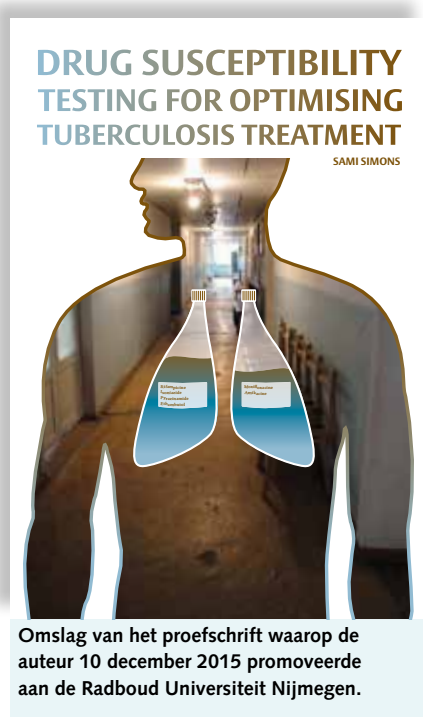


Betere behandeling van resistente tuberculose door resistentiebepaling

De auteur promoveerde december vorig jaar op 'Drug susceptibility testing for optimising tuberculosis treatment'.

Hij keek naar verschillende moleculaire methoden om resistente tuberculose vast te stellen. Ook onderzocht hij medicijnen die voor andere ziekten gebruikt worden op werkzaamheid tegen multiresistente tuberculose.



De opkomst van multiresistente tuberculose vormt een wereldwijde bedreiging voor de bestrijding van tuberculose. Resistentiebepalingen zijn essentieel om de juiste therapie te bepalen. Welke resistentiebepalingen het beste gebruikt kunnen worden, hangt af van het resistentieniveau in de populatie, de patiëntselectie en het gezondheidszorgsysteem. Daarnaast moeten de betrouwbaarheid en validiteit van de verschillende resistentiemethoden, onder praktijkomstandigheden en in verschillende epidemiologische settings, goed ingeschat worden.

Resistentiebepalingen

Resistentiebepalingen worden traditioneel verricht op vaste media, zoals een Löwenstein-Jensen medium. Semiautomatische systemen op basis van vloeibare kweekmethoden, zoals het 'Mycobacteria Growth Indicator Tube' (MGIT) 960 systeem, hebben de diagnostiek van resistentie versneld van maanden naar weken. Helaas is diagnostiek via deze vloeibare kweekmethoden in de meeste settings nog niet snel genoeg. Hiervoor zullen moleculaire technieken noodzakelijk zijn. Deze bestaan uit het bepalen van specifieke mutaties in het genoom van *M. tuberculosis* die zijn geassocieerd met resistentie. Voorbeelden hiervan zijn mutaties in het *rpoB*-gen, die zijn geassocieerd met resistentie tegen

rifampicine, en mutaties in het *pncA*-gen die coderen voor het enzym pyrazinamidase, essentieel voor de activiteit van pyrazinamide.

Bepalen pyrazinamide-resistentie

Pyrazinamide is een belangrijk eerstelijns tbc-medicijn. De diagnostiek naar pyrazinamide-resistentie wordt bemoeilijkt door een hoog percentage fout-positieve uitslagen in de fenotypische resistentiemethoden. We hebben een algoritme beschreven voor het bepalen van pyrazinamide-resistentie op basis van een combinatie van moleculaire en fenotypische methoden.

Onze hypothese was dat mutaties in het *pncA*-gen konden voorspellen of een fenotypische kweekuitslag (MGIT 960) fout-positief of terecht-positief zou zijn. Dit hebben we onderzocht in 1.650 *M. tuberculosis*-isolaten die tussen 2008 en 2009 naar het RIVM waren gestuurd voor resistentiebepaling. In 69 van de 1.650 isolaten werd resistentie tegen pyrazinamide waargenomen na een eerste MGIT-analyse. Van de 69 bleken er echter bij hernieuwde analyse 47 toch gevoelig te zijn voor pyrazinamide (68% fout-positieven). De sensitiviteit van een *pncA*-mutatie voor het bepalen van een terecht-positieve pyrazinamide-resistente MGIT-uitslag was 73 procent en de specificiteit was 100 procent. De positief voorspellende waarde was 100 procent

	MTBDR _{plus}		MTBDR _{sl}		
resistentie profiel	rifampicine	isoniazide	ethambutol	amikacine	moxifloxacine
moleculaire target	rpoB	inhA of katG	embB	rrs	gyrA
sensitiviteit	100%	88%	62%	86%	100%
specificiteit	99%	100%	71%	99%	99%
PVW	80%	100%	58%	86%	83%
NVW	100%	98%	74%	99%	100%

DIAGNOSTISCHE ACCURAATHEID VAN DE MTBDR_{PLUS}- EN MTBDR_{SL}-TEST VOOR FENOTYPISCHE GEVOELIGHEIDSBEPALINGEN IN NEDERLAND

PVW=positief voorspellende waarde
NVW=negatief voorspellende waarde

en de negatief voorspellende waarde was 89 procent. We concluderen dat *pncA*-mutaties resistentie tegen pyrazinamide nauwkeurig kunnen voorspellen en we adviseren om een *pncA*-mutatieanalyse in te zetten in elk *M. tuberculosis*-isolaat met een eerste pyrazinamide-resistente MGIT-uitslag.

Het opsporen van pyrazinamide-resistentie gebeurt in laagprevalentie landen voornamelijk met het vloeibare kweeksystemen, zoals de MGIT 960. Snellere, moleculaire screeningsmethoden worden bij voorkeur gebruikt in landen met een hoge prevalentie voor multi-resistente tuberculose. We hebben een dergelijk moleculair algoritme ontwikkeld waarmee pyrazinamide-resistente multiresistente *M. tuberculosis* opgespoord kan worden.

Onze hypothese was dat een mutatie in zowel het *rpoB*- als het *pncA*-gen voorspellend zou zijn voor een pyrazinamideresistente, multi-resistente *M. tuberculosis*-stam. Om dit te onderzoeken hebben we het *pncA*-gen gesequencet van 83 *M. tuberculosis*-isolaten met een *rpoB*-mutatie. Deze waren tussen 2007 en 2011 ingestuurd naar het RIVM.

De moleculaire uitslag werd vergeleken met fenotypische resistentiebepalingen tegen rifampicine, isoniazide en pyrazinamide. Pyrazinamide-resistente multiresistente tuberculose werd gezien in 31 isolaten (48%). De sensitiviteit van de moleculaire analyse voor de detectie van pyrazinamideresistente multi-resistente *M. tuberculosis* was 97 procent, de specificiteit was 94 procent, de positief voorspellende waarde was 91 procent en de negatief voorspellende waarde was 98 procent. Pyrazinamide-resistente multiresistente *M. tuberculosis* kan dus nauwkeurig worden bepaald met moleculaire technieken. We adviseren dan ook een *pncA*-mutatieanalyse uit te voeren in elke isolaat met een *rpoB*-mutatie.

Resistentie tegen tweedelijns tbc-medicijnen

Er zijn verschillende technieken beschikbaar voor het bepalen van resistentie tegen tweedelijns tbc-medicatie. We hebben in een van de studies meerdere moleculaire en fenotypische technieken met elkaar vergeleken. De resultaten van de verschillende technieken kwamen volledig overeen voor amikacine, capreomycine, moxifloxacine, rifabutin, linezolid en clofazimine. Voor prothionamide zou een onderscheid gemaakt moeten worden tussen gevoelige, intermediaire en resistente stammen. Op basis van deze resultaten hebben we verschillende nieuwe breekpuntconcentraties kunnen voorstellen voor het MGIT 960 systeem.

Snelle moleculaire screening naar resistentie in Nederland

De meeste studies naar de effectiviteit van moleculaire screeningsmethodes voor het bepalen van resistentie, zoals de MTBDR_{plus}- en

voor het bepalen van resistentie tegen eerste- en tweedelijns tbc-medicatie.

De resultaten in de tabel hierboven laten zien dat zowel de MTBDR_{plus}- als de MTBDR_{sl}-testen gebruikt kunnen worden voor de snelle detectie van resistentie tegen eerste- en tweedelijns tbc-medicatie. De hoge negatief voorspellende waarde suggereert dat deze testen bij voorkeur ingezet moeten worden om resistentie uit te sluiten in landen met een lage prevalentie van resistentie, zoals Nederland.

Hergebruiken bestaande medicatie

Het hergebruiken van bestaande medicatie als tbc-medicijnen is een alternatieve strategie voor medicijnontwikkeling. Voorbeelden van zulke hergebruikte tbc-medicijnen zijn linezolid en moxifloxacine, die aanvankelijk ontwikkeld waren voor andere infectieziekten.

Een van onze studies toonde het potentieel aan van phenothiazines, die effluxpomp kunnen blokkeren in zowel mycobacteriën als macrofagen, en SILA 421. Mogelijkheden tot optimalisatie van deze middelen liggen op het gebied van 'drug engineering'. Deze effluxpomp-remmers zouden ook ingezet kunnen worden om de gevoeligheid voor andere tbc-medicatie te verhogen.

Ook andere geneesmiddelen zoals fusidinezuur, nitrofurantoin, co-trimoxazol, mefloquine, amoxicilline met clavulaanzuur en meropenem toonden enige antimycobacteriële activiteit. De uitkomsten van deze studie suggereren dat er nog mogelijkheden zijn deze medicijnen, of een structuuranaaloo, te herpositioneren als tbc-medicatie. Bovendien vraagt dit om een herwaardering van andere medicijnklassen als potentiële tbc-medicijnen. ■

**HERGEBRUIK VAN BESTAANDE
MEDICIJNEN ALS TBC-MEDICATIE
IS EEN ALTERNATIEVE STRATEGIE**

de MTBDR_{sl}-test, zijn verricht in landen met een hoge prevalentie voor resistentie. De bruikbaarheid van deze testen in landen met een lage prevalentie, zoals Nederland, is niet goed onderzocht. We hebben in dit proefschrift de nauwkeurigheid van de MTBDR_{plus}- en de MTBDR_{sl}-test bepaald in respectievelijk 2.649 en 74 klinische isolaten die naar het RIVM waren ingezonden (2007-2012)