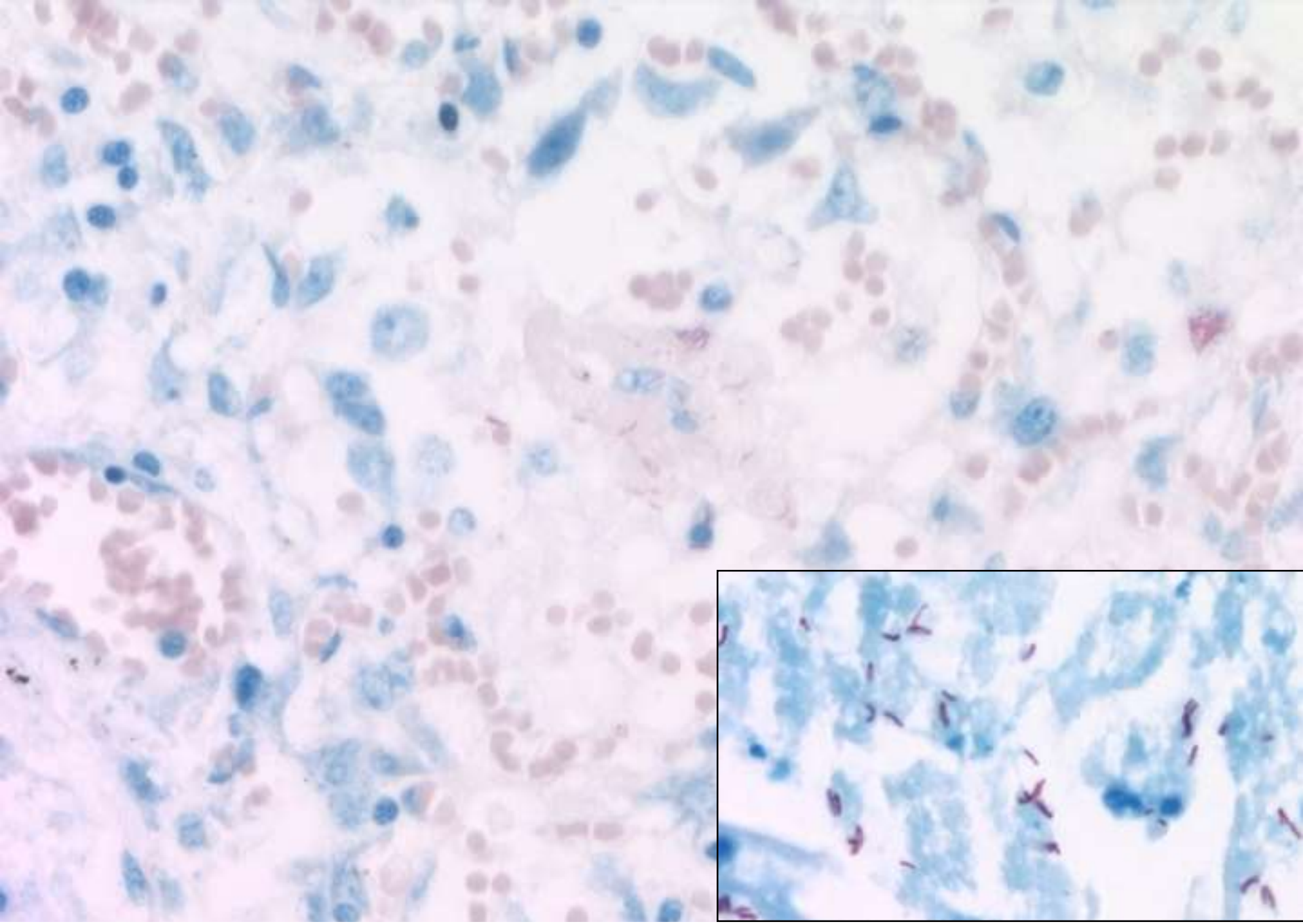
Sample A: long 1

- soms zwakke, bruine of licht roze achtergrond
- wederom lastiger zoeken, zeker bij lage load

- een lab gaf aan geen ZVS'en te hebben gezien en pleitte voor aanvullend onderzoek. De achtergrondaankleuring was bruin: verwarring?



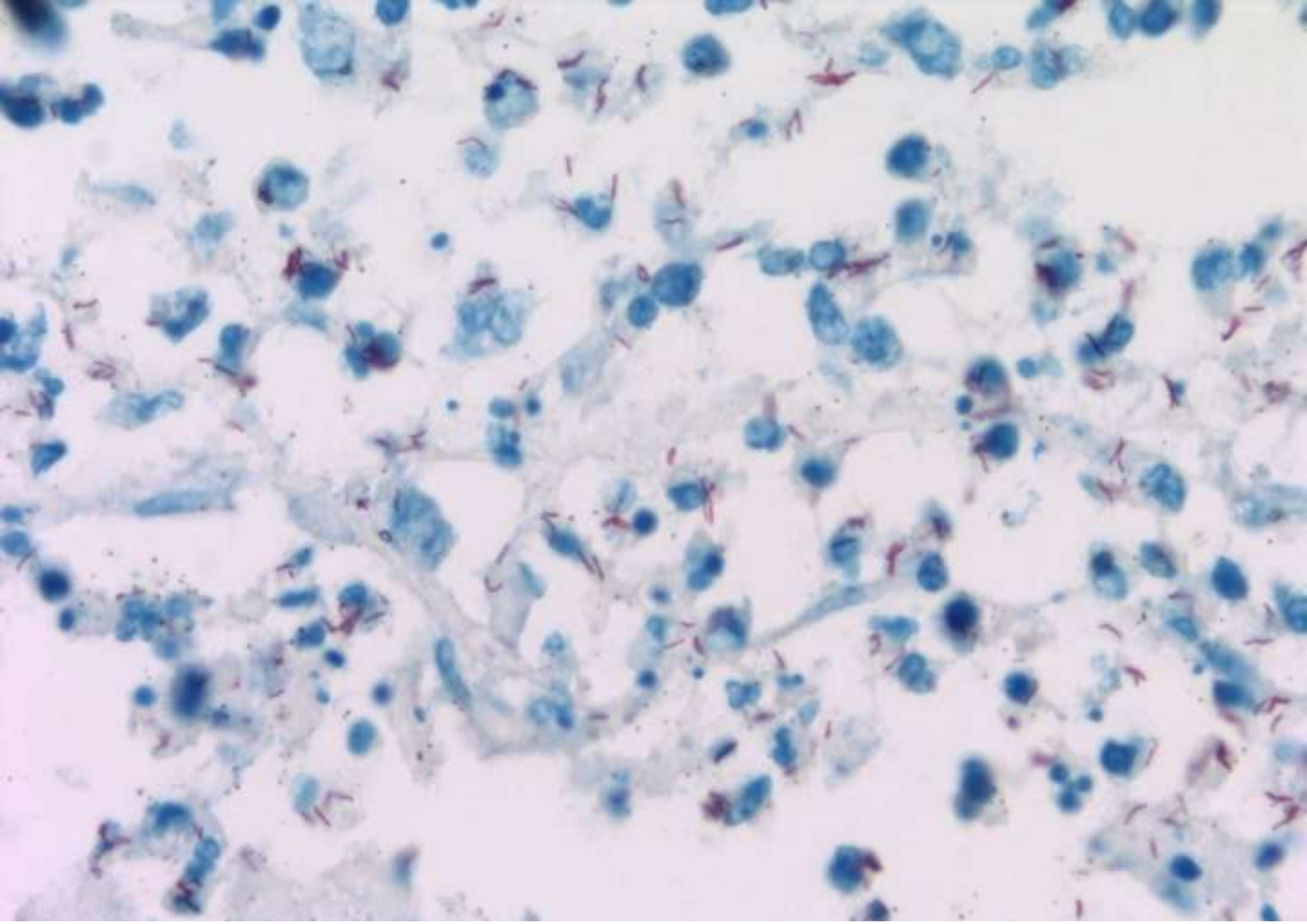
A 630x achtergrond zwak



630x achtergrond eosinofiel

Sample A: long 1

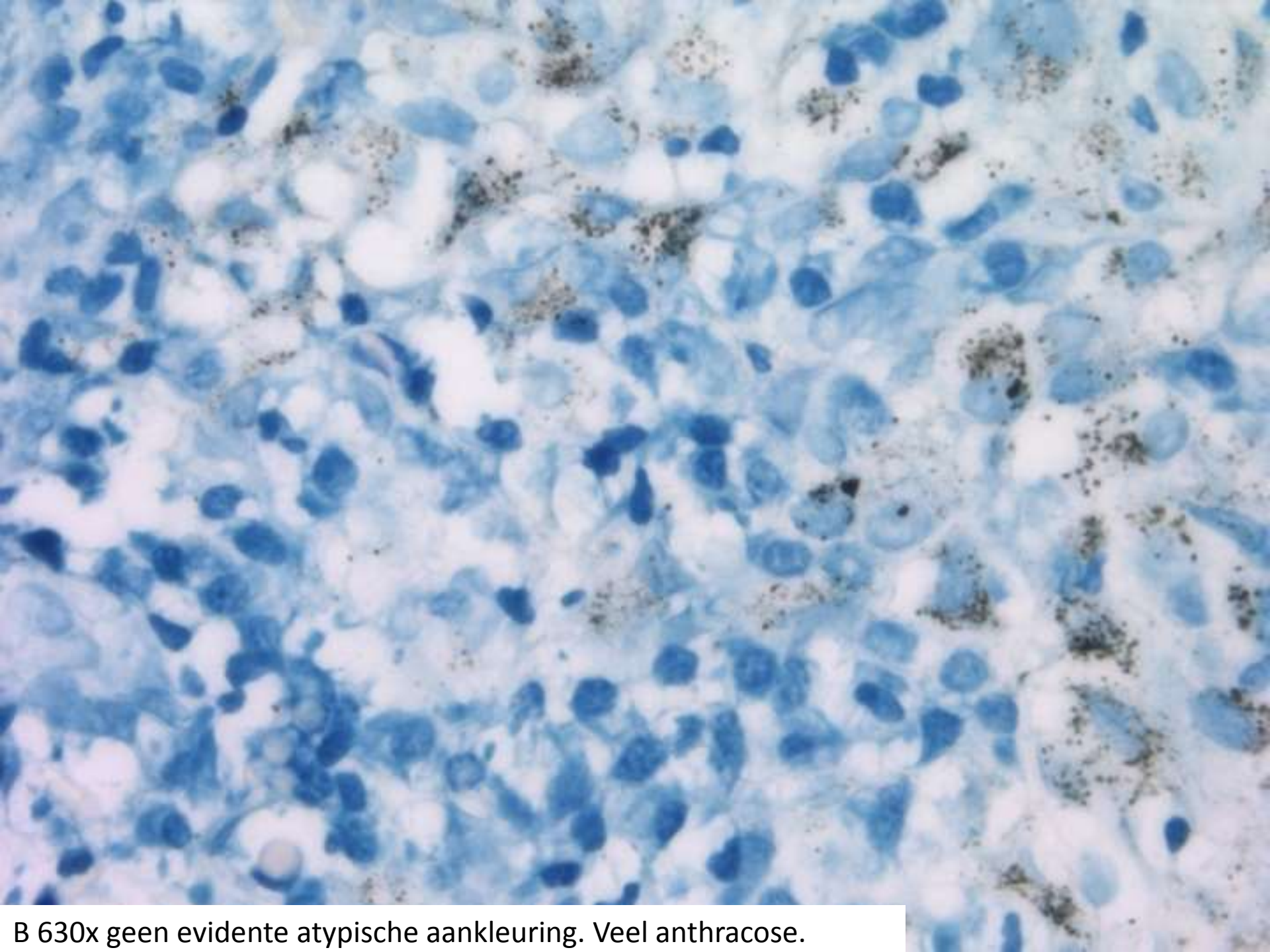
- soms wat aankleuring van kleine rode puntjes en bolletjes
- een lab gaf hierop een verdenking op atypische vormen aan



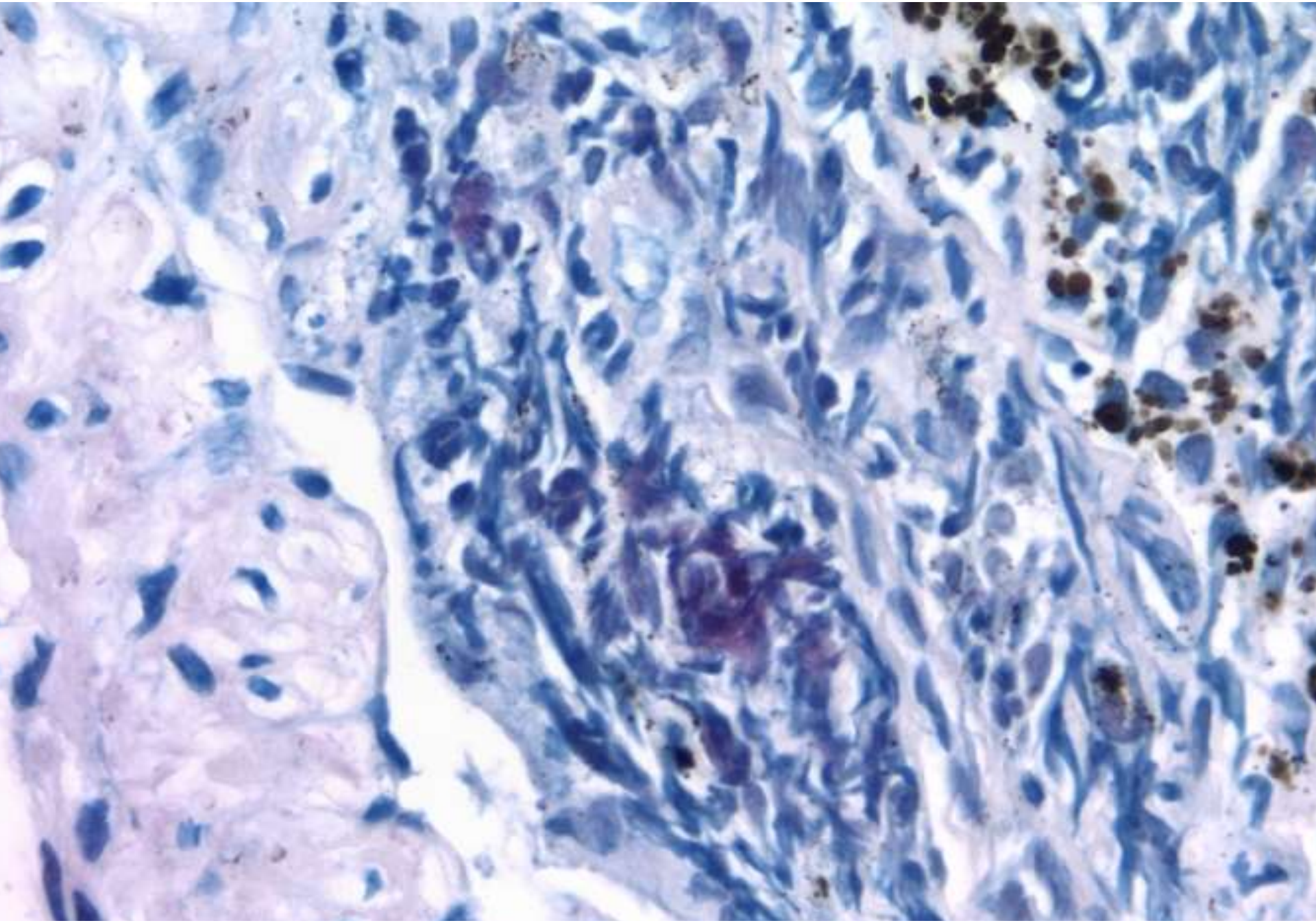
A 630x normaal: geen atypische vormen. Kleine bolletjes?

Sample B: granuloom

- geen ZVS'en: antwoord B
- anthracose
- deels aspecifieke aankleuring, waardoor in een lab een onzekere uitslag (antwoord C)



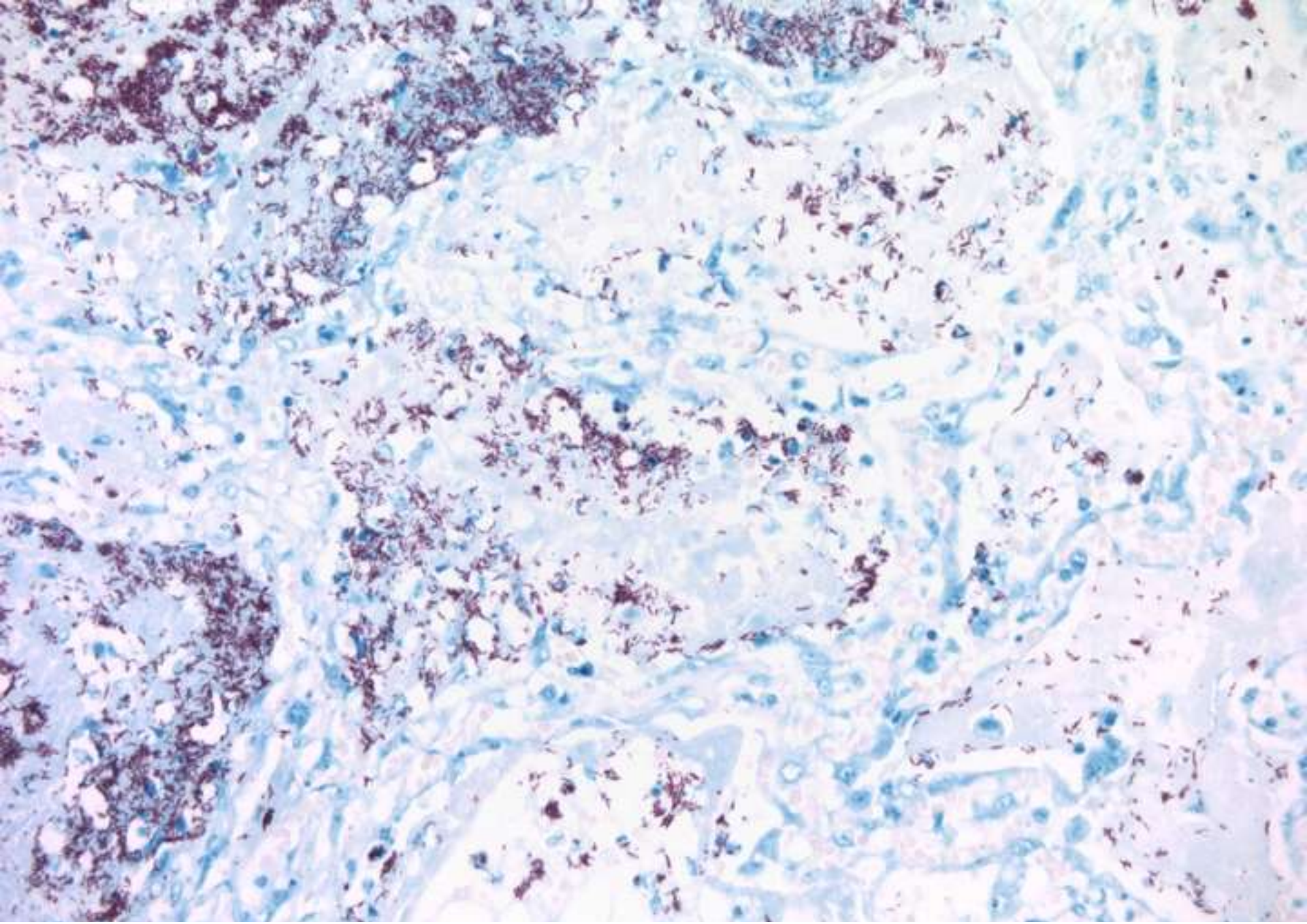
B 630x geen evidente atypische aankleuring. Veel anthracose.



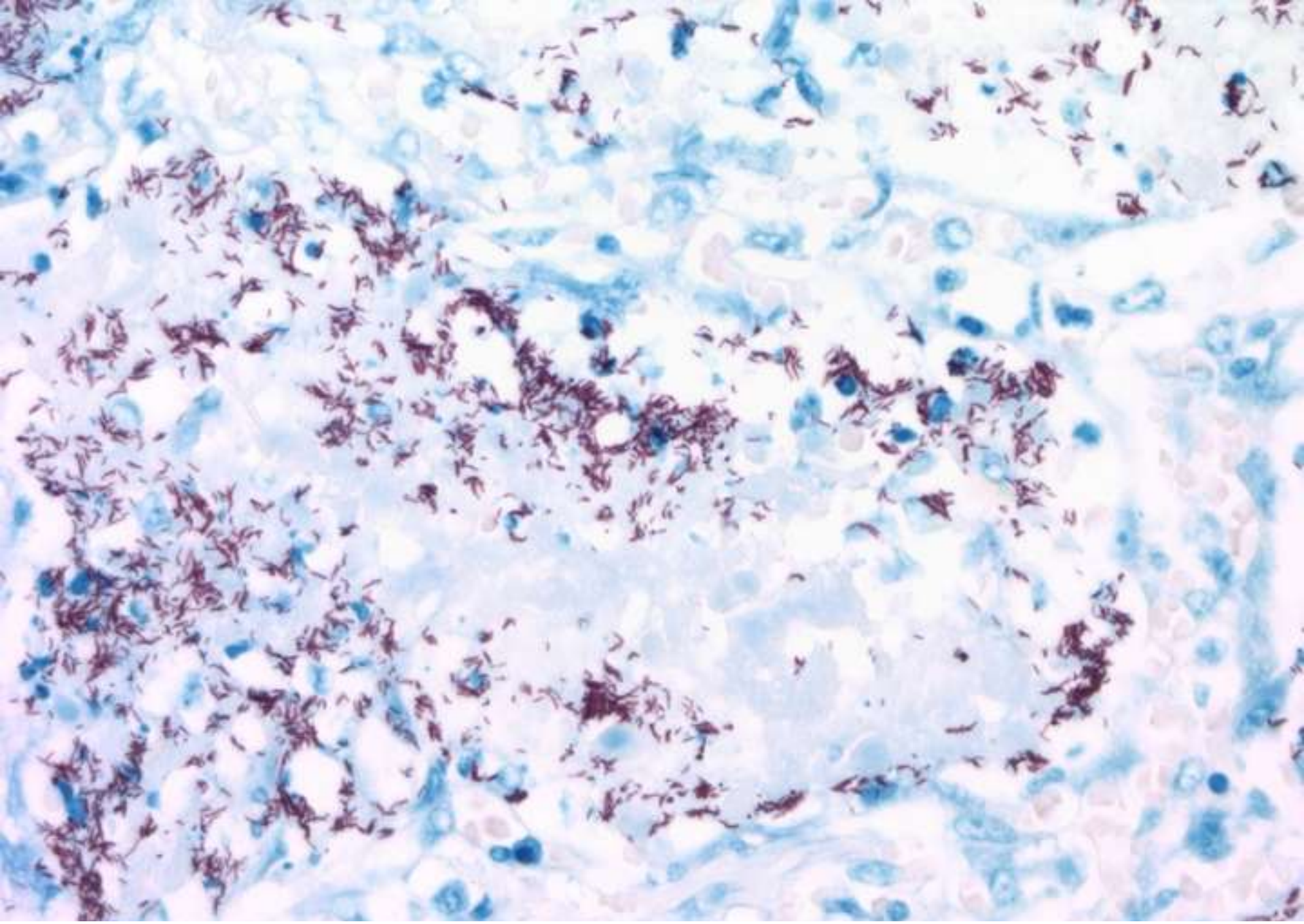
30x aspecifiek

Sample C: long 2

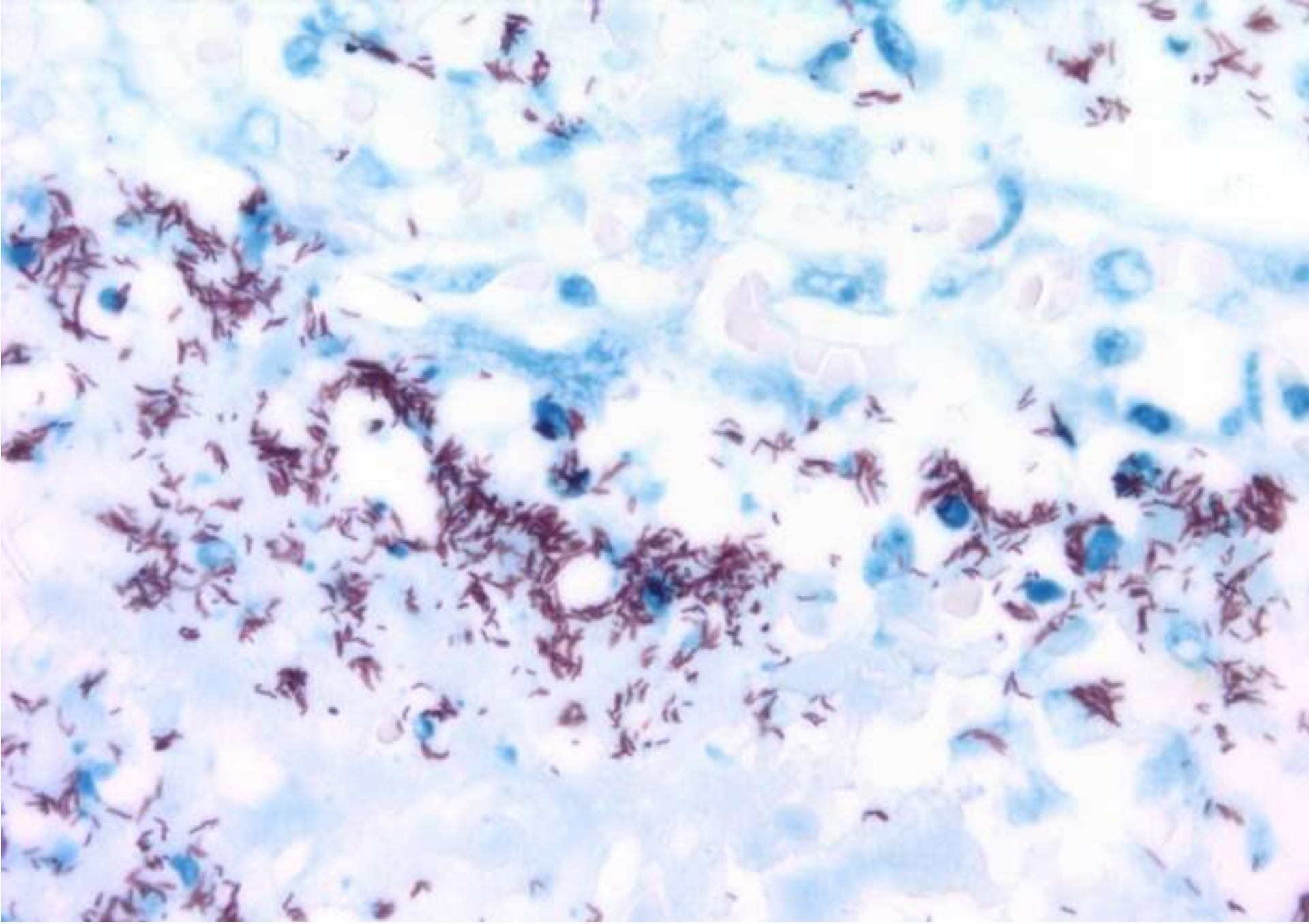
- zeer forse aantallen ZVS'en: antwoord A
- vaak bundels
- 7 labs antwoord D: "onzekere uitslag, afwijkende vorm"



C 200x



C 400x



C 630x

Sample D: long 3

- geen ZVS’en: antwoord B
- 3 labs antwoord: “D: afwijkende vorm”

Verdiepingsvragen

- **35 deelnemers**
- **methode**
  - 14 machinaal: Dako 6x, Ventana 6x, overig 2x
  - 21 handmatig
  - alle 49 inzenders: 19 machinaal, 25 handmatig en 5 onbekend
- **auramine**
  - standaard in 9 labs
  - alleen ter aanvulling in 13 labs
  - niet gebruikt 13 labs

Verdiepingsvragen

- **controles**
  - 14x aparte glaasjes
  - 21x op elk glaasje
  - 2 labs gaan overstappen op op elk glaasje

  - door één lab gekenmerkt als héél belangrijk

Verdiepingsvragen

- **controlemateriaal**
  - 28x long, 1x kip
  - 3x darm
  - 1x lymfklier
  - 3x onduidelijke herkomst
- **techniek**
  - warm 14x
  - koud 13x
  - anders 8x: meestal betrof dit machinale bewerkingen

Verdiepingsvragen

- **reagentia bij handmatig**
  - 15x carbolfuchsine en methyleenblauw
  - 1x carbolfuchsine en hematoxyline
  - 2x Kynyoun (Klinipath) en methyleenblauw
  - 2x primair aur/rho

- **niveaus**
  - 28x 1 niveau
  - 4x 2 niveaus
  - 3x serie
  - vaak afhankelijk van weefseltype

Verdiepingsvragen

- **vervolgstappen**
  - aanvullend PCR 22x
  - herhalen van de ZN; ongeveer 7x
  - herhalen met auramina ongeveer 9x
  - soms eerst overleg kliniek

- **stijging in aantallen**
  - ja 6x
  - nee 27x
  - niet ingevuld 2x

Neem naar huis boodschappen

- kwaliteit van de bewerking zeer belangrijk!
- uitslag binnen de juiste klinische context, in samenwerking met Medische Microbiologie en in nauw overleg met de kliniek.
- gevoeligheid van de ZN kleuring is hoog – binnen de klinische context!
- aanvullende moleculair onderzoek noodzakelijk voor typering en gevoeligheid voor therapie.





meander
MEDISCH CENTRUM
Gewoon beter!
stz