

QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT®-Plus) und latente Tuberkulose

L. Arlettaz, N. Troillet, E. Dayer, Zentralinstitut der Spitäler, Spital Wallis, Sitten

Im ZIS ersetzt das QuantiFERON-TB Gold Plus seit einigen Monaten das QuantiFERON-TB Gold; das ist eine Gelegenheit, einige wichtige Punkte in Bezug auf seinen praktischen Einsatz in Erinnerung zu rufen. Diese Version ist vor kurzem von der US Food Drug Administration zugelassen worden.

Das QFT®-Plus ist ein IGRA, das Akronym von «Interferon-Gamma Release Assay». Es ermöglicht die *in vitro* Evaluation der antituberkulösen Zellimmunität. Das von den Lymphozyten des Patienten produzierte Interferon-Gamma wird mit spezifischen Tuberkuloseantigenen stimuliert und im Überstand der Kultur dosiert.

Ein positiver Test zeigt **nur** an, dass der Patient in Kontakt stand mit *M. tuberculosis*. Er ermöglicht keine Unterscheidung zwischen einer aktiven Infektion, einer latenten Tuberkulose oder einem früheren Kontakt mit dem Keim ohne latente Infektion (keine lebenden Keime).

Grundsatz des Tests

Die Blutentnahme erfolgt in der Arztpraxis in vier gelieferten Spezialröhrchen (Kit steht auf Anfrage zur Verfügung). Die Präanalytik ist wesentlich für zuverlässige Ergebnisse, da es sich um eine Analyse lebender Zellen handelt (*ex vivo*).

In jedem Röhrchen muss dieselbe Menge Vollblut enthalten sein (1ml), damit eine vergleichbare Zahl von Lymphozyten gewährleistet ist. Nach der Entnahme **müssen die Röhrchen 10x gemischt werden** (ohne sie zu schütteln), um die an den Wänden der Röhrchen vorhandenen spezifischen Antigene zu lösen. Die unter Raumtemperatur aufbewahrten Entnahmen werden **spätestens 24 Stunden nach der Blutentnahme** dem Labor zugestellt. Nach einem Tag Inkubation wird der Überstand (Plasma) für die Quantifizierung des von den stimulierten Lymphozyten in jedem Röhrchen produzierten Interferon-Gamma durch ELISA entnommen.

Das violette Röhrchen (Mitogen) enthält ein mitogenes Agens, das die Mehrheit der Lymphozyten zur Produktion von Interferon-Gamma stimuliert (**positive Kontrolle**). Eine grosse Menge bestätigt die Anwesenheit von lebenden und «aktivierbaren» Lymphozyten in den Entnahmen (siehe nebenstehendes Bild).

Das graue Röhrchen (Nil) enthält kein Antigen (**negative Kontrolle**). Die Menge an gemessenem Interferon muss minimal sein (Hintergrundgeräusch). Dieser Wert zeigt die spontane Aktivierung der Lymphozyten an.

Das grüne Röhrchen (TB1) enthält zwei der drei vorgängig im QFT®Gold vorhandenen Antigene, nämlich ESAT-6 und CFP-10. Das Antigen TB7-7 ist aus dem Test entfernt worden. Diese Antigene stimulieren die Lymphozyten T CD4⁺, das spezifische Gedächtnis von Mykobakterien des tuberkulösen Komplexes.

Das gelbe Röhrchen (TB2) enthält ESAT-6 und CFP-10 sowie zusätzliche optimierte Antigene zur Stimulierung der Lymphozyten T CD8⁺.

Indikationen

Der QFT®-Plus ist als Screening-Untersuchung indiziert für das medizinische Personal, das der Tuberkulose exponiert ist, für die Identifikation von Patienten mit Risiko der Reaktivierung (immungeschwächt oder vor der Behandlung mit Immunsuppressiva) und für die Untersuchung der Umgebung nach der Diagnose eines Falls mit aktiver Tuberkulose.

Die benutzten Antigene sind spezifisch für die Mykobakterien des tuberkulösen Komplexes (*M. tuberculosis*, *M. africanum* und *M. bovis*). Im Gegensatz zum PPD (das für den Mantoux benutzt wird) kommen diese Antigene im BCG-Stamm und in den meisten anderen Stämmen von nicht tuberkulösen Mykobakterien nicht vor (mit Ausnahme von *M. marinum*, *M. kansasii* und *M. szulgai*, die zu falsch-positiven Ergebnissen führen können). Der QFT®-Plus ermöglicht also das Screening der latenten Tuberkulose sogar nach der Impfung durch BCG, während der Mantoux falsch-positiv wäre.

Die IGRA dürfen nicht für die Diagnose der aktiven Tuberkulose verwendet werden. Der QFT®-Plus unterscheidet nämlich eine latente Tuberkulose nicht zuverlässig von einer aktiven Form. Die Sensibilität ist für die aktive Tuberkulose aufgrund der variablen temporären Anergie gering.

Vorteile des QFT®-Plus gegenüber dem QFT® Gold

Gegenwärtig existiert nur wenig Literatur über den Vergleich der beiden Tests. Gemäss Hersteller bietet der QFT®-Plus im Allgemeinen eine bessere Sensibilität und ist weniger abhängig von der Anzahl Lymphozyten CD4⁺, vor allem dank des Zusatzes von spezifischen Antigenen für die

CD8⁺. Ausserdem sollte die bevorzugte Stimulation der CD8⁺ (also des Röhrchens TB2) die aktiven Tuberkulosen besser nachweisen und nach der Behandlung vorzugsweise abnehmen.

Mehr als hundert Mantoux-positive Personen, die einen Kontakt mit Tuberkulosepatienten hatten, sind parallel mit beiden Testversionen getestet worden (1). Die Korrelation zwischen den beiden Tests ist gut (Cohen's k: 0.8), mit einer höheren Sensibilität für den QFT®-Plus. Zudem stellen die Autoren fest, dass die spezifische Antwort CD8⁺ bei den Personen mit einer aktiven TB wesentlich höher ist als bei den Patienten mit latenter TB. Diese Ergebnisse sind zwar signifikant für Gruppen, sie scheinen aber im Moment in der Praxis nur schwer für ein bestimmtes Individuum nutzbar zu sein (overlap zwischen den Populationen).

Mehr als 10 kontrollierte Studien zeigen die Vorteile der neuen Version auf, mit neuen Perspektiven für die Stratifizierung des Risikos der Reaktivierung und für die Reaktion auf die Behandlung. Gegenwärtig werden Populationsstudien erstellt.



Interpretation der erhaltenen Ergebnisse

Unbestimmt: wenn die positive Kontrolle (mitogen) negativ wird, bedeutet dies, dass das Röhrchen mit Mitogen keine Produktion von Interferon durch die Zellen des Patienten hervorgerufen hat. Der Test ist nicht interpretierbar und muss wiederholt werden. Das kommt bei bedeutender Lymphopenie und bei immungeschwächten Patienten vor (typischerweise, wenn die Entnahme während einer Behandlung mit hoch dosierten Steroiden erfolgt ist). Der Grund kann auch in präanalytischen Problemen in Bezug auf die Entnahme liegen (schlechte Konservierung der Zellen in den Proben).

Unbestimmt: wenn die negative Kontrolle positiv wird, bedeutet dies, dass die nicht stimulierten Lymphozyten spontan Interferon produzieren (grosses Hintergrundgeräusch). Der Test ist nicht interpretierbar und muss nach einigen Wochen wiederholt werden. Das kommt bei gewissen Infektionskrankheiten, auto-inflammatorischen Krankheiten oder Autoimmunkrankheiten mit erweiterter Stimulation der Lymphozyten in der akuten Phase vor.

Wenn das Ergebnis «schwach positiv» ausfällt, bedeutet dies, dass sich die Produktion von Interferon-Gamma für mindestens eines der beiden Röhrchen TB1 oder TB2 in der grauen Zone, zwischen 0.35 und 2 IU/mL, befindet. Die lymphozytäre Stimulation ist schwach und nahe an der Schwelle, aber gemäss Empfehlungen kann der Test als positiv gewertet werden; die Mengen an Interferon > 1 IU/mL sind üblicherweise reproduzierbar.

Literatur

- [1] L. Barcellini et al. First evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus performance in contact screening. *Eur Respir J* 2016;48(5):1411-1419
- [2] Tuberculose en Suisse, l'essentiel en bref. Novembre 2014 / 1ère révision de la version abrégée.
- [3] T. Prezzemolo et al. Functional signatures of human CD4 and CD8T cell responses to Mycobacterium tuberculosis. *Front Immunol* 2014;5:180
- [4] D. Menzies. IFN-gamma release assays for diagnosis of latent tuberculosis infection. UpToDate version 42, last update Jan 25, 2017. ECDC GUIDANCE
- [5] Use of interferon-gamma release assays in support of TB diagnosis. https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/1103_GUI_IGRA.pdf

Kontaktpersonen

Dr. med. Lionel Arlettaz
PD Dr. med. Eric Dayer
Prof. Dr. med. Nicolas Troillet

lionel.arlettaz@hopitalvs.ch
eric.dayer@hopitalvs.ch
nicolas.troillet@hopitalvs.ch