

24 Interferon- γ -Release-Assays (IGRAs)

Claus Kroegel †

24.1 Steckbrief

Der Interferon- γ -Release-Assay (IGRA) oder T-Zell-Interferon- γ -Release-Assays (TIGRA) dient der Diagnose oder dem Ausschluss einer stattgehabten Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis* einschließlich *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium flavescens* und *Mycobacterium africanum* (MTB). Er hat heute den Tuberkulin-Hauttest (THT) ersetzt (s. Kap. 23). Mit diesem In-vitro-Test werden mykobakterienspezifisch sensibilisierte Lymphozyten nach Kontakt mit den Antigenen des Mykobakteriums ESA6, CFP-10 und B.7.7 aktiviert und anhand der Synthese von Interferon- γ nachgewiesen. Der IGRA ist spezifischer als der Tuberkulintest, erfasst jedoch auch Infektionen mit den nicht tuberkulösen (früher „atypische“) Mykobakterien *kansasii*, *marinum*, *flavescens* und *szulgai*.

24.2 Synonyme

- T-Zell-Interferon- γ -Release-Assay (TIGRA)

24.3 Keywords

- In-Vitro-Tests, Labortests, Labornachweisverfahren, Tuberkulose, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium-tuberculosis*-Komplex, nicht tuberkulöse Mykobakteriosen, T-Zell-Interferon- γ -Release-Assay, TIGRA, Interferon- γ -Release-Assay, IGRA, T-SPOT-TB-Test, QuantiFERON-TB-Gold-Test, ESAT-6, CFP-10, TB 7.7, immunsuppressive Therapie, TNF α -Inhibitoren, Interpretation

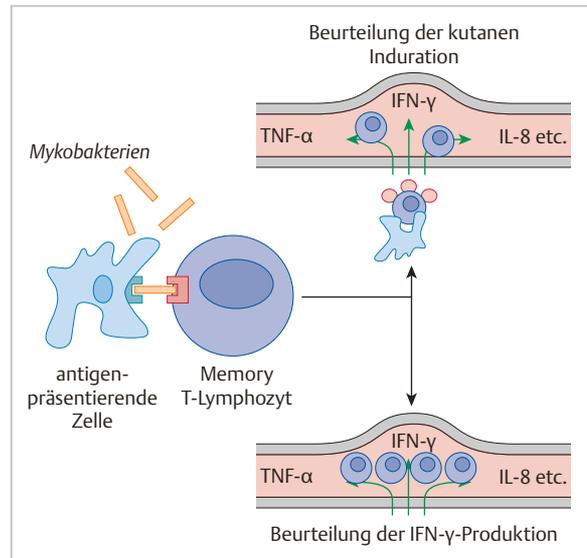


Abb. 24.1 Grundlagen des Tuberkulin-Hauttests (THT) und des Interferon- γ -Release Assays (IGRA). (Quelle: Kroegel C. T-Zell-Interferon- γ -Release-Assays (TIGRAs). In: Kroegel C, Costabel U, Hrsg. Klinische Pneumologie. 1. Auflage. Stuttgart: Thieme; 2013. doi:10.1055/b-002-57146)

Hintergrundwissen



Der *Mycobacterium-tuberculosis*-Komplex

Der menschliche Tuberkuloseerreger *Mycobacterium tuberculosis* wird aufgrund der genetischen Verwandtschaft mit *Mycobacterium africanum* (Variante von *Mycobacterium tuberculosis*, die in Afrika als westafrikanischer Subtyp I und ostafrikanischer Subtyp II vorkommt), *Mycobacterium bovis* (Erreger der Rindertuberkulose), *Mycobacterium caprae* (Erreger der Ziegentuberkulose und Tuberkulosen verschiedener anderer Tiere), *Mycobacterium microti* (Erreger der Wühlmaustuberkulose) und *Mycobacterium pinnipedii* (Robbentuberkulose) zum sog *Mycobacterium-tuberculosis*-Komplex zusammengefasst. Die Spezies dieses Komplexes unterscheiden sich nur in wenigen phänotypischen Merkmalen und besitzen identische 16S rRNA-Gen- und ITS-Sequenzen. Ihre DNA-DNA-Homologie liegt bei 99,9–100 %.

24.4 Definition

- Der Interferon- γ -Release-Assay (IGRA) oder T-Zell-Interferon- γ -Release-Assay (TIGRA) ist ein Test, mit dem spezifisch die Freisetzung von Interferon- γ aus mykobakteriensensibilisierte Lymphozyten gemessen wird. Er dient dem Nachweis einer durchgemachten Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) (► Abb. 24.1).

Merke



Neben *Mycobacterium tuberculosis*, *bovis* und *africanum* erfasst ein TIGRA auch vorausgegangene Infektionen mit *Mycobacterium kansasii*, *marinum*, *flavescens* und *szulgai*.

24.5 Einordnung der Methode im Vergleich zu weiteren Methoden

- TIGRAs haben eine Reihe von Vorteilen gegenüber dem THT (► Tab. 24.1):
 - einmalige Vorstellung zur Blutabnahme
 - ein Ergebnis innerhalb von 24 h
 - Interpretation des Ergebnisses ohne anamnestic Angaben
 - die meisten atypischen Mykobakterien werden vom TIGRA nicht erfasst (**Cave:** Ausnahmen: *Mycobacterium kansasii*, *marinum*, *flavescens*, *szulgai*).
 - reagiert nicht auf vorausgegangene BCG-Impfungen
 - bei Kindern und Kleinkindern durchführbar
 - bei Patienten mit Immunschwäche (z. B. HIV-Infektion) einsetzbar
 - objektive, automatisierte Bewertung
 - höhere Sensitivität (70 vs. 85 %) und Spezifität als THT



Tab. 24.1 Unterschiede zwischen TIGRA und Tuberkulin-Hauttest.

Interferon- γ -Release-Assay (IGRA)*	Tuberkulin-Hauttest (THT)
in vitro	in vivo
spezifische Antigene	weniger spezifische Antigene
keine Boosterung	Boosterung
1 Patientenvisite	2 Patientenvisiten
Laborkosten	Anschaffungskosten für Tuberkulin
minimale Test-Variabilität (standardisierte Durchführung des Tests)	höhere Test-Variabilität (nicht standardisierte Durchführung des Tests)
Resultate in 2 Tagen	Resultate in 2–3 Tagen
objektive (automatisierte) Bewertung	subjektive Bewertung

*wiederholte Probengewinnung kann möglich werden

Merke

Ein IGRA ersetzt nicht die Erregerdiagnostik mittels Mikroskopie, PCR und Kultur mit Resistenzprüfung.

24.6 Indikationen

Der Test eignet sich besonders zum Ausschluss einer Mycobacterium-tuberculosis-Infektion bei folgenden Situationen:

- Umgebungsuntersuchung bei nachgewiesenen Fällen mit offener Tuberkulose
- Screening von Risikogruppen, wie z. B. HIV-Patienten, immunsupprimierte Personen, Drogenabhängige, Personen aus Risikogebieten (Afrika)
- Screening von Mitarbeitern im Gesundheitswesen auf latente Mycobacterium-tuberculosis-Infektion
- Nachweis einer latenten Mycobacterium-tuberculosis-Infektion vor einer immunsuppressiven Therapie (TNF α -Inhibitoren) (► Abb. 24.2) (► Tab. 24.2).

24.7 Kontraindikationen

- Kontraindikationen bestehen nicht

24.8 Aufklärung und spezielle Risiken

- keine speziellen Risiken

24.9 Personal und Material

- Für den Test werden 9 ml (bei Kindern ca. 3 ml) frisches, heparinisiertes Vollblut (kommerzielle Abnahmeröhrchen, z. B. von Sarstedt) benötigt.
- Der Probentransport erfolgt bei Raumtemperatur.
- Das biologische Material sollte innerhalb von 24 h im Labor verarbeitet werden.
- Der Test lässt sich prinzipiell auch mit Zellen der BAL und des Pleurapunktats durchführen.
- Material: heparinisertes Blut oder andere Körperflüssigkeiten, kommerziell erhältliche Testsysteme.

24.10 Durchführung

- Nachgewiesen werden die Mycobacterium-tuberculosis-spezifischen T-Zellen im peripheren Blut (► Tab. 24.3).
- Zu den spezifischen Antigenen des Mycobacterium tuberculosis gehören ESAT-6 (Early-Secretory-Antigenic-Target-6), CFP-10 (Culture-Filtrate-Protein-10) und TB 7.7 (Tuberculosis 7.7 im TB-Quantiferon-Test).
- Diese werden von mononukleären Zellen (Effektor-Gedächtnis-T-Zellen) erkannt und induzieren über eine Zellaktivierung u. a. die Sekretion von Interferon- γ (IFN- γ).
- TIGRAs machen sich diese Reaktion zunutze und weisen die Interferon- γ -produzierenden Zellen quantitativ nach.

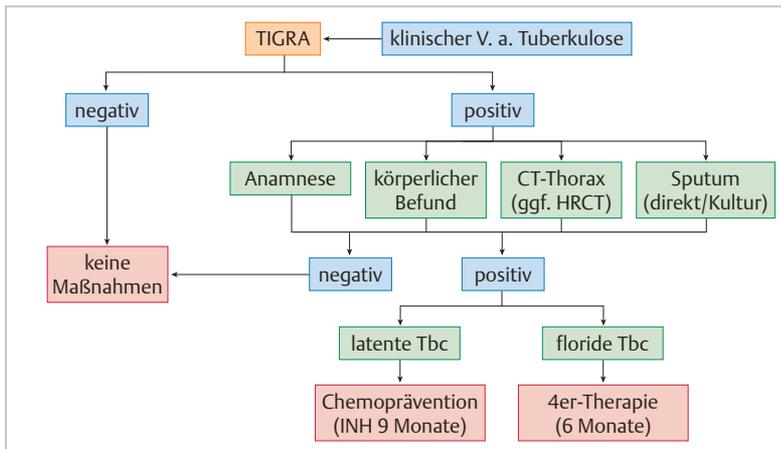


Abb. 24.2 Vorgehen zum Ausschluss einer latenten oder floriden Tuberkulose vor Anti-TNF α -Therapie. (Quelle: Kroegel C. T-Zell-Interferon- γ -Release-Assays (TIGRAs). In: Kroegel C, Costabel U, Hrsg. Klinische Pneumologie. 1. Auflage. Stuttgart: Thieme; 2013. doi:10.1055/b-002-57146)

Tab. 24.2 Unterschiede zwischen latenter und manifester Lungentuberkulose. Die Diagnose einer latenten Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis* (LTBI) beruht auf dem Nachweis einer vorausgegangenen Infektion (mittels THT oder TIGRA), ohne dass jemals eine ausreichende (komplette) antituberkulöse Therapie durchgeführt wurde.

manifeste Lungentuberkulose	latente Lungentuberkulose (subklinische Infektion)
THT und IFN- γ positiv	THT und IFN- γ positiv
suggestive radiologische Lungenbefunde	keine radiologisch auffälligen Lungenbefunde
Husten möglich	kein Husten
Hämoptysen möglich	keine Hämoptysen
B-Symptomatik möglich	keine B-Symptomatik
mikrobiologische Diagnostik aus Sputum, BAL und Biopsie (Mikroskopie, PCR, Kultur) positiv*	mikrobiologische Diagnostik aus Sputum, BAL und Biopsie (Mikroskopie, PCR, Kultur) negativ

*wiederholte Probengewinnung kann nötig sein

Tab. 24.3 Unterschiede zwischen den beiden IGRA-in-vitro-Testverfahren T-SPOT.-TB-Test und QuantiFeron-TB-Gold-Test zur Diagnostik pulmonaler bzw. allergischer Krankheiten.

Verfahren	T-SPOT.-TB-Test	QuantiFeron-TB-Gold-Test
Hersteller	Oxford Immunotec	Cellestis
Probe	PBMC	Vollblut
Messprinzip	Enzyme-Linked-Immunesorbent-Assay (ELISA)	Enzyme-Linked-Immunespot (ELISpot)
max. Latenz bis Testung	16–24 h bei 37 °C	8 h bei 37 °C
verwendete Antigene	<ul style="list-style-type: none"> • Early-Secretory-Antigenic-Target-6 (ESAT-6) • Culture-Filtrate-Protein-10 (CFP-10) 	<ul style="list-style-type: none"> • Early-Secretory-Antigenic-Target-6 (ESAT-6) • Culture-Filtrate-Protein-10 (CFP-10) • Tuberculosis 7.7 (TB 7.7)
Stimulation	In-vitro-Stimulation von isolierten Lymphozyten mit ESAT-6 und CFP-10	In-vitro-Stimulation in ESAT-6-, CFP-10- und TB7.7-beschichteten Röhrchen
Zielparameter (Einheit)	IFN- γ -produzierende T-Lymphozyten („Spots“ pro 250 000 Zellen)	Konzentration von sezerniertem IFN- γ (IU/ml)
positiver Test	Zahl der „Spots“ ≥ 6 pro 250 000 Zellen	IFN- γ -Konzentration $\geq 0,35$ IU/ml
Sensitivität	87–88 %	81–84 %
intermediäre Ergebnisse	3 % der Tests	11 % der Tests, v. a. bei Immunsuppression und bei Kindern < 5 Jahren
nicht interpretierbar	<ul style="list-style-type: none"> • Positiv-Kontrolle < 20 „Spots“/250 000 Zellen • Negativ-Kontrolle > 20 „Spots“/250 000 Zellen 	<ul style="list-style-type: none"> • Positiv-Kontrolle – Negativ-Kontrolle $< 0,5$ IU/ml plus • TB-Ag-Test – Negativ-Kontrolle $< 0,5$ IU/ml oder • TB-Ag-Test – Negativ-Kontrolle $< 25\%$ oder • Negativ-Kontrolle $> 8,0$ IU/ml

- Jeder Test wird durch eine Null-Kontrolle (unstimulierte Zellen) und Positiv-Kontrolle (mitogenstimulierte Zellen) validiert.
- ESAT-6 und CFP-10 werden von *Mycobacterium tuberculosis*, *bovis* und *africanum* (Tuberkulose-Komplex) und nicht-tuberkulösen Mykobakterien (z. B. *M. kansasii*, *M. marinum*) exprimiert.

Die Blutentnahme erfolgt wie beschrieben. Je nach Ergebnis lassen sich folgende Schlussfolgerungen ziehen (► Tab. 24.4):

- **positives Ergebnis:**
 - weist eine immunologische Sensibilisierung gegenüber *Mycobacterium tuberculosis* (sowie *Mycobacterium kansasii*, *marinum* und *szulgai*) nach.
 - Eine Aussage zu der Aktualität des Kontaktes lässt sich nicht ableiten.

Tab. 24.4 Interpretation der Ergebnisse von Interferon- γ -Release-Assays (IGRAs).

Test	TIGRA-positiv	TIGRA-negativ
primäre Diagnostik	vorausgegangene Sensibilisierung mit einem mykobakteriellen Antigen 6–8 Wochen bis zu mehreren Jahren vor dem Test	keine oder sehr lange (> 5–10 Jahre?) zurückliegende Sensibilisierung mit einem mykobakteriellen Antigen
Verlaufskontrollen	keine Erfahrungen; mit einer Persistenz der Sensibilisierung ist über viele Jahre (5–10 Jahre?) zu rechnen	weiterhin keine oder eine sehr lang zurückliegende Sensibilisierung mit dem mykobakteriellen Antigen
Konversion (TIGRA-negativ zu TIGRA-positiv)	spricht für eine mykobakterielle Infektion im Zeitraum seit der vorausgegangenen Untersuchung (mit negativem Ergebnis)	
falsche Befunde	Falsch positive Ergebnisse sind selten.	Falsch positive Ergebnisse kommen vor.

- negatives Ergebnis:
 - schließt eine Infektion in einem Zeitraum von mehreren Wochen vor dem Test („Test-negatives Fenster“) von mehreren Jahren (> 10 Jahre) mit Wahrscheinlichkeit aus.
 - Das Test-negative Fenster besteht unmittelbar nach einer Infektion über 6–8 Wochen (vergleichbar dem THT).
 - Wie lange der Test nach Exposition/Infektion positiv bleibt ist unbekannt.
 - Falsch negative Ergebnisse kommen vor. Ursachen hierfür sind Immunsuppression (> 5% der Zellen bei Autoimmunerkrankung oder Dialyse sind nicht stimulierbar), Lymphopenie, verzögerte Verarbeitung des Blutes oder Blutkoagulation.

Merke



Ein wiederholt negatives Ergebnis (2 Untersuchungen im Abstand von 2 Monaten) mit dem T-SPOT.TB macht eine Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis* unwahrscheinlich.

- Unklar ist die Aussagekraft der IGRA-Testsysteme bei immunsupprimierten Patienten (z. B. bei fortgeschrittener HIV-Infektion, bei RA vor Anti-TNF α -Therapie, nach Stammzell- oder Organtransplantationen oder bei chronischer Niereninsuffizienz). Vermutlich wird hierdurch jedoch die Sensitivität des Testes deutlich reduziert.
- Nach einem TBC-Kontakt besteht eine Latenz von ca. 6–8 Wochen (vergleichbar dem THT), bis sich eine spezifische zelluläre Immunreaktion entwickelt hat.

24.11 Mögliche Komplikationen

- Bis auf eine lokale Reaktion im Rahmen der Blutentnahme sind keine Komplikationen der Methode bekannt.

24.12 Besonderheiten bei bestimmten Personengruppen

24.12.1 Besonderheiten bei Schwangeren

- Der Test ist bei Schwangeren ohne Einschränkungen durchführbar.

24.12.2 Besonderheiten bei Kindern und Jugendlichen

- Der Test ist bei Kindern ohne Einschränkungen durchführbar.

24.12.3 Besonderheiten bei weiteren Personengruppen

- Bei immunsupprimierten Patienten ist die Sensitivität um ca. 20–30% herabgesetzt.

24.13 Literatur

24.13.1 Literatur zur weiteren Vertiefung

- [1] Schaberg T, Bauer T, Folke Brinkmann F et al., S2k-Leitlinie: Tuberkulose im Erwachsenenalter. Pneumologie 2017; 71: 325–397
- [2] Suárez I, Fünfer SM, Kröger S et al. The diagnosis and treatment of tuberculosis. Dtsch Arztebl Int 2019; 116: 729–735
- [3] Connell TG, Ritz N, Paxton GA et al. A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB gold and T-SPOT.TB in children. PLoS One 2008; 3: e2624
- [4] Kampmann B, Whittaker E, Williams A et al. Interferon-gamma release assays do not identify more children with active tuberculosis than the tuberculin skin test. Eur Respir J 2009; 33: 1374–1382
- [5] Starke JR, Committee On Infectious D. Interferon-gamma release assays for diagnosis of tuberculosis infection and disease in children. Pediatrics 2014; 134: e1763–1773

24.13.2 Wichtige Internetadressen

- Robert Koch-Institut: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Tuberkulose.html