

Schnelle Resistenzvorhersage gegenüber TB-Medikamenten der Standard- und Nicht-Standardtherapie: Methodenevaluation zur gezielten Genomsequenzierung aus klinischem Primärmaterial

Das Auftreten von multi- (MDR) und extensiv- (XDR) resistenten *Mycobacterium tuberculosis* Komplex (MTBK) Stämmen (Definition s. Infobox rechts) stellt weltweit eine zunehmende Herausforderung für die Kontrolle der Tuberkulose (TB) dar.¹ Um für TB-PatientenInnen, die mit diesen Stämmen infiziert sind, möglichst schnell eine effektive Therapie beginnen zu können, ist eine umfangreiche Empfindlichkeitstestung essenziell.² Eine phänotypische, kulturbasierte Empfindlichkeitstestung (engl.: *phenotypic drug susceptibility testing*, pDST) benötigt allerdings bis zu sechs Wochen.³ Zudem ist die Testung für bestimmte Antituberkulotika bisher nicht ausreichend standardisiert.⁴ Molekularbiologische Verfahren zur Testung der Medikamenten-Empfindlichkeit (engl.: *molecular drug susceptibility testing* mDST), wie der GeneXpert MTB/RIF (Cepheid) oder der MTBDR^{plus}/*sl* Streifenhybridisierungstest (engl.: *line probe assays*, LPA, Hain Lifesciences) können zwar direkt aus dem primären Probenmaterial durchgeführt werden, decken aber nur eine geringe Anzahl von Resistenzmutationen ab.⁵

Im Gegensatz dazu ist es mittels Gesamtgenomsequenzierung (engl.: *whole genome sequencing*, WGS) möglich, annähernd das komplette Resistom (alle in einem Stamm vorliegenden Resistenzmarker) eines Tuberkulosebakterien-Stamms zu bestimmen.⁷ Allerdings ist die WGS-Analyse direkt aus dem Probenmaterial ohne vorherige kulturelle Anreicherung wegen der sehr geringen Mengen an Mykobakterien-DNA noch nicht unter Routinebedingungen umsetzbar.⁸

Um diese Hürde zu nehmen wurde eine Methodik entwickelt, welche die Vorteile der Polymerasekettenreaktion (PCR, Anreicherung von Erreger-DNA) und des *Next Generation Sequencing* (NGS, sequenzbasierte Mutationsanalyse) zum sogenannten *targeted NGS* (tNGS) kombiniert. Hierzu werden zu-

Update zur Definition von TB-Resistenztypen⁶

MDR-TB

TB hervorgerufen durch einen MTBK-Stamm, der resistent gegen die zwei wirksamsten Medikamente Isoniazid und Rifampicin ist.

Pre-XDR-TB

TB hervorgerufen durch einen MTBK-Stamm, der MDR ist und zusätzlich gegen ein Fluorochinolon* resistent ist.

XDR-TB

TB hervorgerufen durch einen MTBK-Stamm, der MDR ist und zusätzlich weitere Resistenzen gegenüber einem Fluorochinolon aufweist, sowie gegen mindestens ein weiteres Medikament der Gruppe A nach WHO.**

* Zu den von der WHO zurzeit empfohlenen Fluorochinolonen zur Verwendung sowohl bei der Standardtherapie als auch bei längeren Therapieregimen gehören Levofloxacin und Moxifloxacin.

** Zu der Medikamentengruppe A nach WHO gehören momentan Levofloxacin, Moxifloxacin, Bedaquilin und Linezolid. Bei einer XDR-TB liegt demnach eine MDR, sowie eine Resistenz gegenüber einem Fluorochinolon und mindestens gegenüber Bedaquilin oder Linezolid (oder beiden) vor. Die Zuordnung zur Medikamentengruppe A kann sich zukünftig ändern, mit Nennung der Gruppe A bleibt die Definition jedoch bestehen.

nächst resistenzvermittelnde Regionen aus dem MTBK-Genom (s. [Tab.1](#)) mittels einer einzigen Multiplex-PCR aus Probenmaterial amplifiziert und die PCR-Produkte (Amplifikate) anschließend auf einer NGS-Plattform sequenziert (s. [Abb.1](#)). Diese Methode deckt, je nach Verfahren, eine unterschiedliche Anzahl Resistenz-assoziiierter genomischer Regionen ab (s. [Tab.1](#)) und kann weitere Bereiche des Ge-

Antibiotikum	ABK.	Markteinführung	Wirkungsweise	Wirkungsort	Resistenzgene	Beteiligte Proteine
Isoniazid	INH	1952	bakterizid	Fettsäurebiosynthese (Zellwand)	<i>katG</i> <i>inhA</i>	Katalase-Peroxidase Enoyl-ACP-Reduktase
Rifampicin	RMP	1966	bakterizid, sterilisierend	RNS-Polymerase (Transkription)	<i>rpoB</i>	β-Untereinheit der RNS-Polymerase
Pyrazinamid	PZA	1952	bakterizid, sterilisierend	trans-Translation	<i>pncA</i>	Pyrazinamidase
Ethambutol	EMB	1961	bakteriostatisch	Stoffwechsel	<i>embB</i>	Arabinosyltransferasen
Streptomycin	SM	1944	bakterizid	Proteinbiosynthese	<i>rrs</i> <i>rpsL</i>	16S rRNS Ribosomales Protein S12
Fluorochinolone (LFX, MOX, OFX, u. a.)	FQ	1963	bakterizid	Topologie der DNS-Moleküle	<i>gyrA</i> <i>gyrB</i>	Gyrase Untereinheit A Gyrase Untereinheit B
Linezolid	LZD	2001	bakteriostatisch	Proteinbiosynthese	<i>rrl</i> <i>rplC</i>	ribosomale 50S Untereinheit Ribosomales Protein S50
Bedaquilin	BDQ	2012	bakteriostatisch	Energiestoffwechsel	<i>Rv0678</i> <i>atpE</i>	<i>Efflux pump regulator</i> ATP-Synthese
Amikacin	AMK	1957	bakterizid	Proteinbiosynthese	<i>rrs</i>	rRNS Synthese
Kanamycin	KAN	1957	bakterizid	Proteinbiosynthese	<i>eis</i> <i>rrs</i>	N-acetyltransferase rRNS Synthese
Capreomycin	CPM	1960	bakterizid	Proteinbiosynthese	<i>rrs</i> <i>tlyA</i>	rRNS Synthese Methyltransferase
Ethionamid	ETH	1956	bakterizid	Fettsäurebiosynthese (Zellwand)	<i>inhA</i> <i>ethA</i>	Enoyl-ACP-Reduktase monoxygenase
Clofazimin	CFZ	1957	bakteriostatisch	Membran Lipide	<i>Rv0678</i>	Efflux pump regulator

Tab. 1 | Gängige Antibiotika zur Behandlung der TB, ihre Wirkweisen und wichtigsten Resistenzmechanismen.

Abkürzungen: LFX – Levofloxacin; MOX – Moxifloxacin; OFX – Ofloxacin

noms, z. B. für eine Speziesidentifikation (Erreger des MTBK, nicht-tuberkulöse Mykobakterien) und auch für eine Genotypisierung (im Sinne eines Fingerabdrucks) von MTBK-Stämmen, umfassen. Ein weiterer Vorteil der tNGS-Methodik liegt in der Möglichkeit, neben schon bekannten Mutationen auch

neue Mutationen zu identifizieren, die bis jetzt noch nicht als Resistenz-vermittelnd beschrieben worden sind. Auf diese Weise können neue Resistenzmechanismen gefunden werden und die Mutationen weiter validiert und in entsprechende Datenbanken integriert werden. Dies ist besonders wichtig bei neu-

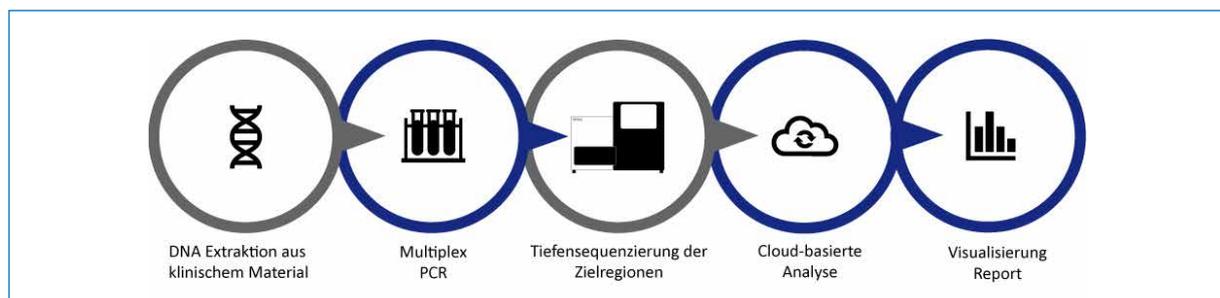


Abb. 1 | Grundlegende Schritte des tNGS Verfahrens. Zuerst wird die DNA aus dem Probenmaterial extrahiert.

Im nächsten Schritt werden mittels gezielter Vervielfältigung die zu analysierenden Zielregionen der TB-DNA angereichtert.

Diese Amplifikate werden im Anschluss mittels NGS sequenziert und mit Hilfe einer Analysesoftware prozessiert und visualisiert.

NGS – Next-Generation Sequencing; PCR- Polymerasekettenreaktion; tNGS – zielgerichtete Sequenzierung spezifischer Genomregionen

eren Medikamenten wie Bedaquilin (BDQ), da hier noch nicht alle Resistenzmechanismen bekannt sind und man schnell auf Neuentwicklungen reagieren muss.

In der hier vorgestellten Arbeit⁹ wurde die erste kommerziell verfügbare tNGS-Produktlösung für den Einsatz von tNGS in der TB-Diagnostik, der Deeplex®-MycTB Assay (Genoscreen, Lille, Frankreich), sowohl für die Analyse von DNA aus MTBK-Kulturen, als auch für die Analyse von DNA aus primärem PatientInnen-Probenmaterial evaluiert. Dazu wurde DNA von 81 MTBK-Kulturen und 50 klinischen Proben, die zwischen Januar und Dezember 2018 am Nationalen Referenzzentrum (NRZ) für Mykobakterien eingegangen sind, verwendet. Die tNGS-Ergebnisse wurden mit Ergebnissen von WGS, pDST und/oder den MTBDR_{plus/sl} LPAs verglichen.

Die tNGS PCR-Amplifikate wurden auf Illumina MiniSeq oder Illumina NextSeq 500 NGS-Instrumenten sequenziert. Die NGS-Daten wurden dann mittels einer standardisierten Bioinformatik-Pipeline, die als Cloud-Service auf einer Website zur Verfügung steht, analysiert. Die Analyse der zur Evaluation verwendeten Sequenzen der Gesamtgenome der MTBK-Stämme erfolgte ebenfalls mit einem in Borstel entwickelten, standardisierten Workflow zur Gesamtgenomanalyse.¹⁰

Für die aus den angezogenen MTBK-Stämmen extrahierte DNA wurden mittels tNGS insgesamt 466 Varianten in den 18 Resistenz-assoziierten Regionen detektiert, von denen 464 durch die WGS bestätigt werden konnten. Von diesen Varianten wurden 100 (tNGS) beziehungsweise 98 (WGS) als Resistenz-vermittelnd identifiziert. Die Übereinstimmung der Ergebnisse beider Verfahren (tNGS und WGS) liegt somit bei 99,6% für die Variantendetektion und bei 98% für die Detektion von Resistenzmutationen. Bei den zwei diskrepanten Ergebnissen handelte es sich um zwei Resistenzmutationen in *rpoB* und *embB*, die mittels tNGS in niedrigeren Frequenzen von 6,8% und 4,9% detektiert wurden.

Für 39 der 50 klinischen Proben konnte mittels tNGS eine komplette Resistenzvorhersage erstellt werden (s. Tab. 2). Neben allen mikroskopisch positiven Proben konnte eine komplette Resistenzvor-

hersage für fünf der sieben (71,4 %) mikroskopisch schwach positiven (Mikroskopieergebnis „+/-“) und zwei der neun (22,2 %) mikroskopisch negativen Proben erstellt werden.

Insgesamt wurden in den klinischen Proben 45 Resistenzmutationen detektiert. Von diesen Varianten waren 26 sogenannte „fixierte Varianten“ (Anteil in der analysierten Probe > 97 %), bei fünf lag der geschätzte Anteil in der Probe zwischen 50 und 97 % und 14 waren niederfrequente Mutationen (Anteil in der Probe < 50 %).

Für Genomregionen, die auch von den routinemäßig durchgeführten MTBDR_{plus/sl} LPAs abgedeckt werden, wurden insgesamt 16 fixierte Resistenzmutationen mittels tNGS detektiert, welche alle durch die LPA-Testung bestätigt wurden. Allerdings wurden sechs niederfrequente Mutationen mit Frequenzen zwischen 5,5 und 28 % mittels tNGS detektiert, die mit dem LPA nicht detektiert wurden, obwohl laut vorheriger Veröffentlichungen das Detektionslimit des LPAs bei ≥ 5 % liegt.¹¹

Im Vergleich zur pDST konnte für die Standardmedikamente eine Übereinstimmung von 94,9 % für Isoniazid (INH) und 97,4 % für Rifampicin (RIF), Pyrazinamid (PZA) und Ethambutol (EMB) erreicht werden (s. Tab. 2). Bei den Medikamenten der Nicht-Standardtherapie wurde eine Übereinstimmung von 66,7 % für Fluorochinolone (FQ), von 75 % für Prothionamid (PTH) und von 100 % für Aminoglykoside, Linezolid (LZD) und Bedaquilin (BDQ) ermittelt (s. Tab. 2).

Unterschiede des tNGS im Vergleich zum pDST konnten bei Mutationen beobachtet werden, die für ein niedriges Resistenzniveau bekannt sind. Hier sind die pDST Methoden weniger zuverlässig und zeigen häufig variable Ergebnisse. Außerdem konnte bei einer phänotypisch INH-resistenten Probe und zwei PTH/ETH-resistenten Proben keine bekannte Resistenz-vermittelnde Variante detektiert werden. Bei einer Probe wurde die seltene *embB* G406S Mutation detektiert, welche mit einer EMB-Resistenz assoziiert ist, während die Probe mittels pDST empfindlich gegenüber EMB getestet wurde (s. Tab. 2).

Methode		tNGS			pDST			LPA		
Medikament	Genlokus	R	R (niederfrequente Mutation)	S	R	S	Übereinstimmung	R	S	Übereinstimmung
RIF	<i>rpoB</i>	8	0	31	7 ¹	32 ¹	38/39 ¹ (97,4%)	8 ¹⁰	31	39/39 (100%)
INH	<i>katG/fabG1/ahpC/inhA</i>	6	2	31	8 ²	31 ²	37/39 ² (94,9%)	4 ¹¹ 3	34 34	37/38 (97,4%) (<i>katG</i>) 37/37 (100%) (<i>inhA</i>)
PZA	<i>pncA</i>	4	1	34	4	35 ³	38/39 ³ (97,4%)	–	–	–
EMB	<i>embB</i>	4	0	35	3 ⁴	36 ⁴	38/39 ⁴ (97,4%)	1	2	3/3 (100%)
SM	<i>gidB/rpsL/rrs</i>	5	2	32	nd	nd	nd	–	–	–
FQ	<i>gyrA/gyrB</i>	0	4	35	0 ⁵	12 ⁵	8/12 ⁵ (66,7%)	0 ¹² 0	39 39	35/39 (89,7%) (<i>gyrA</i>) 39/39 (100%) (<i>gyrB</i>)
ETH/ PTH	<i>inhA/fabG1/inhA</i>	3	0	36	5 ⁶	3 ⁶	6/8 ⁷ (75,0%)	3	34	37/37 (100%)
KAN only	<i>eis</i>	1	0	38	0 ⁷	4 ⁷	4/4 ⁸ (100%)	–	–	–
KAN AMI CAP	<i>rrs</i>	1	0	38	1 ⁸	7 ⁸	8/8 ⁸ (100%)	1	38	39/39 (100%)
CAP only	<i>tlyA</i>	0	0	39	0	5	5/5 ⁹ (100%)	–	–	–
LZD	<i>rplC/rrl</i>	0	0	39	0	2	2/2 (100%)	–	–	–
BDQ CFZ	<i>Rv0678</i>	0	0	39	0	2	2/2 (100%)	–	–	–

Tab. 2 | Ergebnisse des *targeted* NGS für 39 klinische Proben im Vergleich zur phänotypischen Testung und zu den Ergebnissen der MTBDR*plus* und MTBDR*sl* Streifenhybridisierungstests.

tNGS, *targeted next generation sequencing*; pDST, *phenotypic drug susceptibility testing* (phänotypische Empfindlichkeitsprüfung; LPA, *line probe assay* (Streifenhybridisierungstest); RIF, Rifampicin; INH, Isoniazid; PZA, Pyrazinamid; EMB, Ethambutol; SM, Streptomycin; FQ, Fluorochinolone; ETH, Ethionamid; PTH, Prothionamid; KAN, Kanamycin; AMI, Amikacin; CAP, Capreomycin; LZD, Linezolid; BDQ, Bedaquilin; CFZ, Clofazimin; R, Anzahl resistenter Proben; S, Anzahl sensibler, empfindlicher Proben; nd, nicht durchgeführt; Testung für Medikamente der Nicht-Standardtherapie wurde nur für MDR Fälle durchgeführt. pDST wurde mit dem BACTEC MGIT960 System durchgeführt.

1 Eine Probe mit der umstrittenen Resistenzmutation *rpoB* H445D (99,7%) wurde mittels pDST RIF S getestet.¹³ | **2** Eine Probe, in der keine Mutation detektiert werden konnte, wurde mittels pDST INH R getestet; eine Probe mit einer niederfrequenten Mutation *katG* S315G (5,5%), die ein geringes INH Resistenzniveau hat, wurde mittels pDST INH S getestet.¹⁴ | **3** Eine Probe mit niederfrequenter PZA Resistenzmutation *pncA* Q10P (10,6%) wurde mittels pDST PZA S getestet. | **4** Eine Probe mit der Resistenz-assoziierten Mutation *embB* G406S (99,7%) wurde mittels pDST EMB S getestet. | **5** Vier Proben mit der niederfrequenten Mutation *gyrA* A90V (10,5%, 19,3%, 25,9%, 28%), die ein geringes Moxifloxacin Resistenzniveau vermittelt, wurden mittels pDST Moxifloxacin S getestet;¹⁴ acht Proben ohne Mutation wurden korrekterweise mittels pDST FQ S getestet. | **6** Zwei Proben ohne Resistenz-assoziierte Mutation wurden mittels pDST PTH R getestet; drei weitere Proben mit solchen Mutationen und drei ohne wurden allerdings übereinstimmend PTH R beziehungsweise PTH S mittels pDST getestet. | **7** Vier Proben ohne Mutationen wurden mittels pDST ebenfalls KAN S getestet; die Probe mit einer KAN Resistenzmutation wurde nicht getestet. | **8** Eine Probe mit Resistenz-assoziiierter Mutation und sieben ohne so eine Mutation wurden mittels pDST übereinstimmend als KAN, AMI und/oder CAP R beziehungsweise S getestet. | **9** Fünf Proben ohne CAP Resistenzmutation wurden übereinstimmend mittels pDST als CAP S getestet. | **10** *rpoB* S450L (27,8%; in Kombination mit *rpoB* H445D bei 75,3% in derselben Probe) wurde mittels Hain MTBDR*plus* nicht detektiert. | **11** *katG* S315G (5,5%) wurde mittels Hain MTBDR*plus* nicht detektiert. | **12** Niederfrequente *gyrA* A90V Varianten (10,5%, 19,3%, 25,9% in Kombination mit einer niederfrequenten *gyrA* D94G Variante mit 8,3% in derselben Probe, 28%) wurden mittels Hain MTBDR*sl* nicht detektiert.

Die größere Analysebandbreite, die auch Antibiotikaresistenz-assoziierte Zielregionen für alle Medikamente der Weltgesundheitsorganisation-(WHO)-Gruppen A und B und zusätzlich größere Genabschnitte für *rpoB*, *katG*, *embB* und *rrs* abdeckt, stellt einen wesentlichen Vorteil von tNGS gegenüber herkömmlichen mDST-Verfahren dar. Ein gutes Beispiel dafür ist eine kürzlich erschienene Studie aus Südafrika, bei der ein Ausbruchsklon mit einer RIF-Resistenz-vermittelnden Mutation entdeckt wurde (*rpoB* I491F). Diese Mutation liegt außerhalb der üblichen Resistenz-vermittelnden Region und wurde von den herkömmlichen mDST-Verfahren daher nicht detektiert.⁵ Außerdem bietet tNGS die

einzige Möglichkeit für wichtige Medikamente der MDR-TB-Therapie, wie BDQ oder Clofazimin (CFZ), eine schnelle molekularbiologische Resistenzvorhersage aus Primärmaterial zu erstellen.⁹

Zusammenfassend zeigen unsere Ergebnisse, dass tNGS ein robustes Verfahren zur schnellen Resistenztestung in der TB-Diagnostik darstellt und das Potenzial hat, Resistenzen für einen großen Teil der Proben zuverlässig vorherzusagen. Besonders wenn der Assay direkt für die Untersuchung von klinischem Primärmaterial, z. B. von mikroskopisch positivem Sputum, eingesetzt wird, kann die Zeit bis zum Vorliegen eines umfassenden Resistenzprofils

vor allem bei MDR- und XDR-MTBK-Stämmen deutlich verkürzt werden. Die breite Abdeckung von Resistenzgenen auch für wichtige MDR-TB-Medikamente wie BDQ und LZD sowie die Möglichkeit, resistente Erregersubpopulationen bis zu einem Anteil von 3 % der Gesamtpopulation nachzuweisen, sind wichtige Vorteile von tNGS im Vergleich zu anderen mDST-Verfahren.¹²

Zurzeit werden mehrere Studien zur Durchführbarkeit von tNGS in der deutschen Routinediagnos-

tik am NRZ für Mykobakterien durchgeführt. Für eine genauere Beurteilung der Vor- und Nachteile von tNGS, sowie der optimalen Anwendungsbedingungen sind allerdings noch weitere Studien erforderlich, auch um den Herausforderungen bei der Implementierung von tNGS in Ländern mit hoher TB-Inzidenz besser begegnen zu können. Weitere Details können in der Originalarbeit,⁹ die im *European Respiratory Journal* erschienen ist, nachgelesen werden.

Literatur

- 1 World Health Organization. [Global tuberculosis report 2020](#).
- 2 Dheda K, Gumbo T, Maartens G, Dooley KE, McNerney R, Murray M, Furin J, Nardell EA, London L, Lessem E, Theron G, van Helden P, Niemann S, Merker M, Dowdy D, Van Rie A, Siu GKH, Pasipanodya JG, Rodrigues C, Clark TG, Sirgel FA, Esmail A, Lin H-H, Atre SR, Schaaf HS, Chang KC, Lange C, Nahid P, Udwadia ZF, Horsburgh CR, Churchyard GJ, Menzies D, Hesselning AC, Nuermberger E, McIlleron H, Fennelly KP, Goemaere E, Jaramillo E, Low M, Jara CM, Padayatchi N, Warren RM: [The epidemiology, pathogenesis, transmission, diagnosis, and management of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and incurable tuberculosis](#). *The Lancet Respiratory Medicine*, 2017. 5:291-360
- 3 U. Köser C, M. Bryant J, Becq J, Török ME, Ellington MJ, Marti-Renom MA, Carmichael AJ, Parkhill J, Smith GP, Peacock SJ: [Whole-Genome Sequencing for Rapid Susceptibility Testing of *M. tuberculosis*](#). *N Engl J Med*, 2013. 369
- 4 Andres S, Merker M, Heyckendorf J, Kalsdorf B, Rumetshofer R, Indra A, Hofmann-Thiel S, Hoffmann H, Lange C, Niemann S, Maurer FP: [Bedaquiline-Resistant Tuberculosis: Dark Clouds on the Horizon](#). *Am J Respir Crit Care Med*, 2020. 201:1564-1568
- 5 Makhado NA, Matabane E, Faccin M, Pinçon C, Jouet A, Boutachkout F, Goeminne L, Gaudin C, Maphalala G, Beckert P, Niemann S, Delvenne J-C, Delmée M, Razwiedani L, Nchabeleng M, Supply P, Jong BC de, André E: [Outbreak of multidrug-resistant tuberculosis in South Africa undetected by WHO-endorsed commercial tests: an observational study](#). *The Lancet Infectious Diseases*, 2018. 18:1350-1359
- 6 World Health Organization: [Meeting report of the WHO expert consultation on the definition of extensively drug-resistant tuberculosis](#). 2021. Geneva, Switzerland
- 7 Meehan CJ, Goig GA, Kohl TA, Verboven L, Dippenaar A, Ezewudo M, Farhat MR, Guthrie JL, Laukens K, Miotto P, Ofori-Anyinam B, Dreyer V, Supply P, Suresh A, Utpatel C, van Soolingen D, Zhou Y, Ashton PM, Brites D, Cabibbe AM, de Jong BC, de Vos M, Menardo F, Gagneux S, Gao Q, Heupink TH, Liu Q, Loiseau C, Rigouts L, Rodwell TC, Tagliani E, Walker TM, Warren RM, Zhao Y, Zignol M, Schito M, Gardy J, Cirillo DM, Niemann S, Comas I, Van Rie A: [Whole genome sequencing of *Mycobacterium tuberculosis*: current standards and open issues](#). 9. *Nature Reviews Microbiology*, 2019. 17:533-545
- 8 Brown AC, Bryant JM, Einer-Jensen K, Holdstock J, Houniet DT, Chan JZM, Depledge DP, Nikolayevskyy V, Broda A, Stone MJ, Christiansen MT, Williams R, McAndrew MB, Tutill H, Brown J, Melzer M, Rosmarin C, McHugh TD, Shorten RJ, Drobniewski F, Speight G, Breuer J: [Rapid Whole-Genome Sequencing of *Mycobacterium tuberculosis* Isolates Directly from Clinical Samples](#). *J Clin Microbiol*, 2015. 53:2230-2237
- 9 Feuerriegel S, Kohl TA, Utpatel C, Andres S, Maurer FP, Heyckendorf J, Jouet A, Badalato N, Foray L,

Kamara RF, Conteh OS, Supply P, Niemann S: Rapid genomic first- and second-line drug resistance prediction from clinical Mycobacterium tuberculosis specimens using Deeplex®-MycTB. Eur Respir J, 2020. 2001796

- 10 Kohl TA, Utpatel C, Schleusener V, De Filippo MR, Beckert P, Cirillo DM, Niemann S: MTBseq: a comprehensive pipeline for whole genome sequence analysis of Mycobacterium tuberculosis complex isolates. PeerJ, 2018. 6:e5895
- 11 Rigouts L, Miotto P, Schats M, Lempens P, Cabibbe AM, Galbiati S, Lampasona V, de Rijk P, Cirillo DM, de Jong BC: Fluoroquinolone heteroresistance in Mycobacterium tuberculosis: detection by genotypic and phenotypic assays in experimentally mixed populations. 1. Scientific Reports, 2019. 9:11760
- 12 Feuerriegel S, Koser CU, Niemann S: Phylogenetic polymorphisms in antibiotic resistance genes of the Mycobacterium tuberculosis complex. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2014. 69:1205-1210
- 13 Miotto P, Tessema B, Tagliani E, Chindelevitch L, Starks AM, Emerson C, Hanna D, Kim PS, Liwski R, Zignol M, Gilpin C, Niemann S, Denkinge CM, Fleming J, Warren RM, Crook D, Posey J, Gagneux S, Hoffner S, Rodrigues C, Comas I, Engelthaler DM, Murray M, Alland D, Rigouts L, Lange C, Dheda K, Hasan R, Ranganathan UDK, McNerney R, Ezewudo M, Cirillo DM, Schito M, Köser CU, Rodwell TC: A standardised method for interpreting the association between mutations and phenotypic drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. Eur Respir J, 2017. 50
- 14 Kandler JL, Mercante AD, Dalton TL, Ezewudo MN, Cowan LS, Burns SP, Metchock B, Global PETTS Investigators, Cegielski P, Posey JE: Validation of Novel Mycobacterium tuberculosis Isoniazid Resistance Mutations Not Detectable by Common Molecular Tests. Antimicrob Agents Chemother, 2018. 62

Original-Publikation

S. Feuerriegel, T. A. Kohl, C. Utpatel, S. Andres, F.P. Maurer, J. Heyckendorf, A. Jouet, N. Badalato, L. Foray, R. Fouad Kamara, O. S. Conteh, P. Supply, S. Niemann: Rapid genomic first- and second-line drug resistance prediction from clinical Mycobacterium tuberculosis specimens using Deeplex®-MycTB. European Respiratory Journal, 2021 Jan 5;57(1):2001796. doi: 10.1183/13993003.01796-2020.

Autorinnen und Autoren

^{a,b,c,#} Dr. Silke Feuerriegel | ^{a,b,c,#} Dr. Viola Dreyer | ^b Dr. Sönke Andres | ^{a,b,c} Dr. Thomas A. Kohl | ^{a,b,c} Dr. Christian Utpatel | ^d PD Dr. Jan Heyckendorf | ^{b,e,\$} Prof. Dr. Florian P. Maurer | ^{a,b,c,\$} Prof. Dr. Stefan Niemann

- ^a) Molekulare und Experimentelle Mykobakteriologie, Forschungszentrum Borstel Leibniz Lungenzentrum, Borstel
 - ^b) Nationales Referenzzentrum für Mykobakterien, Forschungszentrum Borstel Leibniz Lungenzentrum, Borstel
 - ^c) Deutsches Zentrum für Infektionsforschung, Standort Hamburg – Lübeck – Borstel – Riems, Borstel
 - ^d) Klinische Infektiologie, Forschungszentrum Borstel Leibniz Lungenzentrum, Borstel
 - ^e) Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg
- ^{#, \$}) gleichberechtigte Autorenschaft

Korrespondenz: sniemann@fz-borstel.de

Vorgeschlagene Zitierweise

Feuerriegel S, Dreyer V, Andres S, Kohl TA, Utpatel C, Heyckendorf J, Maurer FP, Niemann S: Schnelle Vorhersage von Resistenzen gegenüber Tuberkulosemedikamenten der Standard- und der Nicht-Standardtherapie: Evaluation einer Methode zur gezielten Sequenzierung bestimmter Genombereiche aus klinischem Primärmaterial

Epid Bull 2021;11:23-28 | DOI 10.25646/8075

Interessenkonflikt

Die Autorinnen und Autoren erklären, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Danksagung

Wir danken Tanja Niemann, Vanessa Mohr und Fenja Boysen, Molekulare und Experimentelle Mykobakteriologie, Forschungszentrum Borstel, für hervorragende technische Assistenz sowie Lynda Foray, Rashidatu Kamara und Ousman Conteh, Nationales Tuberkulose Kontrollprogramm, Freetown, Sierra Leone, für die Bereitstellung von Sputumproben.