



Mykobakterien

➔ Therapie mit TMC 207

➔ Epidemiologie und Klinik

➔ Diagnostik



TMC207: Therapie der MDR-TBC

TBC: aktuelle globale Epidemiologie (WHO 2006)

	Geschätzte Erkrankungsfälle	Geschätzte Todesfälle
Alle Formen		
Höchste Fallzahl in Asien	9,15 Mio	1,65 Mio
Höchste Rate <i>per capita</i> in Afrika	(139 / 100.000)	(25 / 100.000)
MDR (<i>multi drug resistant</i>) TBC	489 000	130 000
XDR (<i>extensively drug resistant</i>) TBC	≈35 000	≈20 000
HIV-assoziierte TBC	709 000	231 000

TMC207 in der Therapie der MDR-TBC

Hintergrund

- MDR-Tuberkulose: Resistenz gegen Rifampicin (R), Isoniazid (H) und evtl. gegen weitere Basistherapeutika
- WHO-Standardempfehlung für MDR-TBC:
 - ▶ Regime aus Amikacin (A), Ethionamid (Et), Moxifloxacin (M), und Pyrazinamid (Z)
- Im Mausmodell erzielt dieses Regime Kulturnegativität nach 9 Monaten (Veziris, AAC 2003).

Ziel der Studie

- Überprüfung der antituberkulotischen Therapie mit dem Diarylchinolin R207910 (TMC207, J) in Kombination mit *Second Line* Antituberkulotika

TMC207 in der Therapie der MDR-TBC

Design

Initialphase (2 Monate)	Erhaltungsphase (2 oder 4 Monate)	Rationale
RHZ	4 RH	WHO-Standard für voll sensible TB
JRZ	2 JR	Bestes Regime in Kombination mit J
AEtMZ	4 EtM	WHO-Regime für MDR TB
JAEtMZ	4 JEtM	WHO-Regime für MDR TB + J
JMZ	2 oder 4 JM	Orales J-basiertes MDR TB Regime
20 Mäuse / Gruppe (außer RHZ: 30 Mäuse)		
Rifampicin (R), Isoniazid (H), Amikacin (A), Ethionamid (Et), Moxifloxacin (M), Pyrazinamid (Z) TMC207 (J)		

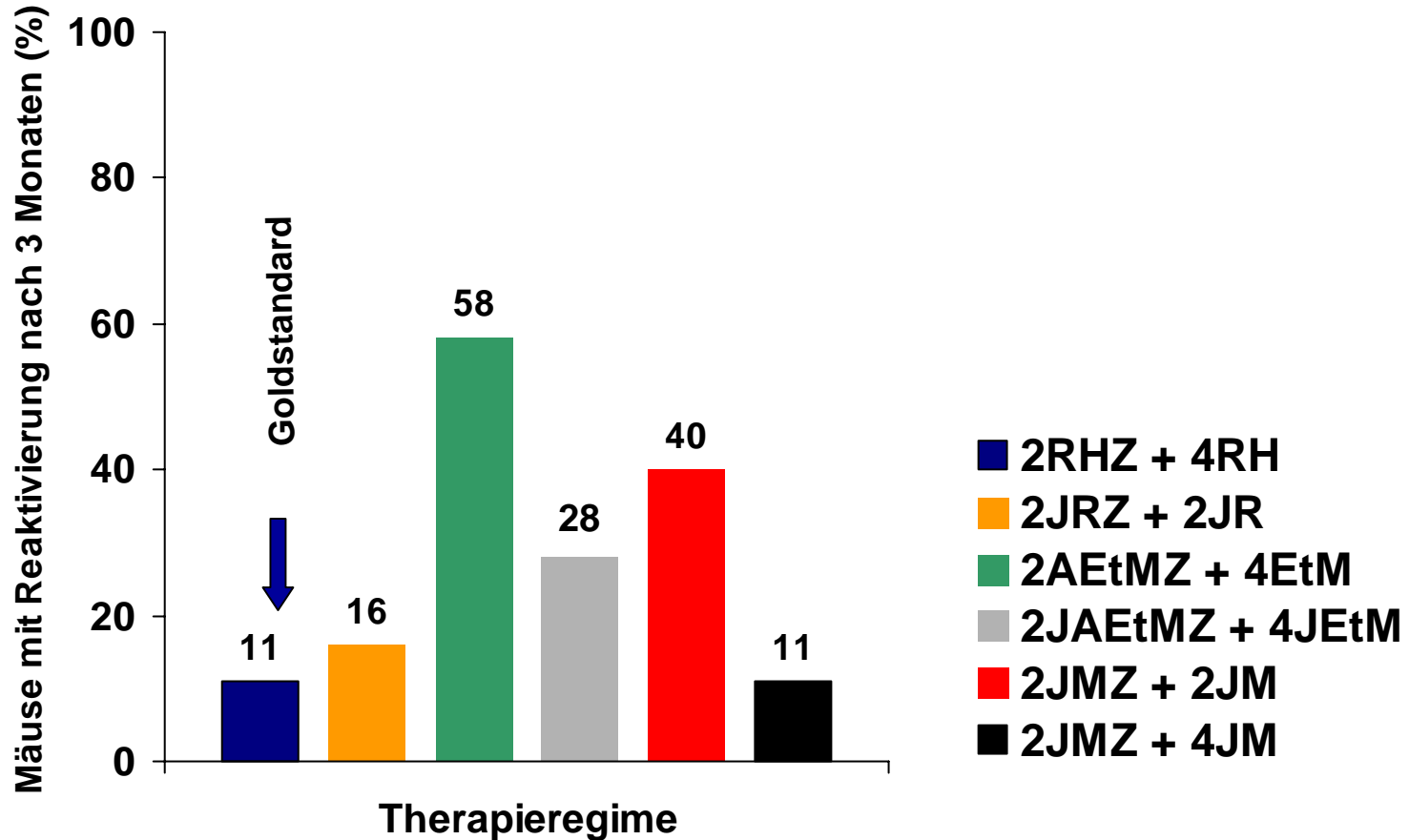
TMC207 in der Therapie der MDR-TBC

Ergebnis

- Die bakterizide Wirkung aller verglichenen Regime war in allen Gruppen bei Therapieende gleich (Kultur des Lungengewebes: negativ).
- Bei der Rückfallrate nach 3 Monaten, als Indikator für die potentiell sterilisierende Aktivität der Regime, zeigten sich deutliche Unterschiede:
 - ▶ Das JMZ-Schema, ohne die Goldstandardtherapeutika Isoniazid (H) und Rifampicin (R), war bei einer Therapiedauer von 6 Monaten genauso effektiv wie das RHZ-Regime.
 - ▶ Der Zusatz von TMC207 verbesserte die Wirksamkeit von AEtMZ als *Second-Line*-Regime.

TMC207 in der Therapie der MDR-TBC

Reaktivierungsrate nach 3 Monaten (Sterilisierende Aktivität)



TMC207 in der Therapie von *M. avium*-Infektionen

Hintergrund

- *M. avium* gewinnt zunehmend als Erreger pulmonaler Mykobakteriosen bei Immunkompetenten an Bedeutung.
- *M. avium* verursacht disseminierte Infektionen in immunsupprimierten Patienten.
- Die Zahl der derzeit zur Verfügung stehenden aktiven Substanzen gegen *M. avium* ist limitiert.

Ziel der Studie

- Die Wirksamkeit von TMC207 gegen *M. avium* sollte *in vitro* und in C57Bl/6J Mäusen als Monotherapie oder in Kombination mit Clarithromycin (CLA) und/oder Amikacin (AMK) evaluiert werden.

TMC207 in der Therapie von *M. avium*-Infektionen

Methoden

- *In vitro*: Ermittlung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) und der minimalen bakteriziden Konzentration (MBK) von TMC207 gegen *M. avium* (S 101)
- *In vivo*: intraperitoneale Infektion der Mäuse mit *M. avium*
- Start der Therapie nach 4 Wochen
- TMC, CLA und AMK als Monotherapie bzw. in den Kombinationen:
 - ▶ TMC+CLA
 - ▶ TMC+AMK
 - ▶ CLA+AMK
 - ▶ TMC+CLA+AMK
- Je 5 Tage/Woche für 4 Monate
- Bestimmung der Bakterienlast in der Milz (CFU = *colony forming units*)

TMC207 in der Therapie von *M. avium*-Infektionen

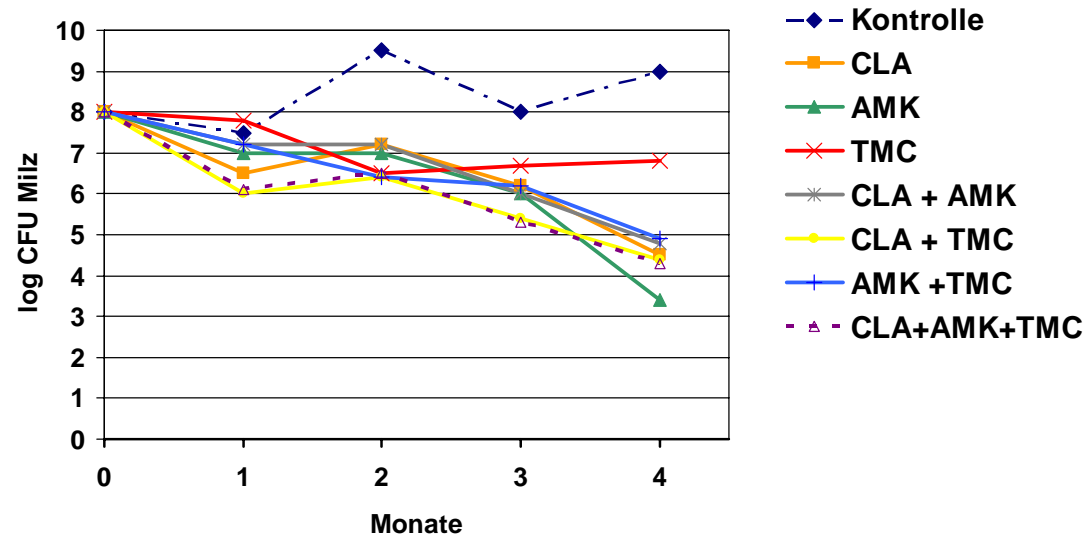
Ergebnisse

- *In vitro*:
 - ▶ TMC207 zeigt bakteriostatische Aktivität gegen *M. avium* (MHK = 0,01 mg/l; MBK >128 mg/l).
- *In vivo*:
 - ▶ Alle Mäuse hatten nach 4-monatiger Behandlung noch positive Kulturen.
- Bakterizide Aktivität AMC>CLA>TMC
- Keine Steigerung der Aktivität durch Kombination der Präparate

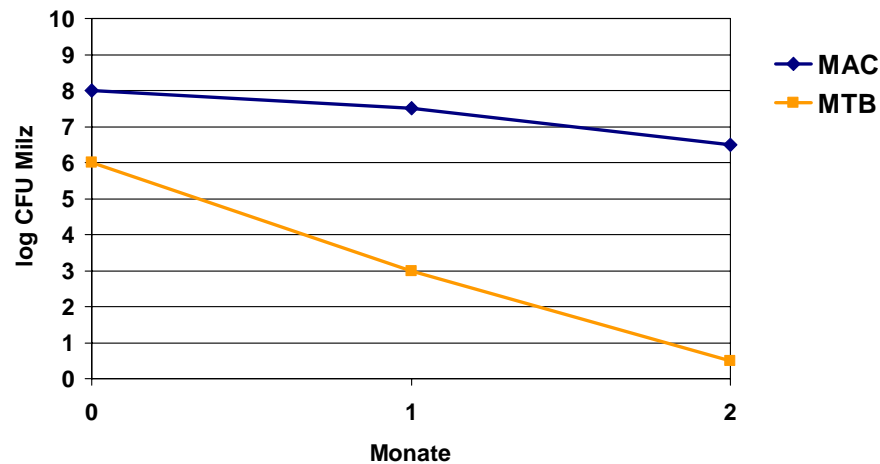
TMC207 in der Therapie von *M. avium*-Infektionen

Wirksamkeit *in vivo*

MAC



MAC vs. MTB



TMC207 in der Therapie von MTB und *M. avium*

Kommentar

- Basierend auf den Daten im Mausmodell ist TMC207 ein viel versprechendes Präparat im Hinblick auf die Therapie von Infektionen mit MTB, insbesondere der MDR-TBC.
- Trotz gleicher MHK von TMC207 für *M. avium* und MTB ist die Substanz *in vivo* gegen *M. avium* nicht gut wirksam.
- TMC207 trägt nicht zur Verbesserung der Wirksamkeit von Amikacin und Clarithromycin bei.



Mykobakterien: Epidemiologie und Klinik

Tuberkulose: Mortalitätsprädiktoren

Prospektive epidemiologische Studie

- Prädiktoren für Mortalität in einer großen Kohorte von Tuberkulosepatienten in einem hochentwickelten Industriestaat (Houston, USA) (siehe auch F1-2008)

Studiendesign

- Einschluss aller TB-Fälle, die zwischen Oktober 1995 und September 2004 in Harris County (Texas) gemeldet wurden
- Patienten, die innerhalb von 180 Tagen nach Diagnosestellung verstarben wurden mit den überlebenden Patienten mittels *Cox Proportional Hazard* Modellanalyse verglichen.

Ergebnisse

- 3662 TB-Fälle
- 321 (9%) Todesfälle
- 3241 (88%) Überlebende; 100 (3%) *lost to follow-up*
- Mediane Zeit bis zum Tod: 33 Tage nach Diagnosestellung
- 73 (23%) verstorbene Patienten starteten nie eine Therapie.
- 315 (98%) der Todesfälle hatten eine positive Kultur für MTB.

Tuberkulose: Mortalitätsprädiktoren

Unabhängige Prädiktoren für Mortalität ($p < 0,05$)	Hazard Ratio	Assoziation mit Einleitung einer antimykobakteriellen Therapie *	Odds Ratio
Alter	1,05	Alter	1,0
Alkoholgenuss (tägl.)	1,4	HIV-positiv	0,74
Homosexualität	1,9	Im Ausland geboren	1,14
Diabetes	1,6	Männlich	0,80
Nierenerkrankung	3,1	Diabetes ($p = 0,04$)	1,85
Lungen-Ca (in der Vorgeschichte)	4,1	Husten	0,57
Disseminierte TB	2,2	AFB mikroskopisch nachgewiesen ($p < 0,01$)	0,30
Diarrhoe	1,5	Kavernen in Rö-Thorax ($p = 0,02$)	0,38
Dyspnoe	1,3	TB-Exposition in der Anamnese	0,39
Fieber	1,6		
HIV-positiv	1,8		

* bei verstorbenen Patienten;
 $p = n.s.$ sofern nicht angegeben
 AFB = säurefeste Stäbchen

Einfluss von Diabetes mellitus auf die Prognose von Patienten mit aktiver Tuberkulose

Retrospektive Studie

- Einfluss von Diabetes mellitus auf den klinischen Verlauf einer Tuberkulose

Studiendesign

- Einschluss aller kulturpositiven TB-Fälle, die 2004-2005 in Maryland (USA) gemeldet wurden
- Univariate Analyse: Diabetes mellitus vs. kein Diabetes mellitus

Ergebnisse

- 297 TB-Fälle, davon 42 (14%) mit Diabetes
- Diabetiker haben eine doppelt so hohe Wahrscheinlichkeit, während der Behandlung einer Tuberkulose zu versterben (*Odds Ratio*: 1,92; $p = 0,18$)
- Bei Berücksichtigung definierter Risikofaktoren wie HIV-Status, Alter, Gewicht und Geburtsland hatten Diabetiker eine 6,47-fach höhere Wahrscheinlichkeit (95%-CI: 1,1-38,0) zu versterben als Nicht-Diabetiker ($p = 0,039$).

Tuberkulose: Mortalitätsprädiktoren

Kommentar

- Neben den vornehmlich in Schwellen- und Entwicklungsländern ermittelten, bereits bekannten Riskofaktoren (HIV-Infektion, Alter, Ernährungszustand) für die Manifestation und den Verlauf einer Tuberkulose beschreiben diese Studien in hoch entwickelten Industriestaaten Komorbiditäten wie Diabetes, und Niereninsuffizienz als starke Mortalitätsprädiktoren bei Tuberkulose.
- Auch in modernen Gesundheitssystemen stirbt eine relevante Anzahl an Patienten, *bevor* eine Therapie eingeleitet wird. Die Einleitung einer Therapie korreliert positiv mit „klassischen roten Flaggen“ wie dem Nachweis säurefester Stäbchen im Sputum und Kavernen im Thorax-Röntgenbild.
- Die Berücksichtigung weiterer Mortalitätsprädiktoren für die Entscheidung zur Einleitung einer Tuberkulosetherapie über die „klassischen roten Flaggen“ hinaus, könnte möglicherweise zu einer Mortalitätssenkung der Erkrankung führen.



Mykobakterien: Diagnostik

QuantiFERON Gold Assay – Screening auf latente TBC

„Es ist nicht alles Gold, was glänzt“

Hintergrund

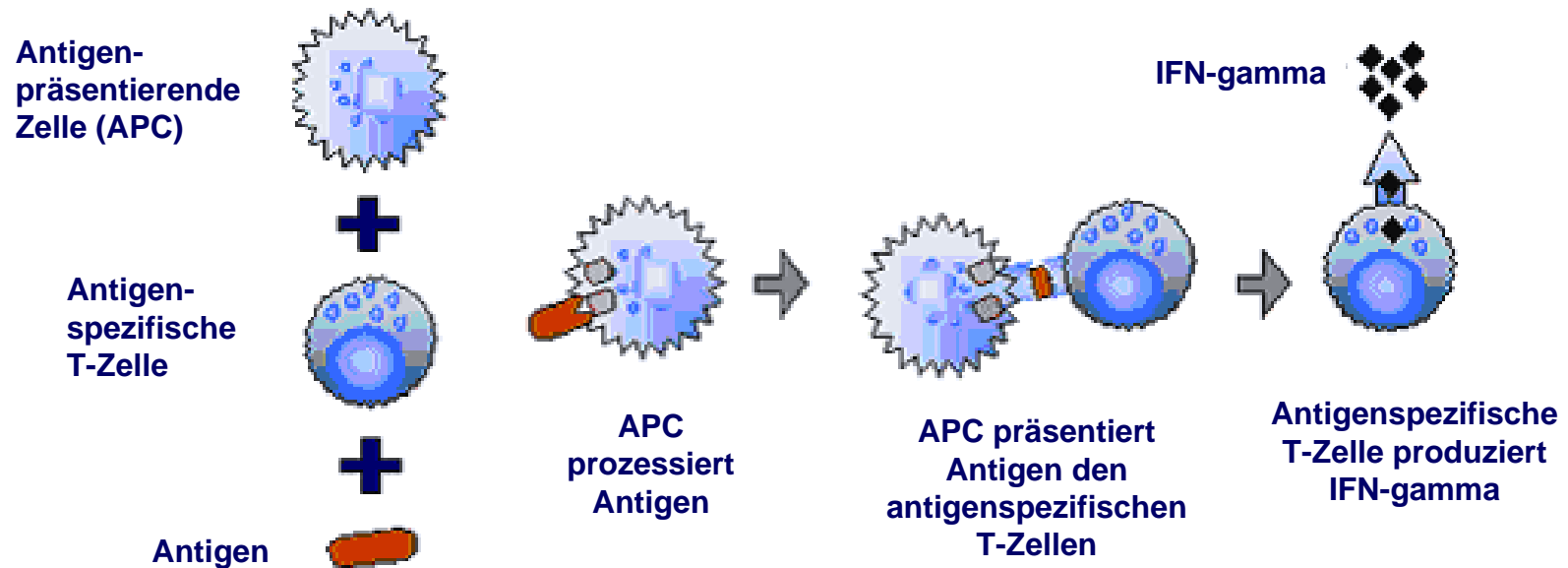
- Viele Kliniken haben den PPD-Hauttest durch den QuantiFERON-Assay ersetzt, um Personal und Patienten auf latente Tuberkulose zu untersuchen.
- In der Cleveland Klinik wurden im Rahmen des Personalscreenings neben positiven und negativen eine hohe Anzahl intermediärer Resultate festgestellt (Toleranzbereich < 5% intermediäre Testergebnisse).

Testanzahl	1528
Positiv	4,5%
Negativ	84,6%
Indifferent	11%

- Diese Feststellung führte zu einer Studie zur Evaluation des Tests.

QuantiFERON Gold Assay – Screening auf latente TBC

QuantiFERON-Testprinzip: T-Zell-Stimulation in Vollblut



TB-spezifische Antigene als Beschichtung in Blutabnahmeröhrchen

- **ESAT-6** (*Early Secretory Antigen Target-6*)
- **CFP-10** (*Culture Filtrate Protein 10*)
- **TB 7.7** (*p4*)

QuantiFERON Gold Assay – Screening auf latente TBC

Methode

- Problemanalyse: inhomogene Probenmischung?
- Erweiterung des Protokolls um einen zusätzlichen Durchmischungsschritt (10 s Vortex) nach der Blutabnahme
- In einer weiteren Phase wurden die Abnahmeröhrchen ersetzt, nachdem Röhrchen mit einem höheren Antigenanteil eingeführt wurden.

Ergebnis

- Diese Maßnahmen führten zu einem signifikanten Rückgang der Häufigkeit intermediärer Testergebnisse.

Phase	Testanzahl (n)	Indifferente Ergebnisse (%)	P-Wert vs. Ausgangssituation
Ausgangssituation	1528	11	--
plus Vortex	773	7,9	0,02
plus Vortex, mit neuen Röhrchen	3883	3,1	0,0001

QuantiFERON Gold Assay – Screening auf latente TBC

Kommentar:

- „*Es ist nicht alles Gold, was glänzt*“
- Der QuantiFERON Gold-Assay bleibt auch Jahre nach seiner Einführung ein stör anfälliger Test.
- Personen mit intermediären Testergebnissen müssen aufmerksam klinisch evaluiert werden.
- Gehäufte intermediäre Ergebnisse bei Patienten ohne klinischen Hinweise auf eine Immunsuppression sollten immer zu einer kritischen Überprüfung des Testsystems und seiner Abläufe führen.



Abstracts

B-877

Activity of TMC207 Against *Mycobacterium avium* In Vitro and in the Mouse Model

N. LOUNIS, T. GEVERS, J. VAN DEN BERG, K. ANDRIES;
Tibotec Pharmaceuticals, Beerse, Belgium.

Background: New drugs are needed to treat *Mycobacterium avium* infections in either immunocompetent or immunocompromised patients. With the exception of the newer macrolides, *M. avium* is not susceptible to most of antibiotics. TMC207 (R207910) is a diarylquinoline with a broad antimycobacterial spectrum. The aim of this study is to assess the activity of TMC207 (TMC) against *M. avium* in vitro and in the C57Bl/6J mouse model where it was tested in monotherapy or in combination with clarithromycin (CLA) and/or amikacin (AMK).

Methods: The minimal inhibitory concentration (MIC) and the minimal bactericidal concentration (MBC) of TMC207 against *M. avium* strain 101 were determined in vitro. In vivo, mice were infected intraperitoneally with 2×10^7 *M. avium* strain 101 and treated 4 weeks later with TMC, CLA and AMK given alone or as the following combinations: TMC+CLA, TMC+AMK, CLA+AMK and TMC+CLA+AMK. TMC, CLA and AMK were given at 25, 200 and 150 mg/kg 5 days per week for 4 months. TMC and CLA were given orally and AMK was given subcutaneously. The CFU counts in the spleens were measured on Lowenstein-Jensen medium to prevent carry-over effects.

Results: In vitro, TMC207 displayed a bacteriostatic activity against *M. avium* strain 101 with an MIC of 0.01 and an MBC of >128 mg/l. In vivo, all treated mice were still culture positive after 4 months of treatment. Regimens including AMK had the greatest bactericidal activity (-4.5 log₁₀ CFU), followed by CLA (-2.99 log₁₀ CFU) and TMC (-1.4 log₁₀ CFU). The addition of either CLA or TMC or both to AMK did not improve the activity of AMK ($p > 0.05$). The combination of TMC and CLA displayed important bactericidal activity (-2.9 log₁₀ CFU) but did not improve the activity of CLA alone ($p > 0.05$).

Conclusions: Despite having a similar MIC, the in vivo efficacy of TMC207 against *M. avium* is much less dramatic compared to the efficacy against *Mycobacterium tuberculosis*, underlining the importance of a bactericidal rather than a bacteriostatic activity.

B-876

Sterilizing Activity of a Second Line Regimen Including R207910 (TMC207) in Murine Tuberculosis

M. IBRAHIM¹, C. TRUFFOT-PERNOT¹, K. ANDRIES², V. JARLIER¹, N. VEZIRIS¹;

¹Laboratoire de Bactériologie, faculté de médecine Pitié-Salpêtrière, Paris, France, ²Tibotec, Beerse, Belgium.

Background: The WHO recommends a regimen including amikacin (A), ethionamide (Et), moxifloxacin (M), and pyrazinamide (Z) for TB patients who cannot receive rifampin (R) and isoniazid (H). 9 months treatment is needed in mice to achieve culture negativity with this regimen (Veziris, AAC 2003). We studied the sterilizing activity of diarylquinoline R207910 (TMC207, J) combined with second-line drugs.

Methods: Female Swiss mice were infected with 5.6 log CFU of *M. tuberculosis* H37Rv, and treatment started 14 days later, when the CFU count had increased to 7.1 log. Positive controls were 6 months daily RHZ (WHO standard regimen), 6 months AEtMZ, and 4 months of JRZ (best J containing regimen in a previous study, Ibrahim 47th ICAAC). Test regimens were 4 and 6 months of JMZ, and 6 months JAEtMZ. Culture negativity of lungs was assessed at the end of treatment. Relapse rates (CFU in lungs) were assessed 3 months after treatment completion.

Results: Culture negativity was obtained after 4 months for JRZ and JMZ regimens, and after 6 months for RHZ, AEtMZ and JAEtMZ. The proportion of relapsing mice 3 months after the end of treatment are summarized in the table.

Conclusion: The sterilizing activity of the 4-month JRZ regimen was confirmed. The JMZ regimen, omitting both R and H, was as effective after 6 months as the standard RHZ regimen. Adding R207910 to AEtMZ improved the efficacy of this second line regimen. Both JMZ and JAEtMZ may shorten treatment duration of MDR-TB.

Number of relapsing mice / total mice, 3 months after treatment completion

Regimen	4 mo	6 mo
2RHZ+4RH		3/27
2JRZ+2JR	3/19	
2JMZ+4JM	8/20	2/19
2AEtMZ+4EtM		11/19
2JAEtMZ+4JEtM		5/18

D-1113

All that is Gold does not Glitter: Interventions to Reduce Prevalence of Indeterminate Interferon-Gamma Release Assay Among Health Care Personnel Screened for Latent *M. tuberculosis* Infection

C. C. MIRANDA, B. YEN-LIEBERMAN, J. W. TOMFORD, S. M. GORDON;
Cleveland Clinic, Cleveland, OH.

Background: We replaced tuberculin skin testing with an interferon-gamma release assay (IGRA), the QuantiFERON TB Gold In-tube, for pre-employment screening of health care personnel (HCP) for latent tuberculosis in July 2007.

Methods: Blood was collected into 3 different tubes in this sequence: Nil, TB antigen, and mitogen (PHA) control. After vigorous mixing, specimens were transported to the laboratory, incubated overnight, and processed within 16-18 hours. Results were reported as positive, negative or indeterminate.

Results: A total of 1528 IGRA tests performed between July 2007 and November 2007. There were 1292 (84.6%) negative tests; 68 (4.5%) were positive; and 168 (11%) were indeterminate (mainly due to low response to mitogen without obvious reason for impaired cellular immune response). The high prevalence of indeterminate results prompted an investigation. Review of the phlebotomist's procedure indicated there was inadequate shaking of tubes at collection (not allowing for mixing of antigen with blood) and overfilling of tubes (possible dilution of antigen). Initial interventions included refresher in-services for phlebotomists and addition of manual vortexing prior to overnight incubation. Subsequently, indeterminate IGRA rates significantly decreased (pre vortex: 11% [168/1528] vs. post vortex: 7.9% [61/773]; P-value = 0.02). The next intervention was introduction of a modified version of the in-tubes (increased antigen concentration), further decreasing the indeterminate IGRA rate (pre vortex 11% [168/1528] vs. post vortex with new in-tubes 6.1% [51/834]; P-value=0.0001).

Conclusion: In implementing IGRA testing, we suggest monitoring the prevalence of indeterminate results as a quality control metric. Addition of a manual vortex step and use of recently modified collection tubes was associated with significant decrease in the prevalence of indeterminate results among HCP.

F1-2006

Predictors of Mortality among Tuberculosis Cases

L. D. TEETER¹, O. Y. GONZALEZ¹, J. M. MUSSER², E. A. GRAVISS¹;

¹Baylor Coll. of Med., Houston, TX, ²The Methodist Hosp. Res. Inst., Houston, TX.

Background: Tuberculosis (TB) still carries an appreciable mortality in the U.S. despite inexpensive and effective treatment availability. In this study we sought to determine what factors are associated with TB cases that died either at diagnosis or during the course of their treatment.

Methods: TB cases reported in Harris County, Texas between 10/1/95 and 9/30/04 were enrolled in a population-based study that included an interview and record abstraction. Enrolled subjects who died within 180 days of their TB presentation were compared with those who survived by Cox proportional hazard modeling. Factors associated with initiation of TB therapy among deceased subjects were assessed by logistic regression.

Results: A total of 3662 TB cases were enrolled, including 321 (9%) who died within 180 days of presentation, 3241 (88%) survived, and 100 (3%) were lost to follow-up. Deaths occurred a median of 33 days after presentation. Subjects who died included 73 (23%) that didn't live to start TB therapy and 315 (98%) that were TB culture positive. Independent predictors of mortality ($p < 0.05$) included age (Hazard ratio [HR] 1.05), daily alcohol use (HR 1.4), a history of same-sex sexual behavior (HR 1.9), comorbid diabetes (HR 1.6) or renal disease (HR 3.1), a history of lung cancer (HR 4.1), disseminated TB disease (HR 2.2), symptoms of diarrhea (HR 1.5), dyspnea (HR 1.3), or fever (HR 1.6), and HIV positivity (HR 1.8). Among subjects who died, those that didn't start treatment were more likely ($p < 0.05$) to have diabetes (Odds Ratio [OR] 1.8) and were less likely to have cavitary chest x-rays (OR 0.4) and specimens that were acid fast bacilli smear positive (OR 0.3).

Conclusions: Comorbid conditions including AIDS, diabetes, lung cancer, and renal disease are significant contributors to TB mortality. A significant proportion of persons with TB die before anti-mycobacterial therapy can be initiated. Diagnostic tests that more rapidly identify TB suspects would expedite initiation of TB therapy and potentially reduce mortality.

F1-2007

Impact of Diabetes Mellitus on Treatment Outcomes in Patients with Active Tuberculosis

K. E. DOOLEY¹, T. TANG¹, J. GOLUB¹, S. DORMAN¹, W. CRONIN²;

¹Johns Hopkins Univ., Baltimore, MD, ²Maryland Dept. of Hlth.and Mental Hygiene, Baltimore, MD.

Background: Diabetes mellitus (DM) is an emerging global chronic health condition and a common co-morbid condition in tuberculosis (TB) patients. We conducted a retrospective study to determine the impact of DM on TB outcomes including sputum culture conversion and death.

Methods: Retrospective cohort study of patients with incident, culture-confirmed TB in 2004 and 2005 in Maryland. Data were collected from clinical records and the state's surveillance database. Analysis was performed using STATA 10.0.

Results: Of 297 patients treated for TB, 42(14%) had DM. Diabetics were older, heavier, and more likely to have pulmonary disease than nondiabetics. In univariate analyses, diabetics were twice as likely as nondiabetics to die during treatment (OR: 1.92; p=0.18); death was seven times more common in US- than foreign-born (OR 7.5; p<0.01). Adjusting for HIV status, age, weight, and foreign birth, diabetics had a 6.47 times higher odds of death than nondiabetics (p=0.039). Of 207 with pulmonary TB, mean time to culture conversion was 47 days in nondiabetics and 59 days in diabetics (p=0.14). Stratifying by cavitation, the hazard ratio for sputum culture conversion comparing diabetics to nondiabetics in patients with noncavitary disease was 0.59 (p=0.05); (for cavitary, HR 1.28, p=0.44). Two-month culture conversion rates, however, were similar (diabetics 70% and nondiabetics 69%). Hispanics had 2-month culture conversion proportions of 52%, compared with 73% in non-Hispanics (p=0.014). In those with noncavitary disease, odds of 2-month culture conversion were 61% lower in diabetics than nondiabetics after adjusting for age and ethnicity (p=0.12).

Conclusions: For patients with active TB, DM was a risk factor for increased mortality. In those with noncavitary disease, time to sputum culture conversion was longer in diabetics than nondiabetics. DM is common in patients with TB and impacts treatment outcomes.