

Infektionsdiagnostik

TB or not TB?

Mit der Einführung der PCR ist die Tuberkulosedagnostik wesentlich einfacher, sensitiver und schneller geworden.

Die Tuberkulose (TB) führt die weltweite Statistik der tödlichen Infektionskrankheiten an: Jeder dritte Mensch ist infiziert, weltweit fordert sie jedes Jahr rund zwei Millionen Todesopfer. Auch wenn im deutschsprachigen Raum weit weniger als ein Fall auf 10.000 Einwohner kommt, stellt diese Krankheit eine infektiologische Herausforderung dar. Sie ist schwer zu behandeln und die Infektionsrate mit multiresistenten Bakterien (MTB), die vor allem auch gegen das Hauptmedikament Rifampicin unempfindlich sind, hat in den letzten Jahren erheblich zugenommen.

Bis zum Aufkommen moderner molekularbiologischer Tests war die Antwort auf die Frage „TB or not TB?“ insbesondere ein Zeitproblem, weil die Kultur, die nach wie vor als Goldstandard gilt, bis zu acht Wochen benötigt – zu lang für eine rasche Reaktion im Verdachtsfall.

Initialer Schritt der Diagnostik ist immer die Mikroskopie, weil sie schnell, preiswert und im positiven Fall aussagekräftig

ist. Der Nachweis von säurefesten Stäbchen in respiratorischem Material bedeutet für TB-Patienten, dass sie ansteckend für andere sind. Neben der konventionellen Ziel-Neelsen-Färbung kommt zunehmend die empfindlichere Fluoreszenzmikroskopie zum Einsatz. Eine neuere Entwicklung ist das iLED-Mikroskop von Zeiss; es wurde speziell für Entwicklungsländer mit hohem Tuberkuloseaufkommen konzipiert, ist weitgehend wartungsfrei und kann batteriebetrieben auch im Freien eingesetzt werden.

Als zweiter Schritt der Diagnostik folgt die Kultur; sie hat die höchste Spezifität und Sensitivität und erlaubt eine weitere Differenzierung und Typisierung der angezüchteten Mykobakterien aus respiratorischen Materialien mit molekularbiologischen Verfahren (z.B. Line-Probe von Hain LifeScience). Drei negative Befunde machen eine TB sehr unwahrscheinlich, falsch positive Ergebnisse gehen fast immer auf Verwechslungen zurück, die je nach Organisationsgrad von Labor und Einsendern bis zu 3% ausmachen können. Eklatanter Nachteil der Kultur ist der erwähnte hohe Zeitbedarf, weil Mykobakterien sehr langsam wachsen.

Eine erhebliche Verbesserung der Diagnostik brachte die Einführung der Real-Time-PCR (z.B. Light Cycler oder COBAS TaqMan, Roche) mit sich, die sowohl schnell und spezifisch als auch äußerst empfindlich ist: Sie deckt noch 70 bis 80% der in der Mikroskopie falsch negativen Tuberkulosefälle der Lunge auf. Der im nebenstehenden Poster beschriebene Kassettentest auf dem GeneXpert-Gerät ist brandneu und eine echte Innovation. Ähnlich wie beim bereits früher in dieser Zeitschrift vorgestellten MRSA-Test füllt man die vorbereitete Probe lediglich in eine Plastikkartusche ein, stellt sie in das RT-PCR-Gerät und erhält nach gut einer Stunde als Ergebnis „positiv“ oder „negativ“ und zusätzlich auch noch „inhibiert“.

Eigene Erfahrungen haben gezeigt: Es klingt nicht nur einfach, sondern ist es auch. Ein Hindernis für die Einführung könnte – wie bei den meisten neuartigen Verfahren – allenfalls der höhere Preis sein. Alternative Verfahren bedienen sich der NASBA Technik (z.B. Hain Lifescience). Hauptindikationen für den Einsatz dieser molekularbiologischen Verfahren sind schwere, bedrohliche Verläufe wie Miliar-TB oder Sepsis, schwer zu beschaffendes oder unwiederbringliches Untersuchungsgut wie z.B. OP-Material sowie sozial dringliche Fälle, z.B. Mütter kleiner Kinder.

Der früher standardmäßig eingesetzte Tuberkulin-Hauttest ist heute weitgehend obsolet. Er wurde von den sogenannten Interferon Gamma Release Assays (IGRA: T-SPOT-TB oder QuantiFERON Gold) abgelöst, die seit 2004 auf dem Markt sind. Sie dienen der Erkennung latenter TB, z.B. nach Kontakt mit Infizierten oder vor einer immunmodulatorischen Therapie mit TNF-alpha-Blockern.

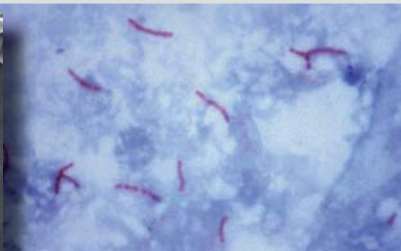
Serologische Tests schließlich sind innovativ, aber noch nicht reif für den Einsatz in der routinemäßigen TB-Diagnostik. Es gibt Schnelltests, die mit hoher Spezifität einen TB-Verdacht untermauern können. Ihre Sensitivität ist aber zu gering, um ihn auszuräumen.

Dr. Harald Hoffmann, Gauting
 harald.hoffmann@asklepios.com
 Priv.-Doz. Dr. Udo Reischl, Regensburg
 udo.reischl@klinik.uni-regensburg.de

Bedrohung von Osten. Die Tuberkulose ist viel verbreiteter als die meisten von uns annehmen (rote Gebiete) und steht unmittelbar vor unserer Haustür. Vor allem in den Jahren nach dem Fall des Eisernen Vorhangs stellte



sie eine wirkliche Bedrohung für Deutschland dar. Mit dem Rückgang der Immigrantenzahlen aus der ehemaligen Sowjetunion nimmt die Gefährdung zwar wieder ab, aber gebannt ist sie nicht: Die stäbchenförmigen Bakterien (unten links) sind extrem widerstandsfähig, was man sich bei der Ziehl-Neelsen-Färbung sogar diagnostisch zunutze macht (unten rechts: rot gefärbte säurefeste Stäbchen). Und sie entwickeln zunehmend Resistenzen gegen die wenigen Antibiotika, die bei Tuberkulose wirksam sind. Bildquelle: Wikipedia.



Dr. Heiko Hofmann, Genzyme Virotech GmbH

PCR-Test für MTB und MDR-TB

Einleitung

Etwa alle 20 Sek. stirbt ein Mensch an Tuberkulose. Einer der Gründe für diese erschreckende Statistik ist das Fehlen schneller und einfacher Testverfahren, die überall zum Einsatz kommen können, wo sie benötigt werden. Das GeneXpert-System ist eine geschlossene, automatisierte PCR-Plattform, die ohne Kulturverfahren in nur 105 Min. den M. tuberculosis Komplex (MTB) nachweist und zusätzlich auf Rifampicin-Resistenz (MDR-TB) prüft.

Dieser Test wird die MTB-Diagnostik und Therapie revolutionieren: Für ihre Patienten erwarten Ärzte deutlich verbesserte Behandlungserfolge, denn bereits beim ersten Patientenkontakt können klare Therapieentscheidungen gefällt und resistente Keime erkannt werden. Der Test bietet nahezu 100% Sicherheit für die Diagnose aus frischen Sputumproben und aufbereiteten Sedimenten. Die Testdurchführung ist mit geringem Trainingsaufwand möglich.

GeneXpert Workflow



Die Sputumprobe wird mit STB-Reagenz verflüssigt und in die Kartusche überführt, die ein komplettes „Minilabor“ enthält.

Im Gerät laufen Filtration, Ultraschallaufschluss sowie die nested RT-PCR mit 5 MTB-Sonden und einer Kontrolle B. globigii (Pfeil) ab.

Ergebnisse

Die analytische Sensitivität des Tests liegt bei 112 cfu/mL, die Spezifität bei 100% (getestet mit MTB-neg. Sputumproben). Andere Mycobakterienstämme (MOTT) sind dank der optimierten Sondauswahl leicht abgrenzbar. Mit der rpoB-Sonde werden Rifampicin-resistente Isolate ab einem Anteil > 0,5% sicher erfasst. Die klinische Sensitivität des Xpert MTB/RIF-Tests bei Patienten, die als ausstrichnegativ,

kulturpositiv (S-C+) klassifiziert sind, liegt bei 90,9% (70/77) und bei denjenigen, die als ausstrichpositiv, kulturpositiv klassifiziert sind, bei 100% (275/275).

Die klinische Spezifität der ausstrichnegativen, kulturnegativen Patienten liegt bei 98,3%. Die Xpert MTB/RIF-Sensitivität für die Rifampicin-Resistenz liegt bei 96,7%, während die Spezifität 98,6% beträgt (Rifampicin-sensibel).

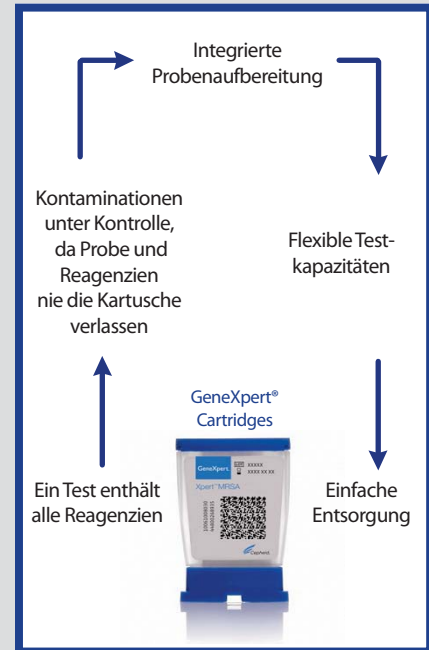
Zusammenfassung und Ausblick

Die hohe Anzahl von Neuerkrankungen an TB und die rasante Entwicklung von resistenten Bakterienstämmen erfordern dringend eine sichere und schnelle Identifizierung der Tuberkulose. Der Xpert verfügt über einzigartige technische Eigenschaften, diese Aufgabe mit Hilfe der Molekulardiagnostik zu lösen. Zuverlässige Testergebnisse in jeder klinischen Situation ermöglichen zeitnahes Therapiemanagement und die Eindämmung der Übertra-

gungsmöglichkeiten. Der MTB/RIF-Test ist zudem neuartig konfiguriert: Die bereits in der Testkassette enthaltenen Trockenreagenzien werden mit gebrauchsfertigen Flüssigreagenzien versetzt, was die Testprozedur um ein Vielfaches vereinfacht und die hands-on time auf etwa eine Minute reduziert. Angesichts der obigen Daten erscheint der Test als eine der wichtigsten Neuentwicklungen der Diagnostik in den letzten Jahren.

Labor in der Kartusche

Die Cepheid GeneXpert® Kartusche ist ein komplettes molekularbiologisches Minilabor für die integrierte Aufbereitung der Probe vom Aufschluss bis zur Entsorgung.



Die Vorteile auf einen Blick

- Schneller Nachweis des MTB Komplexes und der Rifampicin-Resistenz, einem Marker für MDR Stämme
- Hohe Sensitivität für die Detektion von MTB – auch in Mikroskopie negativen, kulturpositiven Proben
- Ergebnis nach zwei Stunden; Sie benötigen keine Geräte außer dem GeneXpert
- Ergebnisse zeitgleich zu klinischen Entscheidungen
- Semi-quantitative Ergebnisse
- Voll automatisiert und immer verfügbar

Quelle / Kontakt

J. Clin. Microbiol. doi:10.1128/JCM.01463-09

Dr. Heiko Hofmann
Genzyme Virotech GmbH
Löwenplatz 5
65428 Rüsselsheim
Tel. 06142/6909-14
Fax 06142/966613
dhh@virotech.de
www.virotech.de

