

## QuantiFERON®-Tb-Gold Plus (IGRA) zum Nachweis einer Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis*

Der QuantiFERON®-Tb-Gold Plus dient dem immunologischen Nachweis einer Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis*. Es wird sowohl die latente als auch die aktive Infektion angezeigt.

Der in vitro-Vollblutstimulationstest wurde von der australischen Firma Cellestis in Melbourne entwickelt. Er ist für die angegebene Indikation von der FDA geprüft. Der CE-zertifizierte Bluttest wird, dem Tuberkulin-Test (Tine-Test) gleichwertig, für die Diagnostik empfohlen.

### Indikationen für den Test sind:

- Nachweis einer Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis*-complex
- Ausschluss einer latenten Infektion vor eingreifenden immunsuppressiven Behandlungen (z. B. mit Anti-TNF-Antikörpern, Transplantation).
- Umgebungsuntersuchungen von Patienten mit aktiver Tuberkulose

### Methode

Heparinisiertes Vollblut wird zusammen mit den beiden spezifischen Peptiden aus *Mycobacterium tuberculosis* ESAT-6 und CFP-10 über 24 Stunden inkubiert. Falls in der Blutprobe Gedächtnis-T-Lymphozyten für diese Peptide vorhanden sind (dieses ist auch bei einer sehr lange zurückliegenden Infektion mit *Mykobakterium tuberculosis* der Fall), wird von diesen Zellen nach Kontakt mit den spezifischen Antigenen Interferon- $\gamma$  gebildet und in den Überstand abgegeben. Die quantitative Messung des freigesetzten Interferon- $\gamma$  erfolgt mittels eines hochempfindlichen Enzym Immunoassays. Begleitende obligate Positiv- und Negativkontrollen sichern die Auswertbarkeit und die Validität des Testergebnisses. Der QuantiFERON®-Tb-Gold Plus hat seine Zuverlässigkeit in zahlreichen klinischen Studien bewiesen, in denen insgesamt mehr als zweitausend Personen getestet wurden.

### Material

10 ml Heparinblut

Das Blutentnahme- und Versandmaterial wird vom Labor kostenfrei zur Verfügung gestellt. Ein Probeneingang im Labor innerhalb von 24 Stunden (24h) muss gewährleistet sein. Das Blut sollte bei Raumtemperatur gelagert und transportiert werden. Bitte nutzen Sie dafür unseren Fahrdienst (+49 (0)331 280 95-0).

### Anforderung auf dem Überweisungsschein

Die Anforderung auf dem Überweisungsschein lautet **Quantiferon-Tb-Gold Plus**.

Bei gesetzlich Versicherten Patienten werden die Kosten für den Nachweis einer behandlungsbedürftigen Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis*-complex bei folgenden Indikationen übernommen (EBM-Nummer 32670):

- bei chronisch-entzündlichen, immunmodulierenden Erkrankungen vor der Erstgabe von TNF-Alpha-Inhibitoren (Biologicals)
- bei HIV-Infektion zur Therapieentscheidung
- vor Einleitung einer Dialysebehandlung bei chronischer Niereninsuffizienz
- vor Durchführung einer Organtransplantation (Niere, Herz, Lunge, Leber, Pankreas)

Bei Angabe der Budgetbefreiungs-Kennziffer 32006 (Meldepflichtige Erkrankung) ist der Auftrag budgetbefreit.

### Präanalytik

Bis mindestens 14 Tage vor der Blutentnahme sollte eine immunsuppressive (zytostatische) Behandlung des Patienten abgeschlossen sein. Andernfalls ist es möglich, dass der Test auf Grund zu schwacher Positivkontrollen nicht auswertbar ist.

| IMD<br>Labor Berlin                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |             | Ärztlicher Befundbericht |                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------------------|-----------------|
| Untersuchung                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Ergebnis    | Einheit                  | Referenzbereich |
| <b>Quantiferon-Tb-Gold Plus (IGRA) i. HBL</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |             |                          |                 |
| Der Test quantifiziert durch Messung der Tb-Antigenstimulierten IFN $\gamma$ -Sekretion die zellvermittelte Immunreaktion auf eine Tuberkuloseinfektion. Das TB-Antigen enthält die TB-spezifischen Peptide ESAT-6 und CFP 10. Der TB-Antigen (C4) - Ansatz enthält dabei Peptide, die eine Immunreaktion in CD4-positiven T-Helferzellen auslösen. Der TB-Antigen (CD4+CD8) - Ansatz erfasst zusätzlich die Immunreaktion der CD8-Zellen. |             |                          |                 |
| TBk-Peptid (CD4)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>3,23</b> | IU/ml                    | < 0,35          |
| TBk-Peptid (CD4 + CD8)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <b>3,68</b> | IU/ml                    | < 0,35          |
| Mitogenkontrolle                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | > 4,00      | IU/ml                    | > 0,50          |
| <b>Interpretation</b><br>Der Befund zeigt eine positive Reaktion und spricht somit für das Vorliegen einer stattgefundenen Infektion mit <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .<br><b>Hinweis:</b> Mit dem QuantiFERON-Tb-Gold Plus kann nicht zwischen einer latenten Infektion und einem aktiven Stadium unterschieden werden. Bei Verdacht auf aktive Tuberkulose empfehlen wir die mikrobiologische und molekularbiologische Diagnostik.  |             |                          |                 |

Abb.1 Musterbefund

### Beurteilung

#### Negatives Testergebnis:

Unter den genannten Voraussetzungen kann mit einem negativen Testergebnis eine Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis* ausgeschlossen werden. Lediglich bei Patienten mit chronischer HIV-Infektion oder anderen Ursachen für eine schwere Immundefizienz muss die aktuelle Immunkompetenz besonders berücksichtigt werden. Eine anamnestiche BCG-Impfung ruft kein positives Ergebnis im QuantiFERON®-Tb-Gold Plus hervor.

#### Positives Testergebnis:

Ein positives Testergebnis beweist eine frühere Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis*. Eine Unterscheidung zwischen

Bei fachlichen Fragen zu dieser Analytik helfen Ihnen unsere Kollegen des IMD Berlin unter +49 (0)30 770 01-220 gerne weiter.  
Bei allen anderen Fragen wenden Sie sich bitte an die Kollegen des IMD Potsdam unter +49 (0)331 28095-0.

einer (in den meisten Fällen) latenten und einer aktiven Tuberkulose ist mit dem QuantiFERON®-Tb-Gold Plus jedoch nicht möglich. Es behalten deshalb alle aktuellen Empfehlungen für die bildgebende, mikrobiologische und molekularbiologische Diagnostik bei klinischem Verdacht auf eine aktive Tuberkulose ihre volle Gültigkeit.

#### Mikrobiologische und molekularbiologische Diagnostik der Tuberkulose

Wie oben dargestellt, dient der QuantiFERON®-Tb-Gold Plus nicht dem Direktnachweis der Erreger. Eine Unterscheidung zwischen einer (in den meisten Fällen) latenten und einer aktiven Tuberkulose ist mit dem QuantiFERON®-Tb-Gold Plus nicht möglich.

Bei jedem Verdacht auf eine aktive Tuberkulose sollte deshalb ein Nachweis der Erreger mittels:

- Mikroskopie und
- Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT, z. B. PCR) und
- Kultur

angestrebt werden.

Nach wie vor wird bei Verdacht auf Lungen- bzw. Urogenitaltuberkulose empfohlen, mindestens 3 Proben zu untersuchen (MiQ-Richtlinie 5 der DGHM). Diese Empfehlung gilt

auch für die Untersuchung mittels Nukleinsäure-Amplifikationstechniken, da die Sensitivität einer Untersuchung nicht ausreichend ist (siehe Tabelle) und Kontaminationen ausgeschlossen werden müssen.

#### Kultur

Der kulturelle Nachweis erfolgt auf drei verschiedenen Nährböden. Die Flüssigkultur kann als „Schnellkultur“ betrachtet werden. Positive Befunde sind nach 4 Tagen – 6 Wochen (ausnahmsweise 10 Wochen) Bebrütung möglich. Mikroskopisch negative Proben mit M.-tuberculosis-Komplex sind im Durchschnitt nach 14 Tagen positiv. Die Proben sollten bis zur Untersuchung nicht älter als 24 Stunden sein und stets im Kühlschrank gelagert werden, um Verunreinigung der Kulturen zu verhindern.

Es wird empfohlen, neben den Amplifikationstechniken zur Erhöhung der Sensitivität, das Material immer auch kulturell zu untersuchen. Dann ist bei Erregernachweis auch eine Resistenzbestimmung durchführbar. Mit der Kultur können auch nichttuberkulöse Mykobakterien erfasst werden.

Zur Identifizierung der angezüchteten Bakterien steht eine effektive Methode mittels PCR zur Verfügung, mit der die Artdifferenzierung sowohl innerhalb des Mykobakterium tuberculosis-complexes als auch der wichtigsten nichttuberkulösen Mykobakterien schnell gelingt.

Tab. 1 Vergleich von Mikroskopie und Nukleinsäure-Amplifikationstechnik aus Originalproben

|                                      | Mikroskopie                                               | NAT                                                 |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Ergebnis                             | am nächsten Arbeitstag bzw. bei „Cito“-Anforderung sofort | innerhalb von 3 Arbeitstagen                        |
| Sensitivität im Vergleich zur Kultur | ca. 30 %                                                  | ca. 70-80 %                                         |
| Spezifität                           | alle Mykobakterien, Nocardia (?)                          | M.-tuberculosis-Komplex                             |
| Indikation                           | alle Proben außer Urin und Ejakulat                       | bei dringendem Tbc-Verdacht bzw. aus Liquor, Gewebe |

#### Literatur

- Katial RK, Hershey J, Purohit-Seth T, Belisle JT, Brennan PJ, Spencer JS, Engler RJ. Cell-mediated immune response to tuberculosis antigens: comparison of skin testing and measurement of in vitro gamma interferon production in whole-blood culture. Clin Diagn Lab Immunol. 2001; 8: 339-45.
- Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. Am J Respir Crit Care Med. 2004 170: 65-9.
- Lopez-Vidal Y, de Leon-Rosales SP, Castanon-Arreola M, Rangel-Frausto MS, Melendez-Herrada E, Sada-Diaz E. Response of IFN-gamma and IgG to ESAT-6 and 38 kDa recombinant proteins and their peptides from Mycobacterium tuberculosis in tuberculosis patients and asymptomatic household contacts may indicate possible early-stage infection in the latter. Arch Med Res. 2004; 35: 308-17.
- Brock I, Munk ME, Kok-Jensen A, Andersen P. Performance of whole blood IFN-gamma test for tuberculosis diagnosis based on PPD or the specific antigens ESAT-6 and CFP-10. Int J Tuberc Lung Dis. 2001; 5: 462-7.