



Verein für **medizinische Qualitätskontrolle**
Association **pour le contrôle de Qualité medical**
Associazione **per il controllo di qualità medico**

Kommentar zu den Ringversuchen B39, B40 und B41 – Nachweis von Mykobakterien 2025-3 und 2025-4

Ringversuch B39 – Mikroskopie

Viermal pro Jahr werden zwei hitzefixierte Objektträger für den Nachweis säurefester Stäbchen verschickt. Die Objektträger können mit der Ziehl-Neelsen-Färbung, einer Fluoreszenzfärbung (z.B. Auramin) oder einer anderen Färbung für säurefeste Stäbchen gefärbt werden. Die Präparate können zuerst mit einer Fluoreszenzfärbung gescreent werden und anschliessend nach Ziehl-Neelsen umgefärbt werden.

Die Mikroskopie erlaubt einen schnellen, aber wenig sensitiven Nachweis von Mykobakterien im Patientenmaterial. Sie ermöglicht keine Unterscheidung zwischen *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) und nicht-tuberkulösen Mykobakterien (NTM). Der mikroskopische Nachweis von säurefesten Stäbchen ist heute v.a. für die Therapiekontrolle (MTB und NTM) und im Zusammenhang mit Umgebungsabklärungen bei Tuberkulose von Bedeutung.

Mit Ringversuch 2025-3 wurden zwei positive Proben (A) und (B) und mit Ringversuch 2025-4 eine negative Probe (A) und eine positive Probe (B) verschickt. Die positiven Proben enthielten nicht-tuberkulöse Mykobakterien. Die Beurteilung der Präparate bereitete allgemein keine Schwierigkeiten. Die Proben wurden von allen 24 Teilnehmenden korrekt beurteilt.

Ringversuch B40 – Kultur, Identifikation und Resistenztestung MTB

Der Ringversuch B40 beinhaltet artifizielle respiratorische Materialien zur kulturellen Anzucht von Mykobakterien mit anschliessender Identifikation. Bei kulturellem Nachweis von *M. tuberculosis*-Komplex kann eine phänotypische und / oder genotypische Resistenztestung für die Erstlinien-Antibiotika Isoniazid, Rifampicin, Ethambutol und Pyrazinamid durchgeführt werden. Zweimal pro Jahr werden vier Proben verschickt.

Probe 2025-3 B40-A Mykobakterien nicht nachweisbar

Probe 2025-3 B40-B *M. bovis*, natürlicherweise Pyrazinamid-resistent (*pncA*, H57D)

Probe 2025-3 B40-C *M. tuberculosis*, pansensibel

Probe 2025-3 B40-D *M. tuberculosis*, Isoniazid-Monoresistenz, *katG*-Mutation (S315T), High-Level-Isoniazid-Resistenz

Zwölf Laboratorien führten eine kulturelle Nachweisuntersuchung auf Mykobakterien durch, sieben Laboratorien führten zusätzlich eine genotypische und/oder phänotypische Resistenztestung für *M. tuberculosis* durch. Der Ringversuch verursachte im Allgemeinen keine Probleme. Ein Laboratorium identifizierte Probe B fälschlicherweise als *M. bovis* BCG.

Testung von Pyrazinamid

Pyrazinamid-Resistenz ist abgesehen von *M. bovis*, *M. bovis* BCG und multiresistenten (MDR) *M. tuberculosis* sehr selten. Die Differenzierung von *M. bovis* und *M. bovis* BCG ist deshalb essentiell. BD hat im Juni 2025 eine Lieferunterbrechung des BD BACTEC MGIT 960 PZA Kits und der BD BACTEC MGIT 960 PZA Röhrchen angekündigt. Nun zeichnet sich jedoch ab, dass das PZA-Kit ab 2026 wieder verfügbar sein wird. Als Alternative zur phänotypische Testung steht primär die molekulare Resistenztestung zur Verfügung. Wir empfehlen mindestens eine Sequenzanalyse des *pncA*-Gens durchzuführen.

Ringversuch B41 – Identifikation NTM

Der Ringversuch B41 ermöglicht die Überprüfung der Identifikation nicht-tuberkulöser Mykobakterien (NTM). Zweimal pro Jahr werden vier NTM-Kulturen verschickt. NTM unterscheiden sich in ihrer Pathogenität und Resistenz. Die Identifikation von NTM auf Speziesebene ist deshalb essenziell.

Mykobakterien-Taxonomie: Das Genus *Mycobacterium*, welches mehr als 200 Spezies umfasst, wurde kürzlich in fünf Genera aufgeteilt (Gupta, 2018, Front Microbiol). Aus taxonomischer Sicht mag diese neue Klassifizierung begründet sein, sie kann aber in der klinischen Mikrobiologie zu Verwirrung führen und damit zur Gefahr für Patienten werden. Nach den taxonomischen Regeln dürfen die neue und die alte Nomenklatur nebeneinander verwendet werden. Aktuell wird deshalb für die klinische Mikrobiologie empfohlen, die herkömmliche Taxonomie zu verwenden (Tortoli, 2019, Eur Resp J).

Probe 2025-3 B41-A *Mycobacterium chelonae*

Probe 2025-3 B41-B *Mycobacterium avium*

Probe 2025-3 B41-C *Mycobacterium persicum* (früher *M. kansasii*)

Probe 2025-3 B41-D *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus*

Die Identifikation der NTM bereitete allgemein keine Probleme. Es haben acht Labore am Ringversuch teilgenommen.

Mycobacterium chelonae/abscessus-Komplex

Der *M. chelonae/abscessus*-Komplex (MABC) gehört zu den schnell wachsenden Mykobakterien und umfasst insbesondere die Spezies *M. abscessus* subsp. *abscessus*, *M. abscessus* subsp. *massiliense*, *M. abscessus* subsp. *boletii* und *M. chelonae*. MABC können bei Patienten mit Lungenschädigung (Bronchiektasen, Cystische Fibrose) chronische Lungenerkrankungen verursachen und sind darüber hinaus bekannt als Erreger von Haut- und Weichteilinfektionen nach Traumata oder chirurgischen Eingriffen. Mittels alleiniger 16S rRNA-Sequenzierung können die Spezies des MABC nicht unterschieden werden. Die Identifizierung erfolgt über die *rpoB*-Sequenzierung sowie über die Sequenzierung des *erm(41)*-Gens oder Line Probe Assays (LPA).

Probe 2025-3 B41-A enthielt *M. chelonae*. Dieses ist charakterisiert durch eine optimale Wachstumstemperatur von 28-30°C. *M. chelonae* ist i.d.R. empfindlich gegenüber Makroliden. Tobramycin gilt als Aminoglykosid der Wahl zur Therapie von *M. chelonae*, im Gegensatz zu *M. abscessus*, bei dem Amikacin eingesetzt wird. Amikacin gilt bei *M. chelonae* als nicht wirksam. Wir empfehlen deshalb eine Abgrenzung von *M. chelonae* und *M. abscessus*.

Probe 2025-3 B41-D enthielt *M. abscessus* subsp. *abscessus*. Der Stamm weist eine induzierbare Makrolidresistenz auf [*erm(41)*-Gen: T28-Genotyp]. Makrolide (Clarithromycin, Azithromycin) gelten als nicht wirksam; es sei denn, sie werden wegen ihrer immunmodulatorischen

Eigenschaften eingesetzt (Daley C.L. et al. 2020). Bei Monotherapie ist von einem Therapieversagen auszugehen, so dass eine Kombinationstherapie induziert ist.

Mycobacterium avium

Der *M. avium*-Komplex (MAC) gehört zu den langsam wachsenden Mykobakterien und umfasst insbesondere die Spezies *M. avium*, *M. intracellulare* und *M. chimaera* (auch *M. intracellulare* subsp. *chimaera*). MAC gehören zu den häufigsten Erregern nicht-tuberkulöser mykobakterieller Infektionen. Die Lunge ist der häufigste Infektionsort. Disseminierte MAC-Infektionen treten bei immunsupprimierten Patienten (z.B. HIV-Patienten) auf. Mittels 16S rRNA-Sequenzierung können *M. avium*, *M. intracellulare* und *M. chimaera* voneinander abgegrenzt werden. Eine Identifikation ist auch mittels Line Probe Assay und MALDI-TOF MS möglich.

Mycobacterium persicum

Mycobacterium kansasii kann bei immunkompetenten und immungeschwächten Personen tuberkuloseähnliche Lungeninfektionen verursachen. Der *M. kansasii*-Komplex wird derzeit in fünf (oder sechs) Arten unterteilt, nämlich *M. kansasii* sensu stricto, *M. persicum*, *M. pseudokansassii*, *M. innocens*, *M. attenuatum* und schließlich „*M. ostraviense*“ (Tagini, 2019). Einige der Spezies wurden erst kürzlich auf der Grundlage phylogenetischer Analysen von der Unterart auf die Speziesebene angehoben. Die Arten des *M. kansasii*-Komplexes haben unterschiedliche klinische und epidemiologische Relevanz, aber die Unterscheidung der Spezies ist in der Routinediagnostik schwierig. *M. persicum* kann jedoch mittels 16S-Sequenzanalyse von den anderen Spezies des Komplexes abgegrenzt werden.

Besten Dank für die Teilnahme an den Ringversuchen
Freundliche Grüsse



Dr. sc. nat. Bettina Schulthess, FAMH Mikrobiologie
Ko-Leiterin Nationales Zentrum für Mykobakterien (NZM)
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Universität Zürich
Gloriastrasse 28/30
8006 Zürich

Weiterführende Literaturangaben zu nicht-tuberkulösen Mykobakterien

Simmner PJ *et al.* 2015. *Mycobacterium*: Clinical and Laboratory Characteristics of Slowly Growing Mycobacteria. Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, pp 570-594

Brown-Elliott BA, Wallace RJ. 2015. *Mycobacterium*: Clinical and Laboratory Characteristics of Rapidly Growing Mycobacteria. Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, pp 595-612

Daley CL *et al.* 2020, Treatment of Nontuberculous Mycobacterial Pulmonary Disease: An Official ATS/ERS/ESCMID/IDSA Clinical Practice Guideline. Clin Infect Dis. 71(4):904-913

Shahraki AH *et al.* 2017. *Mycobacterium persicum* sp. nov., a novel species closely related to *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium gastri*. Int J Syst Evol Microbiol. 67(6):1766-1770

Tagini F *et al.* 2019. Phylogenomics reveal that *Mycobacterium kansasii* subtypes are species-level lineages. Description of *Mycobacterium pseudokansasii* sp. nov., *Mycobacterium innocens* sp. nov. and *Mycobacterium attenuatum* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 69(6):1696-1704

Jagielski T *et al.* 2020. Genomic Insights Into the *Mycobacterium kansasii* Complex: An Update." Frontiers in microbiology vol. 10 2918. 15 Jan. 2020, doi:10.3389/fmicb.2019.02918

Tortoli E *et al.* 2016. Emended description of *Mycobacterium abscessus* and *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* and *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* and designation of *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 66: 4471-4479