

Evaluierung des kommerziellen Schnelltests Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test

Evaluation of the Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test

M. Fille, F. Allerberger, M. P. Dierich

Zusammenfassung

Von 75 Patienten stammende Proben (89 Sputa/Bronchiallavagen, 12 Proben extrapulmonaler Herkunft) wurden mittels des Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test (AMTDT) untersucht. Dieser Schnelltest basiert auf dem Nachweis von, für den Mycobacterium tuberculosis-Komplex typischer, ribosomaler RNA. Parallel dazu wurden die Proben mikroskopisch (Ziehl-Neelsen-Färbung) und kulturell (Löwenstein-Jensen-Medien) untersucht. Nach Klärung diskrepanter Ergebnisse durch Auswertung der Krankengeschichten der Patienten und Abschluß zweier fraglich zu wertender Fälle zeigte die Testung der Proben aus dem Respirationstrakt mittels AMTDT eine Sensitivität von 75 %, eine Spezifität von 95 %, einen prädiktiven Wert eines positiven Testergebnisses von 80 % und einen prädiktiven Wert eines negativen Testergebnisses von 94 %. Die entsprechenden Werte waren bei der mikroskopischen Untersuchung 38 %, 100 %, 100 % und 87 %. Die Kultur ergab Werte von 88 %, 100 %, 100 % und 99 %. Zwei von drei Patienten mit falsch positiven AMTDT Ergebnissen waren 12 bzw. 21 Jahre vor der Untersuchung an einer Tuberkulose erkrankt gewesen. Das Vorkommen falsch negativer Befunde

unterstreicht die Bedeutung der Forderung nach zumindest drei konsekutiv gewonnenen Sputa für alle labordiagnostischen Untersuchungen auf Lungentuberkulose. Der AMTDT wird den kulturellen Erregernachweis sowie den mikroskopischen Nachweisversuch nicht ersetzen. Da die Ergebnisse des AMTDT jedoch bereits nach 6 Stunden vorliegen, sehen wir in diesem problemlos zu handhabenden Amplifikationssystem eine bedeutende Bereicherung unserer labordiagnostischen Möglichkeiten. Bei Interpretation der AMTDT Resultate unter Berücksichtigung klinischer Daten sollte dieses Verfahren in Zukunft dem Routinelabor eine Schnelldiagnose auch bei Fällen von mikroskopisch negativer ansteckender Tuberkulose erlauben.

Schlüsselwörter

Tuberkulose – Schnelldiagnose – AMTDT – Evaluierung

Summary

A total of 101 specimens (89 respiratory specimens, 12 from other sites) from 75 patients were tested for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex by the Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test (AMTDT). The results were compared with those of microscopy (Ziehl-Neelsen staining) and cultivation (Löwenstein-Jensen media). After resolution of discrepant results by review of the patients' complete medical records and exclusion of two inconclusive cases the sensitivity of the AMTDT for respiratory specimens was 75 %, specificity 95 %, positive predictive value 80 %, and negative predictive value 94 %. The corresponding values were 38 %, 100 %, 100 %, and 87 %, respectively.

Anschrift der Autoren:

Bundesstaatliche bakteriologisch-serologische Untersuchungsanstalt und Institut für Hygiene der Universität Innsbruck

Korrespondenz-Adresse:

Dr. Manfred Fille, Bundesstaatlich bakt.-serol. Untersuchungsanstalt und Institut für Hygiene der Universität Innsbruck, Schöpfstr. 41, A-6020 Innsbruck, Österreich

for microscopy and 88 %, 100 %, 100 % and 99 %, respectively; for cultivation. Two of three patients with incorrect positive AMTDT results had a history of pulmonary tuberculosis up to 21 years earlier. Incorrect negative AMTDT results underline the importance of submitting three consecutive respiratory specimens for the laboratory diagnosis of pulmonary tuberculosis. AMTDT will not replace cultivation and microscopy. AMTDT results are available within up to six hours; interpreted in conjunction with clinical data, this amplification system can be an extremely valuable tool, for the first time allowing a rapid diagnosis of tuberculosis for smear-negative cases.

Key words

Tuberculosis – rapid diagnosis – AMTDT – evaluation

Einleitung

Sofern nicht eine hohe Keimzahl einen mikroskopischen Direktnachweis erlaubt, gibt es bis zum heutigen Tag keinen befriedigenden Schnelltest, der sich in der Routinediagnostik der Tuberkulose bewährt hat [1, 2]. Trotz anfänglicher euphorischer Beurteilungen hielten viele neue Verfahren den Erfordernissen von Routinelabors nicht stand. Nachteile wie Unspezifität und niedrige Sensitivität führten dazu, daß serologische Testkits von uns generell nicht benutzt werden und Untersuchungsverfahren wie der Nachweis von Tuberkulostearinsäure mittels Gaschromatographiemassenspektroskopie oder die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) lediglich für Liquores verwendet werden [1–4].

Im Unterschied zur PCR greift das 1990 erstmalig beschriebene Verfahren der Self-Sustaining-Sequence-Replication (3SR) auf ribosomale Ribonukleinsäure (rRNA) zurück, welche verglichen mit DNA, in 1000-fach größerer Menge in Bakterien vorliegt [5]. Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, einen kommerziell erhältlichen Schnelltest (Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct-Test, Gen-Probe Inc., San Diego, Calif.), der auf eben dieser Amplifikationsstrategie beruht, zu evaluieren.

Material und Methoden

Im Zeitraum von 3.3.1994 bis 14.7.1994 wurden an der Bundesstaatlichen bakteriologisch-serologischen Untersuchungsanstalt in Innsbruck 101 Untersuchungen mit dem AMTDT durchgeführt. Im Prinzip handelt es sich bei diesem Test um eine isothermische in-vitro Amplifikation von für den Mycobacterium-tuberculosis-Komplex typischer rRNA. Bei diesem Verfahren wird nach mechanischem Aufbrechen der Bakterienzelle das Probenmaterial auf 95 °C erhitzt. Spezifische Primer hybridisieren an die rRNA und starten in Anwesenheit des Enzyms Reverse Transkriptase die Bildung von einzelsträngiger komplementärer DNA (cDNA). Nach Zerstörung der RNA mittels Ribonuklease wird aus der einzelsträngigen cDNA ein Doppelstrang gebildet, der nun als Schablone für die Bildung von 50–1000 Kopien von antisense-rRNA verwendet wird. Diese Kopien werden mit Reverser Transkriptase wieder in doppelsträngig cDNA konvertiert und erneut als Schablone für die Transkription verwendet. Dieser Prozeß läuft isothermisch über 2 Stunden bei 42 °C. Das Reaktionsprodukt wird hierauf mittels Chemilumineszenz mit einer spezifischen Acridiniumester markierten Sonden nachgewiesen. Der Schwellenwert für positive Ergebnisse liegt bei 30 000 relativen Lichteinheiten (RLU). Die Durchführung dieses Schnelltests dauert circa 6 Stunden.

Die 101 untersuchten Proben stammten von 75 Patienten und wurden von neun Krankenhäusern und sieben niedergelassenen Ärzten aus den Bundesländern Tirol und Vorarlberg eingesandt. Von 54 Patienten wurde je eine Probe untersucht, von 21 Patienten wurden wiederholt Proben eingesandt (17 Patienten mit 2 Proben, 3 Patienten mit 3 Proben, 1 Patient mit 4 Proben). Neben Sputa (84×) und Bronchiallavagen (5×) wurden auch Pleurapunktate (3×), Lymphknoten (3×), Liquores (2×), Magensaft (1×), Sperma (1×), Blutkultur (1×) und Harn (1×) untersucht. Der kommerzielle Testkit wird vom Hersteller nur für Material aus dem Respirations-trakt empfohlen.

Parallel zur Untersuchung mittels AMTDT wurden die Proben mikroskopisch (Ziehl-Neelsen-Färbung) und kulturell (Löwenstein-Jensen Medien) untersucht [6]. Kulturergebnisse wurden entsprechend einer Methode von Krebs quantifiziert [7]. Bei diskrepanten Ergebnissen wurden die Krankengeschichten der Patienten in die Evaluierung miteinbezogen. Namenslisten der in den Jahren 1993 und 1994 an die Sanitätsbehörden der Bundesländer Tirol und Vorarlberg gemeldeten Fälle von ansteckender Tuberkulose wurden als Kontrolle genutzt.

Abkürzungen:

AMTDT = Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test

Ergebnisse

Die Durchführung des Testes bot keine technischen Probleme und die Ergebnisse waren mit Werten von 1059 bis 19859 RLU als eindeutig negativ, sowie mit Werten von 694020 bis 2876970 RLU als eindeutig positiv zu werten.

Proben aus dem Respirationstrakt

Die untersuchten 89 Proben stammten von 63 verschiedenen Patienten. Von 42 Patienten wurde jeweils 1 Probe untersucht, von 17 Patienten jeweils 2. Drei Patienten waren mit je 3 Proben vertreten und ein Patient lieferte 4 Proben.

Für 84 Proben ließ sich eine Auswertung durch Gegenüberstellung Testresultat versus klinische Diagnose ohne Probleme durchführen (10 Patienten hatten Lungentuberkulosen, 51 Patienten waren nicht an Tuberkulose erkrankt). Tabelle 1 listet die Testergebnisse von AMTDT, Kultur und Ziehl-Neelsen-Färbung für diese 86 Proben auf. Tabelle 2 führt

Tabelle 1. Testergebnisse der drei Untersuchungsverfahren. Vorliegen oder Abwesenheit von „Tuberkulose“ wurde retrospektiv vom behandelnden Arzt entschieden.

	Tuberkulose	
	+	-
+ AMTDT	12	3
-	4	65
	Tuberkulose	
	+	-
+ Kultur	14	0
-	2	68
	Tuberkulose	
	+	-
+ Ziehl-Neelsen	6	0
-	10	68

Tabelle 2. Sensitivität, Spezifität, prädiktiver Wert eines positiven Testergebnisses und prädiktiver Wert eines negativen Testergebnisses ermittelt mit Resultaten von 84 Proben aus dem Respirationstrakt.

	AMTDT	Kultur	Mikroskopie
Sensitivität	75 %	99 %	38 %
Spezifität	95 %	100 %	100 %
Prädiktiver Wert eines positiven Testergebnisses	80 %	100 %	100 %
Prädiktiver Wert eines negativen Testergebnisses	94 %	99 %	87 %

für diese Testverfahren die daraus ermittelten Werte für Sensitivität, Spezifität, prädiktiven Wert eines positiven Testergebnisses (PPV) und prädiktiven Wert eines negativen Testergebnisses (NPV) an.

Als falsch positiv waren drei AMTDT Ergebnisse (3 Patienten) zu werten. Patient A war an einem kleinzelligen Bronchuscarcinom erkrankt und deswegen in stationärer Behandlung. Bei ihm war 1 von 2 Proben im AMTDT falsch positiv. Dieser Patient war 21 Jahre zuvor wegen Lungentuberkulose behandelt worden. Patient B war wegen Angina pectoris in stationärer Behandlung und hatte ebenfalls ein falsch positives AMTDT Ergebnis. Die Einsendung dieser Einzelprobe erfolgte zur Abklärung eines Fleckschattens, welcher sich retrospektiv als alte, fibrös-indurativ abgeheilte Lungentuberkulose aus dem Jahr 1982 ohne Hinweis für Reaktivierung herausstellte. Der Patient war damals (12 Jahre zuvor) wegen Lungentuberkulose in stationärer Behandlung gewesen. Patient C war wegen rezidivierender pulmonaler Infekte in stationärer Behandlung. Peribronchiale Biopsien erbrachten Hinweise auf das Vorliegen einer floriden interstitiellen Lungenerkrankung fraglicher Genese. Weder anamnestic noch bei einem späteren Krankenhausaufenthalt (4 Monate nachdem eine von zwei Proben ein positives AMTDT Ergebnis zeigte) fanden sich Hinweise auf Tuberkulose.

Kulturverfahren und Ziehl-Neelsen Färbung erbrachten keine falsch positiven Resultate.

Falsch negative Ergebnisse fanden sich bei mikroskopischer Untersuchung für 10 der 16 Proben von Patienten mit Tuberkulose, bei Untersuchung mittels Schnelltest bei 4 Proben und bei Untersuchung mittels Kultur bei 2 Proben. Tabelle 3 listet die Ergebnisse der Patienten mit solch falsch negativen Ergebnissen auf. Die beiden falsch negativen Kulturergebnisse (bei Proben von Patienten mit kulturell gesicherter Tuberkulose) zeigten konkordant auch negative Ergebnisse mittels AMTDT und Ziehl-Neelsen Färbung.

Tabelle 3. Patienten mit Tuberkulose bei denen Proben negative Ergebnisse zeigten (- = falsch negativ). Kulturergebnisse quantifiziert von (+) (bis zu 50 Einzelkolonien, unter Hinzufügung der Koloniezahl) bis ++++ (Rosenwachstum)

Patient	Probe	AMTDT	Kultur	Mikroskopie
D	1	positiv	+++	pos.
	2	-	+	-
E	1	-	-	-
	2	positiv	(+) 10 KBE	-
	3	positiv	+++	-
F	4	positiv	+++	pos.
	1	-	(+) 6 KBE	-
G	1	-	-	-
	2	positiv	(+) 1 KBE	-

Problematisch zu werten waren die Ergebnisse von zwei Patienten. Deren 5 Proben wurden zur Berechnung von Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV nicht herangezogen. Von einer 33jährigen Patientin (Patient H) stammten 3, in Abständen von je 4 Tagen gewonnene Sputa. Während Kultur und mikroskopische Untersuchung konstant negative Ergebnisse zeigten, waren die zweite und dritte Probe im AMTDT positiv. Die Auswertung der Krankengeschichte ergab das Vorliegen einer floriden Halslymphknotentuberkulose. Bei der Patientin wurde 20 Monate zuvor eine Lungentuberkulose diagnostiziert und eine entsprechende Behandlung durchgeführt. Es ist für uns nicht beurteilbar, ob die 2 positiven Schnelltestergebnisse der 3 Sputa auf die floride Halslymphknotentuberkulose zurückzuführen sind, oder als Folge der alten, klinisch nicht mehr manifesten Tuberkulose zu werten sind. Bei 2 Proben eines 64jährigen Patienten (Patient I) dessen unklare Raumforderung im Bereich des Lungenhilus unter tuberkulostatischer Therapie deutlich kleiner wurde, fand sich bei einer von zwei Proben ein positives AMTDT Ergebnis (bei negativen Kulturen und negativen mikroskopischen Befunden). Eine tuberkulöse Genese war laut behandelndem Arzt nicht auszuschließen. Bei Wertung dieser fraglichen drei Schnelltestergebnisse als korrekt positiv (und der verbleibenden fraglichen zwei negativen AMTDT Resultate und 5 negative Kulturbefunde derselben zwei Patienten als falsch negativ) hätte die Sensitivität des Schnelltests 71 % und die der Kultur 67 % betragen.

Sonstige Proben

Entgegen der Empfehlung des Herstellers verwendeten wir den Schnelltest auch für 12 Proben (von 12 Patienten) die nicht aus dem Respirationstrakt stammten. Tabelle 4 gibt die Untersuchungsergebnisse für diese 12 Personen wieder und ordnet sie der

endgültigen Diagnose der Patienten zu. Bei der Patientin mit positivem Schnelltest (Patient M) war 10 Monate früher eine cervicale Lymphknotentuberkulose diagnostiziert und sodann für ein halbes Jahr mit Isoniazid, Rifampicin und Pyrazinamid behandelt worden. Ein daraufhin neu hinzugekommener supraclaviculärer Lymphknoten wurde nach Exstirpation vom Kliniker letztendlich trotz negativer Kultur und fehlendem histopathologischem Keimnachweis als Verdacht auf ein Rezidiv der Lymphknotentuberkulose gewertet und war Anlaß für eine erneute tuberkulostatische Therapie.

Diskussion

Die Evaluierung von Labortests für den Nachweis von Tuberkulose birgt aufgrund des Fehlens eines allgemein akzeptierten Goldstandards Probleme. Während Labormediziner für die Diagnose einer Tuberkulose lediglich die Kultur als Goldstandard akzeptieren [8], weisen Kliniker mit Recht auf negative Kulturergebnisse bei Proben von Patienten mit gesicherter Tuberkulose und auf die Möglichkeit der Freisetzung von Mykobakterien durch destruktive Lungenprozesse bei gleichzeitiger Abwesenheit von manifester Tuberkulose hin [9]. In der vorliegenden Arbeit wurde die Diagnose Tuberkulose retrospektiv vom behandelnden Arzt gestellt.

Die beschränkte Eignung des mikroskopischen Direktnachweises für die Diagnose der Tuberkulose ist weitgehend anerkannt [1]. Nach Böttger können nur etwa 30 % aller positiven Proben im mikroskopischen Präparat entdeckt werden [10], nach Roberts et al. beträgt die Sensitivität der Mikroskopie 22 % bis 43 % [6]. Diese Werte korrelieren gut mit unserem Ergebnis von 38 % Sensitivität für die Ziehl-Neelsen Färbung. Die Häufigkeit des Vorkommens falsch positiver mikroskopischer Befunde wird in der Literatur äußerst kontrovers beurteilt. Während in unserem Labor falsch positive mikroskopische

Tabelle 4. Untersuchte Proben die nicht aus dem Respirationstrakt stammten

Patient	Probenart	Tuberkulose	AMTDT	Kultur	Ziehl-Neelsen
J	Pleurapunktat	nein	negativ	negativ	negativ
K	Pleurapunktat	nein	negativ	negativ	negativ
	Pleurapunktat	nein	negativ	negativ	negativ
L	Lymphknoten (mediastinal)	nein	negativ	negativ	negativ
M	Lymphknoten (cervical)	wahrscheinlich	positiv	negativ	negativ
N	Lymphknoten (submandibulär)	nein	negativ	negativ	negativ
O	Liquor	nein	negativ	negativ	negativ
P	Liquor	nein	negativ	negativ	negativ
Q	Magensaft	nein	negativ	negativ	negativ
R	Sperma	nein	negativ	negativ	negativ
S	Blut	nein	negativ	negativ	negativ
T	Harn	nein	negativ	negativ	negativ

Befunde als Rarität gelten und die Spezifität des mikroskopischen Direktnachweises in der vorliegenden Studie 100 % betrug, berichten andere Institutionen, besonders bei Verwendung von fluoreszenzoptischen Nachweisverfahren, von falsch positiven Ergebnissen in bis 55 % der Fälle [6].

Die klassischen Kulturverfahren (Löwenstein-Jensen Medien) sind hochsensitiv und erlauben in vitro noch den Nachweis eines einzigen Keims per ml Probe [11]. In unserer Untersuchung wurde eine Sensitivität von 88 % ermittelt. In der Literatur finden sich entsprechende Vergleichswerte für Löwenstein-Jensen Medien von 62 % bis 90 % [12, 13]. Falsch positive Kulturergebnisse im Rahmen von Probenverwechslungen oder laborinterner Kontamination sind nicht gänzlich auszuschließen, jedoch in der täglichen Routine von untergeordneter Bedeutung. In unserer Studie betrug die Spezifität des kulturellen Nachweisverfahrens 100 %. Diese hohe Spezifität der Kulturverfahren sowie die Möglichkeit der Resistenzbestimmung sind als wesentliche Vorzüge dieser klassischen Untersuchungsmethoden zu werten.

Der seit 1994 kommerziell erhältliche Gen-Probe-Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test (AMTDT) zeigt in unserer Untersuchung eine Sensitivität von 75 % und eine Spezifität von 95 %. Bodmer et al. untersuchten in Bern (Schweiz) 617 Proben und fanden mit einer Sensitivität von 71,4 % sowie einer Spezifität von 99 % ähnliche Ergebnisse [14]. Hingegen ergab die Testung von 594 Proben durch Miller et al. in Miami (Florida) eine Sensitivität von 91 % und eine Spezifität 98 % [15]; Pfyffer et al. fanden in Zürich (Schweiz) Werte von 93,9 % und 97,6 % [16]. Bei Miller et al. war auch die Sensitivität des lichtmikroskopischen Direktnachweises mit 67,3 % deutlich höher. Diese diskrepanten Ergebnisse unterstreichen, daß für eine endgültige Wertung des AMTDT noch weitere Evaluierungen notwendig sind. Es ist jedenfalls bemerkenswert, daß für 2 von 3 Patienten, von denen falsch positive AMTDT Ergebnisse stammten, Tuberkuloseerkrankungen für die Vergangenheit dokumentiert waren. Die klinischen Manifestationen dieser Tuberkulosen lagen bis zu 21 Jahre zurück. Pfyffer et al. hatten unter 589 Patienten 12 mit falsch positiven AMTDT-Ergebnissen gefunden. Dabei waren für 4 Patienten manifeste Tuberkulosen 25 bis 53 Jahre zuvor belegt [16].

Wenngleich man in Einzelfällen wie bei unserem Patienten A über eine mögliche Freisetzung spezifischer Nukleinsäure durch ein malignes Geschehen diskutieren kann, finden sich in der Mehrzahl der Fälle keine Erklärungen für diese positiven AMTDT Resultate bei gleichzeitigem Fehlen von klinisch manifesten Tuberkulosen. Falsch negative Befunde beobachteten wir bei Proben von 4 Patienten mit kli-

nisch und kulturell gesicherter Tuberkulose. Bereits Miller et al. haben festgestellt, daß für den Direktnachweis mittels AMTDT, genauso wie bei klassischen kulturellen Nachweisverfahren, die Einsendung von drei konsekutiv gewonnenen Proben wesentlich ist [15]. Eine einzige Probe mit negativem Testergebnis schließt auch bei diesen neuen molekulargenetischen Methoden eine manifeste ansteckende Tuberkulose nicht aus. Das Mycobacterium tuberculosis-Isolat eines unserer 4 Patienten mit einem falsch negativen AMTDT Ergebnis erwies sich als multiresistent. Pfyffer et al. haben auf das gehäufte Vorkommen von falsch negativen AMTDT Befunden bei Patienten mit Infektionen durch multiresistente Stämme hingewiesen [16]. Eine Erklärung für dieses Phänomen liegt ebenfalls nicht vor.

Entgegen den Empfehlungen des Herstellers haben wir auch Proben untersucht, die nicht aus dem Respirationstrakt stammten. Unsere beschränkten Daten erlauben keine fundierte Beurteilung dieser Anwendungsart, im Hinblick auf den dringenden Bedarf nach einem Schnelltest auch zur Diagnose extrapulmonaler Tuberkulosen sollten unsere erfolversprechenden Resultate Anstoß für diesbezügliche Studien sein.

Zeitgewinn ist zweifelsohne der wesentliche Vorteil der neuen molekulargenetischen Nachweisverfahren. Während die Polymerase-Ketten-Reaktion die in sie gesetzten Erwartungen in der Routinediagnostik bislang nicht erfüllen konnte, fanden wir in der dem AMTDT zugrundeliegenden Verfahren der Self-Sustaining-Sequence-Replication (SSR) ein wertvolles Hilfsmittel für die Tuberkulosedagnostik. Das Vorkommen negativer AMTDT Resultate bei einzelnen Proben von Patienten mit kulturell gesicherter Tuberkulose unterstreicht, daß mehrmalige Probeneinsendungen auch bei diesem molekulargenetischen Verfahren unverzichtbar sind. Dem Kliniker muß bewußt sein, daß beim AMTDT auch falsch positive Befunde möglich und bei Patienten mit abgeheilter Tuberkulose nicht selten sind. Sollten die Materialkosten für diesen Test als Folge eines weitverbreiteten Routineeinsatzes spürbar sinken, so könnte mit diesem kommerziellen Testkit erstmals ein befriedigender Schnelltest für die Routinediagnostik der Tuberkulose zur Verfügung stehen.

Danksagung

Den behandelnden Ärzten sind wir für die Hilfestellung bei der Auswertung von Krankengeschichten zu großem Dank verpflichtet. Dr. W. Prodinger danken wir für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Literatur

1. Allerberger F, Fille M, Streif W, Luef G, Schmutzhard E, Dierich MP (1994) Mikrobiologische Diagnostik der Tuberkulose. *Wien. Med Wschr* 144, 156–162
2. Noordhoek GT, Kolk AHJ, Bjune G, Catty D, Dale JW, Fine PEM, Godfrey-Faussett P, Cho, S-N, Shinnick T, Svenson SB, Wilson, S, van Embden JDA (1994) Sensitivity and specificity of PCR for detection of mycobacterium tuberculosis: a blind comparison study among seven laboratories. *J Clin Microbiol* 32, 277–284
3. Allerberger F, Dierich MP, Luef G, Schmutzhard E (1991) Untersuchung auf Tuberkulostearinsäure. *Dtsch med Wschr* 116, 1813–1814
4. Kadival CV, Kameswaran M, Doshi R, Todiwala SS, Samuel AM (1994) Detection of antibodies to defined M. tuberculosis antigen (38 kDa) in cerebrospinal fluids of patients with tuberculous meningitis. *Zbl Bakt* 281, 95–101
5. Guatelli JC, Whitfield KM, Kwok DY, Barringer KJ, Richman DD, Gingeras TR (1990) Isothermal, in vitro amplification of nucleic acids by multienzyme reaction modeled after retroviral replication. *Proc Natl Acad Sci USA* 87, 1874–1878
6. Roberts GD, Koneman EW, Kim YK (1991) Mycobacterium. In: *Manual of Clinical Microbiology* (Balows A, Hausler WJ, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, Hrsg.). American Society for Microbiology, Washington, D.C., S. 304–339
7. Krebs A (1961) Leitfaden für bakteriologische Untersuchungen bei Tuberkulose. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena
8. Hahn H (1994) Mykobakterien. In: *Medizinische Mikrobiologie* (Hahn H, Falke D, Klein P, Hrsg.). Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, S. 445
9. Des Prez R, Heim CR (1990) Mycobacterial Diseases. In: *Principles and Practice of Infectious Diseases* (Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, Hrsg.). Churchill Livingstone, New York Edinburgh London Melbourne, S. 1877–1906
10. Böttger EC (1991) Die Polymerase-Kettenreaktion in der Diagnostik von Mykobakterien. *Dtsch med Wschr* 116, 777–779
11. Luef G, Allerberger F, Fille M, Telenti A, Chan CY, Cheng AFB, Kaneko K, Dierich MP, Schmutzhard E (1993) Comparison of polymerase chain reaction (PCR), tuberculostearic acid (TBSA) and standard methods for diagnosing tuberculous meningitis. An in-vitro study. *Lab med* 17, 553–558
12. Morgan MA, Horstmeier CD, DeYoung DR, Roberts GD (1983) Comparison of a radiometric method (BACTEC) and conventional culture media for recovery of mycobacteria from smear-negative specimens. *J Clin Microbiol* 18, 384–388
13. Rüsck-Gerdes S, Jährling A (1992) Isolierung von Mykobakterien aus Sputum. *Pneumologie* 46, 107–110
14. Bodmer T, Gurtner A, Schopfer K, Matter L (1994) Screening of respiratory tract specimens for the presence of Mycobacterium tuberculosis by using the Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test. *J Clin Microbiol* 32, 1483–1487
15. Miller N, Hernandez S, Cleary TJ (1994) Evaluation of Gen-Probe Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Test and PCR for direct detection of mycobacterium tuberculosis in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 32, 393–397
16. Pfyffer GE, Kissling P, Wirth R, Weber R (1994) Direct detection of mycobacterium tuberculosis complex in respiratory specimens by a target-amplified test system. *J Clin Microbiol* 32, 918–923