



Neues und Altes zur immunologischen Diagnostik der Tuberkulose

Mit der Einführung von TNF α -Inhibitoren zur Behandlung verschiedener Entzündungserkrankungen gewinnt der Nachweis einer latenten Tuberkulose zunehmend an Bedeutung, da unter dieser Therapie eine Reaktivierung einer latenten Tuberkulose auftreten kann. In den letzten Jahren wurden Testverfahren entwickelt, welche M. tuberculosis-spezifische T-Zellen in vitro nachweisen können.

Die Tuberkulose (TB) war bereits im Altertum, unter dem Begriff der «Phtisis» (griechisch «Schwund»), gefürchtet, und Hippokrates erklärte sie um 460 vor Christus gar zur häufigsten schwerwiegenden Erkrankung seiner Zeit. Im 19. und frühen 20. Jahrhundert erreichte die TB in städtischen Armenvierteln Europas endemische Ausmasse. Im Jahre 1880 wurden alleine in Deutschland 50 Prozent der Todesfälle bei 15- bis 40-jährigen auf TB zurückgeführt, und in Frankreich verursachte die TB im Jahre 1918 ein Sechstel aller Todesfälle. Der erste wirkliche Durchbruch in der Therapie kam 1944, als erstmalig ein Patient mit TB mit Hilfe eines Medikaments, Streptomycin, geheilt werden konnte. Die Euphorie hielt lange an, und bis vor nicht allzu langer Zeit bestand die Hoffnung, die TB könne aus unseren Breitengraden endgültig verbannt werden. In den 80er-Jahren stagnierte dann aber zunächst die Anzahl der jährlichen Neuerkrankungen, welche zuvor stetig abgefallen war, und stieg in der Folge sogar kontinuierlich an.

Heute schätzt die WHO die Zahl der an TB neu-erkrankten Patienten auf acht Millionen pro Jahr. 95 Prozent dieser Patienten stammen aus Entwicklungsländern, drei Millionen Menschen sterben pro Jahr an der TB.

TNF-alpha und Latenzstadium der Tuberkulose

Tuberkelbazillen haben die spezielle Eigenschaft, über Jahrzehnte im Körperinnern, in Makrophagen, zu überleben, ohne dabei Symptome einer TB zu verursachen. Schätzungen, die auf Untersuchungen mit dem Tuberkulin-Hauttest (TST) beruhen, gehen davon aus, dass weltweit zwei Milliarden Menschen latent mit M. tuberculosis (Mtb) infiziert sind. Fünf bis zehn Prozent dieser Population erkranken während des Lebens an symptomatischer («aktiver») TB. Die übrigen 90 bis 95 Prozent verdanken die lebenslange Kontrolle der latenten Mtb-Infektion vor allem ihrem zellulären Immunsystem. Bei Patienten mit primären oder sekundären Defekten der zellulären Immunität, zum Beispiel durch einen Mangel an CD4+ T-Lymphozyten bei AIDS oder aufgrund von Defekten der Interleukin-12/Interferon-gamma-Achse, tritt eine TB häufiger auf und verläuft deutlich schwerer als bei Immunkompetenten. Neben dem Interferon-gamma ist der Tumor-Nekrose-Faktor Alpha (TNF-alpha) wohl der wichtigste Entzündungsbotenstoff bei der zellulären Kontrolle von Mtb. IFN-gamma und TNF-alpha sind beide essenziell für die Induktion und Bildung von Riesenzellgranulomen und somit für das «Containement» (salopp übersetzt «Einkerkern») der Tuberkelbazillen.

Stephan Gadola

- | Medizinstudium in Basel
- | Ausbildung in Innerer Medizin und in Klinischer Immunologie am Bruderholzspital sowie am Deutschen Vaskulitis-/Kollagenosezentrum der Rheumaklinik Bad Bramstedt (Professor W. L. Gross) und am Inselspital Bern
- | Forschungsaufenthalt in Oxford 1999-2001
- | Derzeit klinischer Oberarzt und Forschungsleiter an der Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie/Allergologie am Inselspital Bern. Seit 2003 Inhaber einer Max Cloetta Fellowship.
- | Habilitation in Rheumatologie, speziell Klinische Immunologie an der Universität Bern Januar 2007. Pfizer-Preis für Immunologische Grundlagenforschung Februar 2007.
- | Ab August 2007 Lehrstuhl Immunologie an der Universität in Southampton (GB)

In der Behandlung entzündlicher rheumatischer Erkrankungen ist es heute schon zur Selbstverständlichkeit geworden, die Wirkung von TNF-alpha mit Hilfe von rekombinanten anti-TNF-alpha-Antikörpern oder löslichen TNF-alpha-Rezeptoren in vivo zu antagonisieren. Die wichtigste «Nebenwirkung» dieser hochwirksamen Therapieform ist die Reaktivierung einer TB. Häufig fehlen unter Behandlung mit solchen TNF-alpha-Hemmern die Warnsymptome einer aktiven TB wie Fieber, Müdigkeit, Schläppheit, Gewichtsverlust. Die Diagnose wird deshalb typischerweise spät gestellt, und der Verlauf der TB ist bei diesen Patienten häufig disseminiert und fulminant.

Die Diagnose beziehungsweise der Ausschluss einer latenten TB vor Beginn einer TNF-alpha-Hemmer-Behandlung ist deshalb wichtig. Bis vor kurzer Zeit wurde hierfür der Tuberkulin-Hauttest (TST) verwendet. Im Folgenden werden moderne Testverfahren dem TST gegenübergestellt.

Der Tuberkulin-Hauttest (TST) – Pro und Contra

Robert Koch, der Entdecker von M. tuberculosis, entwickelte 1890 einen Glycerin-Extrakt aus Tuberkelbazillen, den er Tuberkulin nannte. 1907 fertigte Pirquet daraus einen Test zur Erkennung der Tuberkulose. Der heutzutage noch vielerorts

benutzte Mantoux-Test wurde 1908 von Felix Mendel auf Basis desselben Prinzips, unter Verwendung eines attenuierten *M. bovis*-Stammes, Bacille Calmette-Guérin (BCG) entwickelt. Der BCG-Stamm war bereits zuvor auch zu Impfzwecken eingesetzt worden. Beim Mantoux-Test (Tuberkulin-Hauttest) wird demnach ein Mykobakterien-Extrakt unter die Haut appliziert und die lokale Reaktion des zellulären Immunsystems, das heisst Ausmass von Rötung und Schwellung, nach 48 bis 72 Stunden bestimmt (in Millimetern).

Der TST war der erste immundiagnostische Test überhaupt. Seine Popularität verdankt er aber auch der Tatsache, dass er ohne komplizierte Hilfsmittel überall auf der Welt durchgeführt werden kann.

Allerdings genügt der TST heute nicht mehr den Ansprüchen an ein modernes Diagnostikum. Augenfällige Nachteile des TST sind die Notwendigkeit eines zweiten Arztbesuchs nach 48 bis 72 Stunden. In zirka 30 Prozent der Fälle wird das Testergebnis nicht abgelesen: die Fehleranfälligkeit bei der Ausmessung von Rötung und Schwellung und der invasive Charakter des Tests mit Risiko einer Hautnekrose bei hyper-ergen (ausserordentlich stark reagierenden) Patienten. Das Kernproblem beim TST liegt allerdings beim Design: Zum einen fehlen beim TST eine Positiv- wie auch eine Negativkontrolle. Insbesondere die fehlende Negativkontrolle ist problematisch, da die Diagnose einer latenten TB bei Patienten mit einer gestörten zellulären Immunabwehr unwissentlich verpasst wird. In einer spanischen Studie wurden 17 Fälle einer TB-Reaktivierung unter TNF-alpha-Blockade untersucht. Der TST vor Therapie war negativ bei fünf von elf Patienten, die später eine extrapulmonale oder disseminierte Tuberkulose entwickelten (und bei weiteren fünf dieser elf Patienten wurde der TST gar nicht abgelesen!).

Beim TST wird ein kleines Volumen der Tuberkulin-Lösung unter die Haut gespritzt. Das Ausmass der lokalen Immunreaktion hängt direkt von der Menge des applizierten Antigens ab. Geht bei der Applikation des Antigens ein Teil verloren, zum Beispiel retrograd über den Stichkanal, oder ins falsche Kompartiment (Injektion zu tief), so besteht eigentlich keine Möglichkeit, diesen Fehler auszugleichen, da kein Kontrollstandard vorhanden ist.

In der Haut residieren sehr potente Antigen-präsentierende Zellen, die Langerhans-Zellen. Nach Injektion des Tuberkulins wird der Mykobakterien-Extrakt von diesen Zellen aufgenommen und den T-Lymphozyten dargeboten. Damit wird im Normalfall, ähnlich wie bei einer Impfung, eine spezifische immunologische Gedächtnisreaktion für das Tuberkulin-Gemisch injiziert. Es ist deshalb nicht sinnvoll, den TST zu wiederholen, da falsch-positive Resultate vorprogrammiert sind und das Risiko einer Hautnekrose mit jedem weiteren TST zunimmt. Falsch-positive Resultate können natürlich auch durch vorausgegangene BCG-Impfung verursacht werden. In der Schweiz wurde die BCG-Impfung noch bis zum Jahrgang 1970 systematisch durchgeführt. Auch wenn die BCG-Impfung in der Kindheit erfolgte, kann der TST im Erwachsenenalter immer noch falsch-positiv sein. Diese Faktoren erklären die schlechte Spezifität des TST von nur zirka 65 Prozent, insbesondere in Populationen mit niedriger TB-Inzidenz und hoher BCG-Impfrate.

Interferon-gamma Release Assays (IGRA) – M. tuberculosis-spezifische Immundiagnostik

Mykobakterien können grob in drei Gruppen aufgeteilt werden: *M. tuberculosis complex* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), Nicht-tuberkulöse Mykobakterien (NTM) und BCG. Die Vertreter dieser drei Gruppen sind genetisch

Vergleich TST – IGRA

	TST	IGRA
Antigen	BCG-Extrakt	Mtb-spezifische Antigene ESAT-6, CFP-10
Durchführung	Hautinjektion	Blutentnahme
Anzahl Arztbesuche	2	1
Positiv-/Negativ-Kontrollen	Nein	Ja
Abhängig von Labor Infrastruktur	Nein	Ja
Repetitive Testung	Nicht sinnvoll	problemlos
Mögliche Nebenwirkungen	Lokale Entzündung Hautnekrose Hämatom (Einstichstelle)	Hämatom (Einstichstelle)
Frühere BCG-Impfung	Falsch-positive Resultate	Kein Einfluss
Früherer TST	Falsch-positive Resultate	Kein Einfluss

extrem ähnlich, aber es gibt einige Gen-Regionen, welche wesentliche Unterschiede zeigen. Eine dieser Regionen, die RD1 (region of difference 1) codiert für die Gene von ESAT-6- und CFP-10-Proteinen, welche ausschliesslich bei *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. marinum*, *M. avium* und *M. szulgai* vorkommen und bei allen anderen NTM oder BCG fehlen. Analog zu Robert Koch, welcher vor beinahe 120 Jahren die Idee hatte, Tuberkulin für einen diagnostischen Test zu verwenden, so wurden in den letzten zehn Jahren neue diagnostische Tests zur Erkennung einer latenten TB auf Basis von ESAT-6 und CFP-10 entwickelt. Im Gegensatz zum TST werden bei diesen Tests die Antigene jedoch nicht aus Mykobakterien aufgereinigt, sondern synthetisch nachgebaut. Daraus resultiert, nebst der hohen Spezifität für *M. tuberculosis* complex, eine verlässlichere Standardisierung und Reproduzierbarkeit. Die praktische Durchführung dieser Tests unterscheidet sich ebenfalls deutlich vom TST. Die Antigene werden nicht in die Haut gespritzt, sondern ex vivo im Reagenzröhrchen mit dem Blut des Patienten vermischt. Deshalb ist nur eine Arztvisite notwendig, und die Tests können beliebig oft wiederholt werden – ohne Risiko von Vakzinationseffekten und Hautnekrosen. Gemessen wird bei diesen Tests die Produktion von Interferon-gamma durch ESAT-6- und CFP-10-spezifische T-Lymphozyten, weshalb sich der Name «IGRA» für Interferon-gamma Release (Freilassung/Sekretion) Assay» durchgesetzt hat. Ein weiterer Vorteil der IGRA gegenüber dem TST sind die eingebauten Positiv- und Negativ-Kontrollen. Sowohl die Sensitivität (zirka 89 Prozent) wie auch die Spezifität (zirka 98 Prozent) der IGRA liegen deutlich über denjenigen des TST (zirka 65 Prozent beziehungsweise 85 Prozent). Weder eine frühere BCG-Impfung noch ein vorausgegangener TST haben einen Einfluss auf die IGRA-Resultate.

Derzeit werden IGRA kommerziell von zwei Firmen angeboten. Beim QuantiFeron-TB-Gold™-Test der Firma Cellestis wird die Interferon-gamma-Produktion mittels sensitivem ELISA-Verfahren gemessen. Der Test besteht aus drei Vacutainern (Negativ-/Positiv-Kontrolle, Antigen-Test), in welche jeweils ein Milliliter Patientenblut direkt abgenommen wird. Die Teströhrchen können nach der Blutentnahme per Post (Express) ins Labor gesandt werden. Der QuantiFeron™-TB-Gold-Test kann auch bei immunsupprimierten Patienten mit chronisch-entzündlichen rheumatischen Erkrankungen benutzt werden (eigene Daten). Je nach Labor versagt der Test in 5 bis 20 Prozent, was an der negativen «Positivkontrolle» ersichtlich ist. Um die Anzahl der Testversager beim QuantiFeron™-TB-Gold zu minimieren, ist es notwendig, die Vacutainer nach der Blutentnahme kräftig zu schütteln, da dadurch die am Röhrchenrand immobilisierten ESAT-6- und CFP-10-Peptide in Suspension kommen.

Beim zweiten Test, dem T-SPOT™-TB, wird ein «Enzyme-Linked Immunospot»-Verfahren (ELISPOT) verwendet. Die beiden IGRA-Tests sind wahrscheinlich gleichwertig bezüglich Sensitivität und Spezifität. Der T-SPOT ist lediglich mit etwas grösserem labortechnischem Aufwand verbunden.

Unabhängig vom jeweiligen Testprinzip – QuantiFeron™ oder T-SPOT™-TB – bedeuten die IGRA einen wesentlichen Fortschritt in der TB-Diagnostik, sowohl in Bezug auf Praktikabilität wie auch Verlässlichkeit.

Schlussfolgerungen

Der vor 100 Jahren entwickelte und immer noch breit angewandte Tuberkulin-Hauttest (TST) weist einige Nachteile gegenüber den modernen Antigen-spezifischen IGRA-Tests auf. Insbesondere in Ländern wie der Schweiz, mit einerseits niedriger TB-Inzidenzrate und andererseits hoher BCG-Impfrate, sollten die IGRA aufgrund ihrer hohen Spezifität dem TST deutlich überlegen sein. Die beiden kommerziell erhältlichen Interferon-gamma Release Assays sind der QuantiFeron-TB-Gold (Cellestis) und der T-Spot-TB (Oxford Immunotech). Diese beiden IGRA sind gegenüber dem TST für Arzt und Patient mit nur sehr geringem Aufwand verbunden und praktisch ohne Nebenwirkungsrisiko.

Kontaktadresse

PD Dr.med. Stephan D. Gadola

Klinik für Rheumatologie und
Klinische Immunologie/Allergologie
der Universität Bern
Inselspital, 3010 Bern

oder per Mail: stephan.gadola@insel.ch