




*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*






Pemeriksaan Laboratrium Diagnosis Cepat TB

Dalima Ari Wahono Astrawinata
Divisi Mikrobiologi dan Infeksi
Departemen Patologi Klinik FKUI
Laboratorium Klinik Pusat RSCM

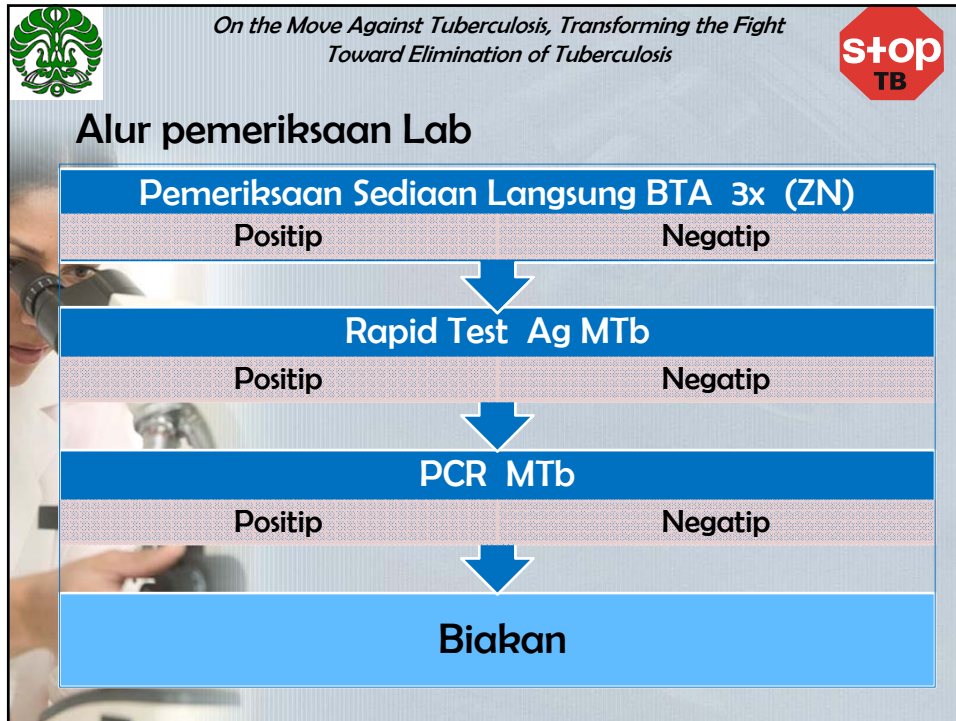


*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*






Pendahuluan

- Diagnosis TB ditegakkan atas dasar :
 - Keluhan dan anamnesis
 - Klinis
 - Radiologik dan Laboratorium
- Pemeriksaan Laboratorium :
 - Sputum
 - Cairan tubuh lain : cairan otak, cairan pleura
 - Darah, urin, feses
- Masalah timbul → tidak ditemukan dari sediaan hapus
- Lanjut dengan biakan → perlu 4-6 minggu
- Alternatif pemeriksaan lebih cepat yang tersedia ??



*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*

Persyaratan PraAnalitik

- Kualitas sputum memenuhi syarat :
 - Bukan saliva / ludah
 - Tidak terkontaminasi saliva / ludah
 - Dibatukkan dengan tekanan dari dalam
- Edukasi pasien cara penampungan :
 - Kumur air matang dengan seksama 3x
 - Tarik napas dalam 3x
 - Tahan napas pada tarikan ke 3 sesaat
 - Batukkan dengan tekanan


DalimaAW/PatKlin/TBDay/Apr12 4

*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*

**stop
TB**

Persyaratan PraAnalitik (lanjutan)

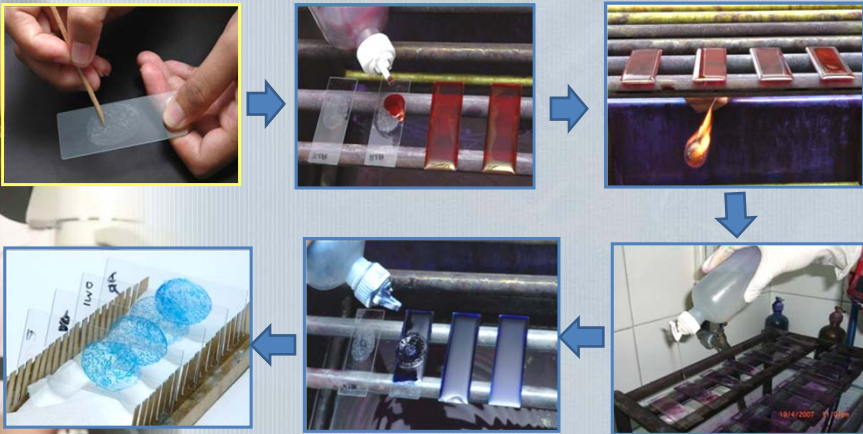
- Waktu penampungan 3x :
 - Sewaktu (ketika di Poli)
 - Pagi (bangun tidur, ditampung saat esok hari)
 - Sewaktu (waktu kembali ke Poli esok hari)
- Wadah penampungan :
 - Bersih, kering, mulut lebar, tutup ulir
 - Sebaiknya standar dari Lab
- Lokasi penampungan :
 - Di tempat terbuka, ada sinar matahari, udara bebas
 - Tidak boleh di WC / toilet / kamar mandi / kamar tidur ruang periksa / ruang tertutup



*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*

**stop
TB**

Tahapan Perwarnaan Manual Ziehl Neelsen



Sumber : Penuntun Pemeriksaan BTA, Lab RSPersahabatan

DalimaAW/PatKlin/TBDay/Apr12 6

*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*

**stop
TB**

Pelayanan Lab Klinik Pusat RSCM utk pemeriksaan sediaan hapus

- Jam buka loket rawat jalan untuk pengambilan hasil s/d jam 18.00
- Loket pelayanan Cito Lab Klinik Pusat 24 jam untuk penerimaan bahan dan pengambilan hasil
- Sediaan hapus BTA tidak termasuk pemeriksaan cito
- Waktu pemeriksaan 1 hari , hasil keesokan hari

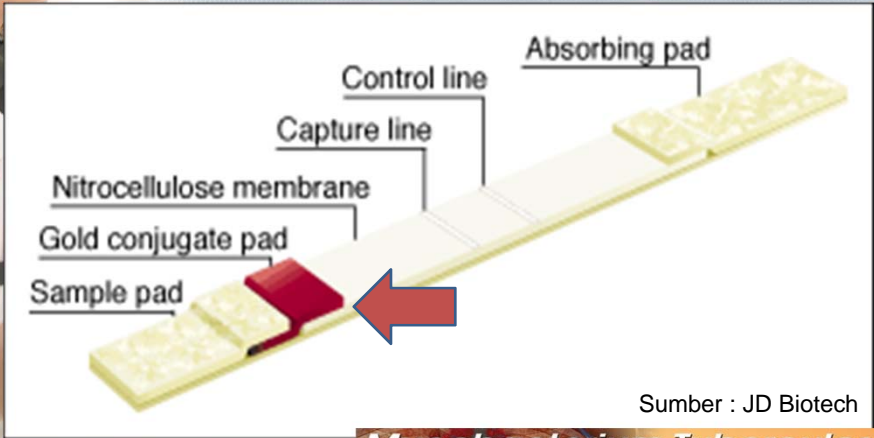
DalimaAW/PatKlin/TBDay/Apr12 7

*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*

**stop
TB**

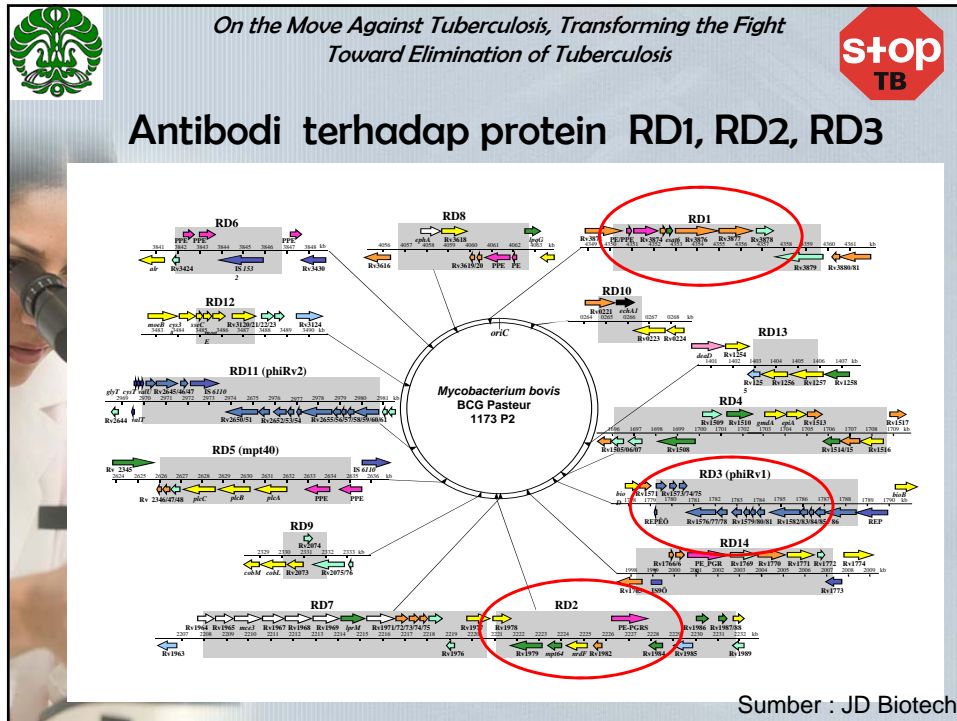
Pemeriksaan Rapid Ag MTb Prinsip : imunokromatografi (ICT) :

Anti-MTb berlapis emas melekat pd membran selulosa



Sumber : JD Biotech

Mycobacterium Tuberculosis
Antigen Rapid Test Kit



*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*

**stop
TB**

- Tidak bereaksi terhadap vaksinasi BCG
- Tidak bereaksi terhadap NTM
(*Non-Tuberculosis Mycobacteria*)
- Menggunakan antibodi terhadap protein spesifik MTb → RD1, RD2, RD3 (*Region of Difference*) yang tidak ditemukan dalam BCG
- RD 1 (*early secretory antigen target 6 / ESAT-6*) dan *culture filtrate protein 10 / CFP10*)
- RD2 (segmen 10.7-kb DNA dan gen MPT-64)
- RD3 (genom segmen 9.3-kb kuman laboratorium *M. bovis* dan *M. tuberculosis*)

Sumber : JD Biotech

*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*

**stop
TB**

Mycobacterium Tuberculosis Antigen Rapid Test Kit

- Bahan : sputum, cairan otak, cairan pleura, darah, urin
- Sensitivitas dan spesifisitas (> 96%)
- Cepat, pengerjaan sekitar 15 menit
- Mudah dan sederhana

CATATAN :

- Tidak dianjurkan untuk pasien yang sudah mendapat terapi OAT (tidak untuk monitoring hasil terapi)
- Harus sputum segar, tidak boleh sputum yang sudah diproses dg NaOH → pH alkali merusak reagen

DalimaAW/PatKlin/TBDay/Apr12 11

Sumber : JD Biotech

*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*


**stop
TB**

Model strip

TB Ag Rapid Test Simply Assay Procedure

- 1** Sample tube
(including 1.0ml of buffer (1x))
- 2** sputum
Pipette to 0.2-0.3ml of sputum
- 3** Sample and buffer
up and down mix
- 4** Mix
Mixed well
- 5** Testing
Take a TB strip into tube for test
- 6** Waiting
Waiting for 15 minutes
- 7** Reading
Neg. Pos. invalid


*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*





Model kaset


TB Ag Rapid Test Simply Assay Procedure (For Sputum Test)

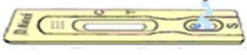
- 1

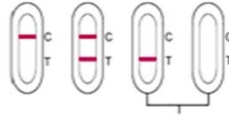
Sample tube

 [including 1.0ml of buffer(1x)]
- 2

Sputum

 Pipette to 0.2-0.3ml of sputum
- 3


Mix for 30-60 seconds

 up and down mix
- 4

Testing

 Take one TB Ag cassette to add 4 drops (200uL) Of diluted sample into cassette (S) Region
- 5

Waiting for 15 minutes

- 6

Reading

Neg Pos. invalid

*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*



Hasil Trial MTb Ag Rapid Tes Lab Klinik Pusat RSCM



Frída. Penelitian pendahuluan Rapid TbAg pada pasien tersangka TB, Dep Patologi Klinik FKUI/RSCM, 2011

Hasil	BTA	Rapid TbAg	PCR
+	6	6	6
-	11	11	11
Total	17	17	17

Kesesuaian ~ 74 %

AW/PatKlin/TBDay/Apr12 14

*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*

Hasil Trial MTb Ag Rapid Tes

Lab Klinik Pusat RSCM



Frida. Penelitian pendahuluan Rapid TbAg pada pasien tersangka TB, Dep Patologi Klinik FKUI/RSCM, 2011

Hasil	BTA	Rapid TbAg	PCR
+	3	1	5
-	3	5	1
Total	6	6	6

Sudah mendapat OAT ? Ketidaksesuaian ~ 26 %

DalimaAW/PatKlin/TBDay/Apr12 15

*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*

Polymerase Chain Reaction (PCR) RealTime

Spesimen
(sputum, bilasan bronkial, c. otak, urin,
feses, darah, c. pleura)

↓


DNA

↓


Analisis

Isolasi asam nukleat Amplifikasi DNA

DalimaAW/PatKlin/TBDay/Apr12 16



*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*




Prinsip MTB/NTM PCR-RT


- PCR-RT multipleks → amplifikasi NTM, MTB
- Tidak membedakan MTB kompleks yg terdiri atas *M.tuberculosis*, *M.bovis*, *M.bovis* BCG, *M.africanum*, *M.microti*, *M.canetti*, *M.pinnipedii*

DalimaAW/PatKlin/TBDay/Apr12 17

Sumber : Seegene Anyplex[®] MTB/NTM



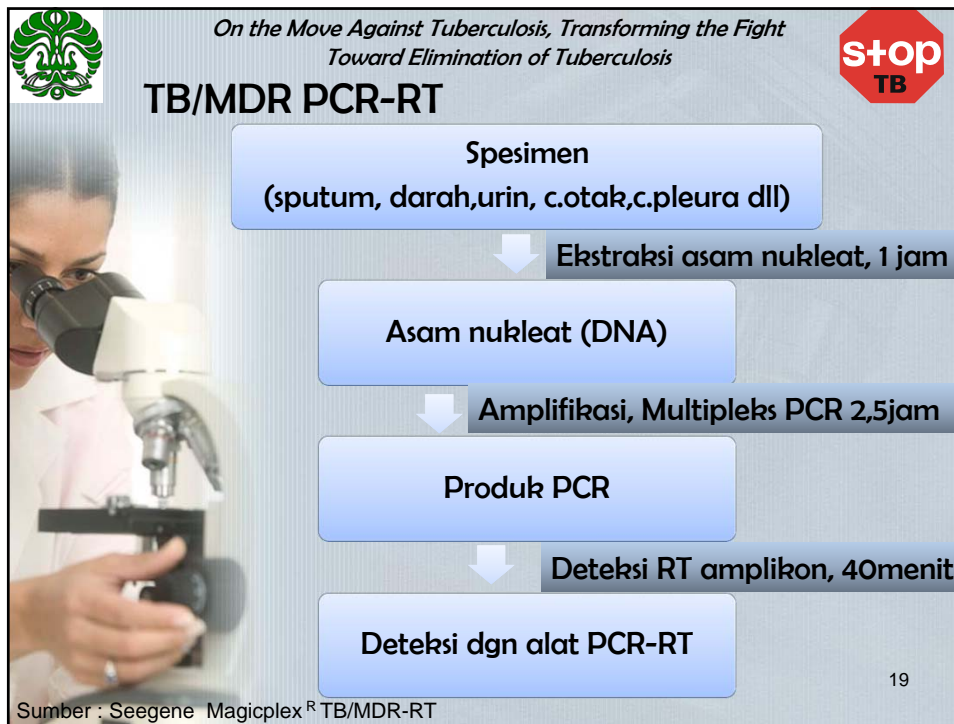
*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*



Prinsip MTB/NTM PCR-RT

- Amplifikasi DNA menggunakan prinsip *dual priming oligonucleotide* (DPO) → susunan primer lebih leluasa, primer non-spesifik di blok
- PCR-RT berdasarkan 2 proses utama :
 - Isolasi asam nukleat (DNA)
 - Amplifikasi asam nukleat (DNA) sasaran memakai primer DPO dg alat PCR *real time* (RT)
- Kontrol internal (DNA plasmid) utk deteksi kemungkinan proses amplifikasi PCR terganggu
- 8-metoksipsoralen (8-MOP) menghentikan aktivitas template DNA kontaminan

Sumber : Seegene Anyplex[®] MTB/NTM



*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*

stop TB


TB/MDR PCR-RT

- PCR-RT multipleks → amplifikasi simultan MTB, Resisten - Isoniazid dan Resisten - Rifampicin


Sumber : Seegene Magicplex[®] TB/MDR-RT

DalimaAW/PatKlin/TBDay/Apr12

20




*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*




Prinsip TB/MDR PCR-RT

- Amplifikasi DNA menggunakan prinsip *dual priming oligonucleotide* (DPO) → susunan primer lebih leluasa, primer non-spesifik di blok
- Teknologi READ (*REal Amplicon Detection*) → proses PCR multipleks memakai primer DPO (alat PCR konvensional) dan deteksi amplicon (hasil amplifikasi) langsung selama proses *cycling* (alat PCR-RealTime)
- PCR-RT berdasarkan 3 proses utama :
 - Ekstraksi asam nukleat
 - Amplifikasi asam nukleat sasaran memakai primer DPO dgn alat *thermal cycler*
 - Deteksi produk amplicon memakai alat PCR *real time*




*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*





Hasil Penelitian PCR-RT dg BTA pasien tersangka TB

Hasil	BTA	PCR-RT
MTB		11
MTB/NTM		2
Positip	9	
Negatip	16	12

Frida. Pemeriksaan PCR-RT sputum pasien tersangka TB. Dep PK,2011



*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*



Penutup

- Beberapa pemeriksaan cepat untuk membantu diagnosis TB telah tersedia
- Kegunaan dan keterbatasan masing-masing perlu dipahami dengan benar

DalimaAW/PatKlin/TBDay/Apr12 23



*On the Move Against Tuberculosis, Transforming the Fight
Toward Elimination of Tuberculosis*



TERIMA KASIH



DalimaAW/PatKlin/TBDay/Apr12