

Department für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene
Universitätsklinikum Freiburg, Hermann-Herder-Straße 11, 79104 Freiburg
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene (Prof. Dr. G. Häcker)

Telefon 0761/203-6510
<http://www.uniklinik-freiburg.de/mikrobiologie>

QuantiFERON[®]-TB Gold Plus Test (QFT-Plus)

Interferon- γ -Release-Assay zum Nachweis von *Mycobacterium tuberculosis*-Komplex spezifischen Memory-T-Lymphozyten.

Prinzip

Der „QuantiFERON[®]-TB Gold Plus Test“ (QFT-Plus) ist ein Test zur *in vitro* Diagnostik einer Infektion mit Tuberkulosebakterien (d.s. Mykobakterien des *Mycobacterium (M.) tuberculosis*-Komplexes). Der Test beruht auf dem Nachweis einer zellvermittelten Immunantwort gegen Antigene des *M. tuberculosis*-Komplexes (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), den Erregern der Tuberkulose.

Das Blut von Personen, die mit *M. tuberculosis*-Komplex infiziert sind, enthält Lymphozyten (CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen), die *M. tuberculosis*-Komplex-spezifische Antigene (ESAT-6, CFP-10) erkennen und dadurch zur Bildung von Interferon (IFN)- γ stimuliert werden. Der Test beruht auf der Stimulierung von T-Gedächtnis-Lymphozyten des peripheren Bluts mit den o.g. definierten Antigenen direkt im Blutabnahme-Teströhrchen und dem quantitativen Nachweis des freigesetzten IFN- γ mittels enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Indikationen

- bei Verdacht auf eine akute oder latente Infektion mit Erregern des *M. tuberculosis*-Komplex
- zum Screening von Kontaktpersonen von Patienten mit offener Tuberkulose (Erfassung des Ausgangsstatus sowie einer möglichen Konversion)
- vor geplanter Therapie mit bestimmten Immunsuppressiva (z.B. Biologika zur Behandlung der Rheumatoiden Arthritis)

Der QuantiFERON[®]-TB Gold Plus Test ist eine Alternative zum Tuberkulin-Hauttest nach Mendel-Mantoux.

Vorteile (z.B. gegenüber dem Tuberkulin-Hauttest)

- Keine Kreuzreaktion mit dem Tuberkulose-Impfstamm (BCG). BCG-geimpfte Patienten sind negativ
- Keine Kreuzreaktion mit den meisten ubiquitären (atypischen) Mykobakterien (Ausnahmen: *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. szulgai*)
- Überprüfung der prinzipiellen T-Zellreaktivität durch Mitführen einer Mitogenkontrolle

Bewertung

Jeder Patienten-Test wird durch zwei **interne Kontrollen** validiert:

- **Nullkontrolle** (unstimulierte Patientenprobe):
Unspezifisch produziertes IFN- γ sollte nicht oder nur in geringen Mengen nachweisbar sein.
 - **Mitogenkontrolle = Positivkontrolle** (Mitogen-stimulierte Patientenprobe):
Unabhängig vom Tuberkulosestatus sollte IFN- γ produziert werden.
- **Positives Ergebnis:** Eine klinisch akute oder eine zurückliegende (latente) Infektion mit Bakterien des *M. tuberculosis*-Komplexes ist sehr wahrscheinlich. Bei klinischem Verdacht auf eine akute, behandlungsbedürftige Tuberkulose sind weitere diagnostische Verfahren erforderlich (z.B. bildgebende Verfahren, mikrobiologische Untersuchung von Sputum, etc.). Der QFT ersetzt nicht die Mikroskopie, PCR, Kultur und Resistenztestung.
 - **Negatives Ergebnis:** Eine Infektion mit Bakterien des *M. tuberculosis*-Komplex ist unwahrscheinlich. Ausgeschlossen sind aber nicht Infektionen durch ubiquitäre (atypische) Mykobakterien, welche z.B. Wundinfektionen oder eine Lymphadenopathie auslösen können.

Diagnostikinfos sind abrufbar unter: www.uniklinik-freiburg.de/mikrobiologie

Nicht auswertbar ist der Test, wenn die mitgeführten Kontrollen wie folgt ausfallen:

- Nullkontrolle weist bereits eine hohe unspezifische IFN- γ -Produktion auf: Die T-Zellstimulierung durch *M. tuberculosis*-Komplex-spezifische Antigene lässt sich nicht sicher bestimmen.
- Die Positivkontrolle (Mitogenkontrolle) fällt negativ aus. Dies ist beispielsweise der Fall, wenn der Patient aufgrund einer bestehenden Immunsuppression keine (funktionstüchtigen) T-Lymphozyten besitzt.
Eine ausbleibende Reaktion auf *M. tuberculosis*-Komplex-spezifische Antigene lässt dann keine Aussage über das Vorliegen einer Infektion mit *M. tuberculosis*-Komplex zu.

Blutentnahme für den Quantiferon-Test und Handhabung

Das Patientenblut muss in **vier spezielle Blutentnahmeröhrchen** entnommen werden. Das Blutentnahmeset ist in der Reagenzienzentrale vorrätig und kann unter der Material-Nr. 60077614 über das Bessy-Bestellsystem angefordert werden. Das Quantiferon-Blutentnahmeset enthält folgende Blutentnahmeröhrchen, die auf dem Vacutainer-Prinzip beruhen:

- **grauer** Verschluss: Nullkontrolle
- **grüner** Verschluss (TB1): *M. tuberculosis*-Komplex-spezifische Antigene enthält Peptide von ESAT-6 und CFP-10, welche zellvermittelte Immunreaktionen von CD4+ T-Helfer-Lymphozyten auslösen
- **gelber** Verschluss(TB2) *M. tuberculosis*-Komplex-spezifische Antigene enthält eine zusätzliche Kombination von Peptiden, welche der Induktion von zellvermittelten Immunreaktionen von zytotoxischen CD8+ T-Lymphozyten dienen soll
- **lila** Verschluss (Mitogenkontrolle)

Anleitung ⇒ **bitte beachten**

(Eine genaue Anleitung zur Verwendung der Vacutainer liegt jedem Set bei)

1. **Röhrchen mit Patientendaten beschriften. Markieren Sie als Anforderung (blauer Einsendeschein Mikrobiologie bzw. ELAN) unter Tuberkulose / Mykobakterien Quantiferon Tb_ELISA.**
2. **Jedes der drei Blutentnahmeröhrchen muss mit 1 ml Blut gefüllt werden**
 - a. Die schwarze Markierung seitlich am Röhrchen ist die Fülllinie, die bei der Blutentnahme erreicht werden muss, damit der Test bearbeitet werden kann. Optimal ist es, wenn das Röhrchen bis zur Mitte der schwarzen Markierung gefüllt ist.
 - b. Da die Röhrchen das Blut nur relativ langsam aufnehmen, Röhrchen nach dem scheinbaren Erreichen des Füllstandes bitte noch 2 - 3 sec. auf der Nadel belassen!
 - c. **Wichtig bei der Entnahme mit Butterfly:** Zur Füllung der Schlauchverbindung, Blut erst in ein separates Röhrchen/Spritze abnehmen, bevor die QFT-Röhrchen aufgesteckt werden.
3. **Röhrchen 10-mal umkehren, so dass die gesamte Innenwand des Röhrchens mit Blut benetzt ist.**
4. **Bis zum Transport sollen die Proben bei Raumtemperatur gelagert werden. Lagern Sie die Proben nie im Kühlschrank oder in Wärmeschränken.**
5. **Röhrchen sollten so schnell wie möglich, jedoch spätestens innerhalb von 16 Stunden nach Blutentnahme im Institut für Medizinische Mikrobiologie eintreffen.**

Die Einsendung der Proben ist von Montag bis Freitag möglich. Das Ergebnis ist in der Regel innerhalb von 2 Tagen über Medoc (Viro/Sero) abrufbar.

Bei weiteren Fragen wenden Sie sich bitte an den zuständigen Arzt für das Serologielabor, über die Pforte (Tel s. o.) zu erfragen oder das bakteriologische Serologielabor unter Tel. 203-6523 (besetzt Di, Mi, Do von 7.30h-13h)