

## Resistente Tuberkulose – Aktuelles zur Empfindlichkeitstestung

In Deutschland steigen die Tuberkulose(TB)-Fallzahlen seit 2013 wieder an. Gleichzeitig steigt damit bei etwa gleichbleibendem Anteil an (multi-)resistenten Stämmen die Anzahl an Patienten mit einer resistenten TB. So wurden 2015 bundesweit insgesamt 125 Fälle multiresistenter TB (MDR-TB) verzeichnet.<sup>1</sup> Für den Behandlungserfolg dieser Patienten und für eine effektive TB-Kontrolle ist eine schnelle und zuverlässige Diagnostik incl. Empfindlichkeitstestung von großer Bedeutung. Die Empfindlichkeitstestung sollte wie nachfolgend beschrieben unter Einsatz molekularer und phänotypischer Verfahren durchgeführt werden.

Die am häufigsten angewandte Methode zur Resistenzbestimmung ist die **Testung in Flüssigkulturverfahren**. Die Kultivierung der Bakterien (2–4 Wochen) mit anschließender **phänotypischer Resistenzbestimmung** (1–2 Wochen) ist zeitaufwendig. Im Gegensatz zu Empfindlichkeitstestungen bei anderen Bakterien wird in der Regel nicht die minimale Hemmkonzentration (MHK) bestimmt, sondern anhand einer für das jeweilige Antibiotikum festgelegten „kritischen“ Konzentration ermittelt, ob eine Resistenz vorliegt oder nicht. Angaben über das Resistenzniveau können bei solch einer Testung daher nicht gemacht werden. Die phänotypische Resistenztestung ist nach wie vor die Standardmethode zur Überprüfung der Antibiotika-Empfindlichkeit der TB-Erreger.

Die Durchführung **molekularer Verfahren** für die Isoniazid- und Rifampicin-Testung aus der positiven Kultur ist mit einer hohen Sensitivität und Spezifität verbunden und verkürzt die Zeit bis zum Vorliegen des Ergebnisses im Vergleich zur phänotypischen Testung um mindestens sieben Tage. Daher kann der Einsatz bei Vorliegen des ersten kulturellen Isolates parallel zur phänotypischen Testung, ganz besonders bei Verdacht auf einen resistenten Stamm (z. B. bei Patienten aus Regionen mit hohem Anteil resistenter TB, mit Kontakt zu MDR-Patienten oder mit einer Vorbehandlung), empfohlen werden. Dasselbe gilt für den Einsatz molekularer Methoden bei der Testung von Zweitrangmedikamenten, wobei hier Sensitivität und Spezifität leicht eingeschränkt sind.<sup>2,3</sup> Der Einsatz molekularer Methoden ist bei positiver Mikroskopie auch am Direktmaterial möglich. Schnelle Informationen über Resistenzen gegenüber Fluorchinolonen und injizierbaren Antibiotika vor Abschluss der phänotypischen Resistenzbestimmung sind bei Vorliegen einer MDR-TB sinnvoll, also bei einer Erkrankung mit Stämmen, die eine Resistenz gegenüber mindestens Isoniazid und Rifampicin aufweisen. Aus diesem Grund empfiehlt die Weltgesundheitsorganisation (WHO) bei einer nachgewiesenen Rifampicin-Resistenz oder MDR-Tuberkulose seit 2016 den Einsatz des **Streifenhybridisierungstests** am Sputum.<sup>4</sup>

Molekulare Tests können die phänotypische Testung zur Absicherung grenzwertiger und zweifelhafter Ergebnisse ergänzen und bei verunreinigten Kulturen oder auch Mischkulturen von TB-Bakterien und anderen Mykobakterien eingesetzt werden. Bestehen Zweifel am Ergebnis der phänotypischen Testung der Antibiotika Ethambutol und Pyrazinamid, sollte ergänzend eine molekularbiologische Überprüfung durch die Sequenzierung der Resistenzgene *embB* bzw. *pncA* erfolgen. Im Falle einer Isoniazid-Resistenz kann zudem das Resistenzniveau eingeschätzt werden, da die Mutation S315T im *katG*-Gen zu einer Hochresistenz und eine Mutation in der *inhA*-Promotor-Region in der Regel zu einer Niedrigresistenz führt, was für die Gestaltung der Therapie bedeutsam sein kann.

Die **Gesamtgenomsequenzierung** ermöglicht im Vergleich zu Streifenhybridisierungstests und Einzelgenesequenzierungen ein umfassendes Bild über alle bekannten Mutationen und Gene, die mit Resistenzen korreliert sind, und liefert damit zusätzliche Informationen zu eventuell weiteren Antibiotikaresistenzen. Die zuverlässige Durchführung der Gesamtgenomsequenzierung ist derzeit allerdings nur aus dem DNA-Isolat der positiven Kultur möglich. Noch sind die Kosten hoch und die Infrastrukturen für einen universellen Einsatz nicht ausreichend.

In seltenen Fällen sind Mutationen beschrieben, die mit einer Erhöhung des MHK-Wertes einhergehen, aber ein falsch-sensibles Resistenzergebnis in der konventionellen Testung im Flüssigmedium aufweisen.<sup>5</sup> In diesen Fällen sollte zusätzlich der MHK-Wert bestimmt werden. Eine solche Bestimmung, die Gesamtgenomsequenzierung sowie die Interpretation der Ergebnisse sollten ausschließlich in Speziallaboren durchgeführt werden.

Aufgrund der klinischen und praktischen Bedeutung der Kenntnis des Resistenzprofils für die Versorgung von TB-Patienten ist bei Tuberkulose neben dem direkten Erregernachweis nachfolgend auch das Ergebnis der Resistenzbestimmung gemäß Infektionsschutzgesetz § 7 Abs. 1 Nr. 34 meldepflichtig.

Am Nationalen Referenzzentrum (NRZ) für Mykobakterien am Forschungszentrum Borstel werden die beschriebenen Verfahren eingesetzt und ein Beratungsservice für Diagnostik-Laboratorien und Ärzte angeboten. Die Beratung umfasst die Beantwortung von Fragen zur Epidemiologie, Diagnostik und Therapie von TB. Sie ist erreichbar unter der Telefonnummer: +49 (0)4537 188–2110.

### Hinweis des NRZ in eigener Sache

Um einen Überblick über das bestehende diagnostische Netzwerk für Erreger des *Mycobacterium-tuberculosis*-Komplexes und nichttuberkulöse Mykobakterien zu bekommen und dieses effizienter nutzen zu können, hat das NRZ einen Fragebogen entwickelt. Die Befragung soll in einem ersten Schritt dazu dienen, das diagnostische Spektrum in Deutschland und die diagnostische Versorgungsstruktur für TB und nichttuberkulöse Mykobakteriosen zu spezifizieren. Die Daten sollen langfristig genutzt werden, um Synergien zu nutzen, Datenübermittlungen effizienter zu gestalten und damit Maßnahmen zur Vermeidung von Übertragung der Tuberkulose zu optimieren.

Der Fragebogen wird in Kürze an Labore versandt und zudem über die Homepage des NRZ ([www.fz-borstel.de/cms/forschungszentrum/nationales-referenzzentrum-fuer-mykobakterien.html](http://www.fz-borstel.de/cms/forschungszentrum/nationales-referenzzentrum-fuer-mykobakterien.html)) zur Verfügung gestellt. Das NRZ bedankt sich im Vorhinein bei allen Teilnehmern, wohlwissend dass das Ausfüllen eines Fragebogens wertvolle Zeit in Anspruch nimmt.

### Literatur

1. RKI: Bericht zur Epidemiologie der Tuberkulose in Deutschland für 2015 (2016)
2. Theron G, et al.: The diagnostic accuracy of the GenoType® MTBDRsl assay for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD010705 (2014)
3. Tomasicchio M, et al.: The diagnostic accuracy of the MTBDRplus and MTBDRsl assays for drug-resistant TB detection when performed on sputum and culture isolates. *Sci. Rep.* 6, 17850 (2016)
4. WHO: The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs, Policy Guidance 2016
5. Rigouts L, et al.: Rifampin resistance missed in automated liquid culture system for *Mycobacterium tuberculosis* isolates with specific *rpoB*-mutations. *J Clin Microbiol* 2013;2641–5. doi: 10.1128/JCM.02741-12

---

■ Dr. Sönke Andres | Dr. Doris Hillemann | Dr. Katharina Kranzer |  
Nationales Referenzzentrum für Mykobakterien

Korrespondenz: sandres@fz-borstel.de

■ Vorgeschlagene Zitierweise:  
Andres S, Hillemann D, Kranzer K: Resistente Tuberkulose –  
Aktuelles zur Empfindlichkeitstestung. *Epid Bull* 2017;11/12:102–103  
DOI 10.17886/EpiBull-2017-012