

Aus dem Institut für
Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor Univ. Prof. Dr. med. Klaus Pfeffer

Einfluss der Einnahme von Kortikosteroiden auf die Validität
von Interferon-Gamma-Release-Assays in der Tuberkulose Diagnostik

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Anna Teresa Schulz Faria

(2023)

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Anna Teresa Schulz Faria

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Colin Mackenzie

Zweitgutachter: Prof Dr. med. Ulrich Germing

Zusammenfassung

Trotz des wissenschaftlichen Fortschrittes in der Medizin bleibt die Tuberkulose eine der häufigsten Infektionskrankheiten weltweit. Grund dafür ist unter anderem, die Fähigkeit von *Mycobacterium tuberculosis* latent über lange Zeit im Wirt zu persistieren. Obwohl nur ein kleiner Teil der Infizierten im Laufe ihres Lebens eine aktive Tuberkulose entwickelt, besteht für alle Infizierten die Gefahr, dass sich aus einer latenten Form der Tuberkulose (LTBI) ein aktives Krankheitsbild entwickelt. Dies gilt besonders für immungeschwächte Patienten wie HIV-Positive, Organtransplantierte und im Allgemeinen für alle Patienten, welche eine immunsuppressive Therapie erhalten.

Der langjährig angewandte *Tuberkulin Skin Test* (TST) zur Diagnostik der latenten Infektion mit *M. tuberculosis* wurde in den letzten Jahren zunehmend von einem neueren diagnostischen Verfahren, dem *Interferon Gamma Release Assay* (IGRA) abgelöst. IGRAs sind dem TST hinsichtlich Sensitivität und Spezifität überlegen, sie werden nicht durch BCG-Immunisierung oder Infektion mit anderen Mykobakterien beeinflusst. Obwohl schon zahlreiche Studien durchgeführt wurden, um die Vergleichbarkeit der beiden verfügbaren IGRAs zu untersuchen, gibt es erst wenige Informationen bezüglich des Einflusses der Einnahme von Kortikosteroiden und der Einnahme anderer Immunsuppressiva auf die Validität der Testergebnisse des T-SPOT TB IGRAs.

Durch die statistische Aufbereitung und Analyse von 914 Patientendaten, die in den Jahren 2014 und 2015 am Universitätsklinikum Düsseldorf mit dem T-SPOT.TB IGRA auf latente Tuberkulose getestet wurden, haben wir überprüft, ob die Einnahme von Kortikosteroiden einen Einfluss auf die Validität der Testergebnisse hat. Weiterhin wurde durch Subgruppen-Analysen überprüft, ob es andere Einflussfaktoren auf die Gültigkeit der Testergebnisse gibt und ob diese eine statistische Relevanz aufweisen. Wir sind zu folgendem Schluss gekommen: Es ließen sich weder für die Therapie mit Kortikosteroiden noch mit anderen Immunsuppressiva eine erhöhte Anzahl an nicht validen Testergebnissen im T-SPOT.TB IGRA nachweisen. Auch in den Subgruppenanalysen konnte nur HIV-Positivität als statistisch relevanter Faktor für eine erhöhte Anzahl an nicht validen Testergebnissen festgestellt werden. Bei allen anderen Subgruppen, untere anderem bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) und Psoriasis vulgaris, gab es keinen Anhalt für eine erniedrigte Ergebnisvalidität.

Summary

Despite scientific advances in medicine, tuberculosis remains one of the most frequent infectious diseases worldwide. One reason for this is the ability of *Mycobacterium tuberculosis* to persist in the host for long periods of time. Although only a small percentage of infected individuals develop active tuberculosis during their lifetime, all infected individuals are at risk of developing active disease from a latent form of tuberculosis (LTBI). This is especially relevant for immunocompromised patients such as HIV-positive individuals, organ transplant recipients and, in general, all patients receiving immunosuppressive therapy.

The long-used tuberculin skin test (TST) for the diagnosis of latent infection with *M. tuberculosis* has been increasingly superseded in recent years by a newer diagnostic method, the interferon gamma release assay (IGRA). IGRAs are superior to TST in terms of sensitivity and specificity and are not affected by BCG immunization or infection with other mycobacteria. Although numerous studies have been performed to investigate the comparability of the two available IGRAs, there is only limited information regarding the influence of corticosteroid use and the use of other immunosuppressive drugs on the validity of the T-SPOT.TB IGRA test results.

By statistically analysing and processing 914 patient data tested for latent tuberculosis with the T-SPOT TB IGRA at the University Hospital Düsseldorf in 2014 and 2015, we examined whether the use of corticosteroids has an influence on the validity of the test results. Furthermore, subgroup analyses were performed to check whether there are other factors influencing the validity of the test results and whether they have statistical relevance. We came to the following conclusion: There was no evidence of an increased number of invalid test results in the T-SPOT.TB IGRA for therapy with either corticosteroids or other immunosuppressants. Also in the subgroup analyses, only HIV positivity was found to be a statistically relevant factor for an increased number of invalid test results. In all other subgroups, including patients with inflammatory bowel disease (IBD) and psoriasis vulgaris, there was no evidence for decreased result validity.

Abkürzungen

APC	Antigen präsentierende Zelle	INF	Interferon
ART	Anti Retrovirale Therapie	HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
BAL	Bronchoalveoläre-Lavage	LTBI	Latente Tuberkulose Infektion
BCG	Bacillus Calmette Guérin	MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
CED	chronisch entzündliche Darmerkrankung	M. tuberculosis	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i>	MRT	Magnetresonanztomographie
CFP-10	<i>Culture Filtrate Protein-10</i>	NAT	Nukleinsäure-Amplifikationstest
COVID 19	<i>corona virus disease 2019</i>	NLR	<i>Negative Likelihood-Ratio</i>
CT	Computertomographie	NTM	Nicht tuberkulöse Mykobakterien
DC	<i>Dendritic Cells</i>	PAMP	<i>pathogen-associated molecular patterns</i>
DNS	Desoxyribonukleinsäure	PBMC	periphere mononukleäre Blutzellen
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>	PCR	Polymerasekettenreaktion
ELISPOT	<i>Enzyme-linked immuno-spot Assay</i>	PLR	<i>Positive Likelihood-Ratio</i>
ESAT-6	6 kDa <i>early secretory antigenic target</i>	PPD	<i>Purified Protein Derivative</i>
IBD	<i>Inflammatory Bowel Disease</i>	PPR	<i>pattern recognition receptor</i>
IGRA	<i>Interferon Gamma Release Assay</i>	QTF-GIT	<i>Quantiferon Gold in tube</i>
		RD	<i>region of deletion</i>

RKI Robert Koch Institut

TB Tuberkulose

TST Tuberkulin Skin Test

SARS-CoV 2 *severe acute
respiratory
syndrome-
coronavirus type 2*

WHO *World Health Organization*

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	I
Summary	II
Abkürzungen.....	III
Inhaltsverzeichnis.....	V
1. Einleitung	1
1.1. Biologie, Pathogenese und Krankheitsbild von Mycobacterium tuberculosis	1
1.1.1. Mykobakterien	1
1.1.2. Epidemiologie.....	1
1.1.3. Pathogenese	2
1.1.4. Krankheitsbild.....	5
1.2. Übersicht über das Immunsystem	7
1.2.1. Das angeborene Immunsystem.....	7
1.2.2. Das erworbene Immunsystem.....	8
1.2.2.1. T-Zell Rezeptor.....	9
1.2.2.2. T-Helfer Zellen.....	10
1.2.2.3. Zytotoxische T-Zellen.....	11
1.2.3. Zytokine und Chemokine	11
1.2.4. Tumornekrosefaktor-alpha	12
1.2.5. Interferon Gamma.....	13
1.2.6. Einfluss von Glukokortikoiden auf das Immunsystem.....	14
1.3. Diagnostik der Tuberkulose	16
1.3.1. Diagnostik der aktiven Tuberkulose	16
1.3.2. Diagnostik der latenten Tuberkulose	18
1.3.2.1. Tuberkulin-Skin-Test	18
1.3.2.2. Interferon Gamma Release Assays.....	19
1.4. Therapie der Tuberkulose.....	21
1.4.1. Therapie der aktiven Tuberkulose	21
1.4.2. Therapie der latenten Tuberkulose.....	21
1.5. Ziele der Arbeit	22
2. Material und Methoden	23

3.	Ergebnisse	28
4.	Diskussion	33
5.	Schlussfolgerung	41
6.	Quellen- und Literaturverzeichnis	42
	Danksagung	

1. Einleitung

1.1. Biologie, Pathogenese und Krankheitsbild von *Mycobacterium tuberculosis*

1.1.1. Mykobakterien

Der Haupterreger der Tuberkulose ist *Mycobacterium tuberculosis*, ein grampositives, aerobes Stäbchenbakterium. Neben *M. tuberculosis* zählen auch *M. africanum*, *M. bovis* und *M. microti* zum sogenannten *M. tuberculosis*-Komplex, den humanpathogenen Keimen, welche eine Tuberkulose auslösen können [1]. *M. tuberculosis* gehört zum Stamm der *Actinobacteriae* und der Familie der *Mycobacteriaceae*. Neben den Erregern der Tuberkulose gilt es sogenannte Nicht-Tuberkulöse Mykobakterien (NTM) zu erwähnen, welche fakultativ pathogene Eigenschaften besitzen und bei immungeschwächten Patienten Erkrankungen auslösen. Sie kommen weltweit vor allem im Wasser und in Böden vor, die häufigsten Auslöser NTM-Lungenkrankheiten sind *M. kansasii*, *M. avium* und *M. intracellulare* [2].

1.1.2. Epidemiologie

Die Tuberkulose (TB) ist im Jahr 2019 eine der zehn häufigsten Todesursachen weltweit gewesen [3]. Laut der World Health Organization (WHO) erkranken jedes Jahr etwa 10 Millionen Menschen an Tuberkulose. Schätzungsweise sind weltweit insgesamt 1.7 Milliarden Menschen mit *M. tuberculosis* infiziert und damit dem Risiko ausgesetzt eine Tuberkulose zu entwickeln. Weiterhin identifizierte die WHO die Tuberkulose als einen der führenden Gründe für die hohe Mortalität von Patientin, die mit dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV) infiziert sind und warnt zudem vor der zunehmenden Resistenzlage gegen die Standardtherapeutika [3].

Im Jahr 2020 wurden innerhalb von Deutschland 4.127 neue Erkrankungsfälle an das Robert Koch Institut (RKI) gemeldet. Die Zahlen stiegen im Jahr 2015 an und sind aktuell wieder leicht abnehmend [4, 5]. Laut Robert-Koch-Institut betrug die Inzidenz der Tuberkulose in Deutschland im Jahr 2020 fünf Fälle pro 100.000 Einwohner. Die Meldung der Neuerkrankungen ist im Vergleich zum Vorjahr um 14 % zurück gegangen [6]. Weltweit betrachtet fällt die TB-Inzidenzrate, der kumulative Rückgang der Fallzahlen in den Jahren 2015 bis 2019 beträgt 9 % [7].

Ein Grund für den beschriebenen Rückgang der TB-Inzidenz sind die Folgen der coronavirus disease 2019 (COVID 19) Pandemie. Die Erkrankung wird durch das severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2 (SARS-CoV-2) ausgelöst und ist eine akute infektiöse Lungenerkrankung, die häufig mit Husten, Fieber und Dyspnoe einhergeht. Aufgrund der rapiden Ausbreitung der Erkrankung und der erhöhten Mortalität in höheren Altersgruppen wurden zahlreiche Maßnahmen impliziert, um das Infektionsgeschehen einzudämmen. Darunter sind vor allem Kontakt- und Reisebeschränkungen, allgemeine Infektionsschutz-Regelungen wie Abstand halten, Hygienemaßnahmen und die Verwendung eines Mund-Nasen-Schutz in öffentlichen Räumen. Seit Beginn der COVID 19 Pandemie kam es weltweit zu einem Abfall meldepflichtiger Infektionskrankheiten, insbesondere die Anzahl der gemeldeten Tuberkulosefälle nahm deutlich ab; diese Veränderung lässt sich auch in Deutschland beobachten [8, 9].

Eine Analyse der WHO beschreibt die Auswirkungen der COVID-19 Pandemie auf die Entwicklung der Tuberkulose Epidemie. Obwohl im *Lockdown* von einer verringerten Transmission von TB durch die Verwendung von Schutzmaßnahmen ausgegangen werden kann, können vor allem die Schließung oder Einschränkung der Funktionsfähigkeit von Einrichtungen, die auf die Diagnostik und Behandlung von TB ausgelegt sind, zu einem langfristigen Anstieg der TB-Inzidenz und -Mortalität führen [7]. Bereits 2020 kam es zu einem Anstieg der TB-bedingten Todesfälle, welcher sich unmittelbar auf den Rückgang der neu diagnostizierten Fälle zurückführen lässt [10].

1.1.3. Pathogenese

Wie kaum einem anderen Erreger gelingt es *Mycobacterium tuberculosis* über lange Zeit unbemerkt im menschlichen Organismus zu persistieren. Zwischen der Zeit der Erstinfektion und dem Übergang zu einer aktiven Erkrankung können dabei Jahre oder Jahrzehnte vergehen und nicht in allen Fällen kommt es überhaupt zum vollen Krankheitsbild, der aktiven Tuberkulose. Die Gründe dafür sind zum Teil den Eigenarten des Erregers, zum anderen der Interaktion der Mykobakterien mit dem menschlichen Immunsystem und dem Ort der Primärinfektion geschuldet [11].

Durch das Einatmen von in Aerosolen enthaltenen Tuberkelbakterien kommt es zunächst zur Primärtuberkulose. Die Erreger treffen in den Alveolen der Lunge auf Zellen des Immunsystems, insbesondere auf Alveolar-Makrophagen. Aufgrund der speziellen Architektur der Alveolen ist das zelluläre Immunsystem die wesentliche Komponente der primären Immunabwehr gegen Mykobakterien und andere potenzielle Erreger [12]. Es besteht eine

festen Trennung zwischen Alveolarmembran, Kapillare und dem Lungeninterstitium, sodass keine Antikörper in das Innere der Alveole gelangen können.

Bei der Aufnahme von Mykobakterien in die Alveolen werden diese zunächst durch die Makrophagen phagozytiert. Jedoch besitzt *Mycobacterium tuberculosis* in seiner Zellwand den sogenannten Cord-Factor, ein Glykolipid, das den Prozess der Phagozytose unterbricht und phagozytierten Mykobakterien die Möglichkeit gibt, das Innere der Makrophagen zu nutzen, um sich zu vermehren [13]. Die Vermehrung der Bakterien im Inneren der Makrophagen führt zur Nekrose dieser und zur Freisetzung der neuen Mykobakterien in die Umgebung. Mit dem Befall weiterer Alveolen und der steigenden Ausbreitung der Mykobakterien in die benachbarten Lungenabschnitte kommt es zur zunehmenden Immunreaktion und Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen. Diese Immunreaktion verursacht die Durchbrechung der Alveolarmembran und den Eintritt anderer Immunzellen, vor allem neutrophiler Granulozyten und Monozyten. Durch die lokale Entzündungsreaktion wird eine Verschleppung der phagozytierten Mykobakterien in die benachbarten Lymphkapillaren und -knoten begünstigt, die Infektion und das Entzündungsgeschehen werden auf diese ausgeweitet. Gleichzeitig wandern dendritische Zellen mit aufgenommenen Tuberkelbakterien in regionalen Lymphknoten und aktivieren T-Zellen (sowohl CD4⁺ als auch CD8⁺) gegen mykobakterielle Antigene.

Die Ansammlung von Makrophagen, T-Zellen und anderen Wirtszellen (dendritische Zellen, Fibroblasten, Endothelzellen und Stromazellen) führt zur Bildung eines Granuloms am Infektionsherd: Die Granulombildung schottet die Tuberkelbazillen vom restlichen Lungengewebe ab, begrenzt die Ausbreitung der Bakterien und bietet eine Mikroumgebung für die Interaktion zwischen Makrophagen und anderen Zellen des Immunsystems sowie den von diesen Zellen produzierten Zytokinen. Die CD4⁺ T-Zellen, die Interferon- γ (IFN- γ) produzieren, erkennen infizierte Makrophagen, die Antigene von *M. tuberculosis* präsentieren, und töten diese ab. Das Fortschreiten der Infektion wird gestoppt; einige resistente Bakterien, die in der Lage sind, unter den vom Wirt erzeugten Stressbedingungen zu überleben, gehen in einen Ruhezustand über und persistieren, indem sie die Eliminierung durch das Immunsystem vermeiden.

Die Antikörperbildung des Körpers ist nicht effektiv gegen die zum größten Teil intrazelluläre Existenz der Mykobakterien. Ebenso konnte in der Diagnostik kein antikörperbasiertes Verfahren etabliert werden.

Das komplexe Zusammenspiel von erhöhter Virulenz und eingeschränkter bzw. verzögerter Immunantwort; also die Fähigkeit der Mykobakterien, einen Teil der Immunantwort zu

umgehen, in Kombination mit der langsamen Teilungsgeschwindigkeit, sowie der Säurefestigkeit der Bakterien bedingen die besondere Pathophysiologie der Tuberkulose [14]. Da eine direkte Elimination des Erregers nicht möglich ist, wird der Infektionsherd von den Immunzellen zunächst nur örtlich eingegrenzt, es entsteht ein sogenanntes tuberkulöses Granulom. Von Immunzellen umrundet und „eingeschlossen“ können sich die Mykobakterien im Inneren dieses Granuloms weiterhin langsam vermehren. An dieser Stelle kommt es bei immunkompetenten Personen zum Übergang in die latente Tuberkulose.

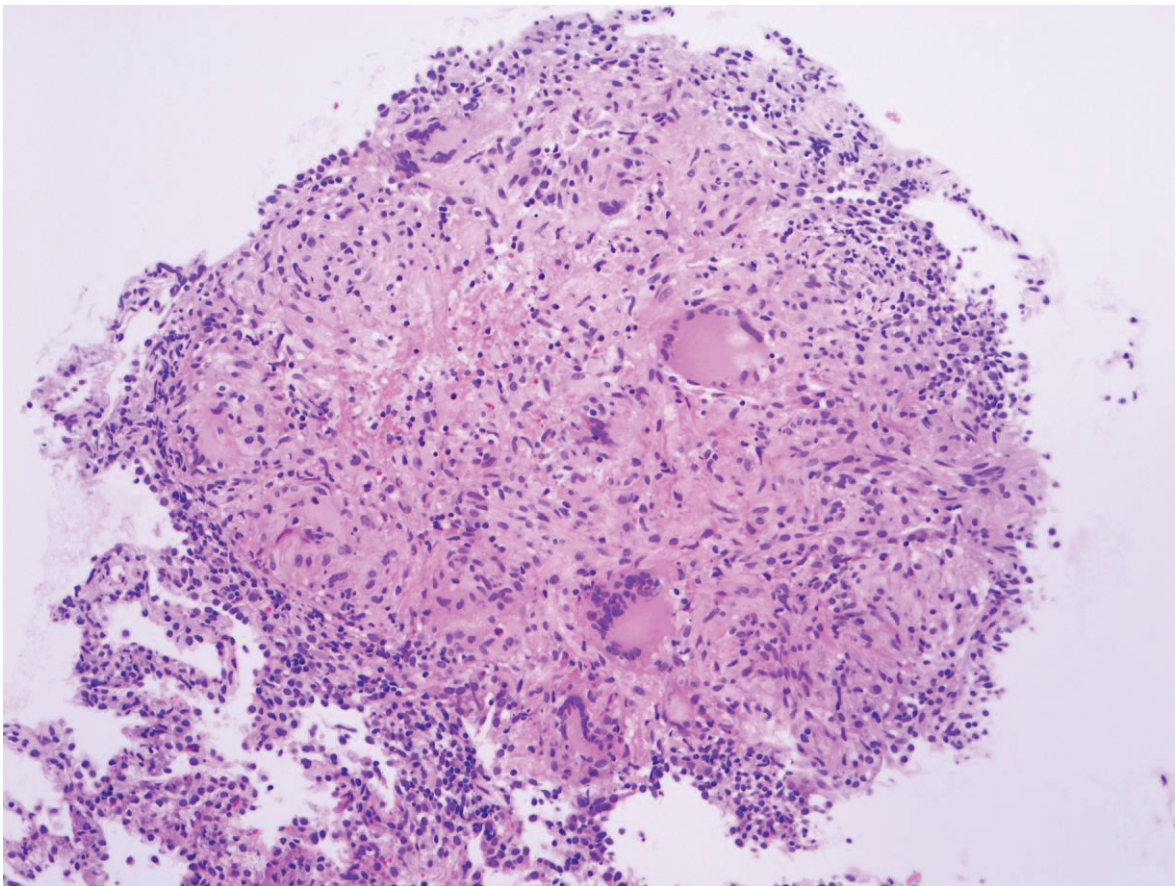


Abb. 1: Tuberkulöses verkäsendes Granulom. Lungentuberkulose, diagnostiziert durch transbronchiale Lungenbiopsie und Mikroskopie. Mit Genehmigung des Autors, Quelle: KGH, Tuberculous caseous granuloma, in Personal collection of histopathologic slides 2005 [15].

Bei guter Abwehrlage kann das Granulom lebenslang in der Lunge persistieren ohne Symptome auszulösen oder bemerkt zu werden. Kommt es jedoch zu einer Schwächung des Immunsystems und so zur Verschiebung des Gleichgewichts zwischen immunologischer Kontrolle und bakterieller Aktivität, erfolgt der Übergang in die postprimäre Tuberkulose und eine erneute Ausscheidung von Erregern beginnt [16].

Einer der vorrangigen Gründe für den Übergang der LTBI zur postprimären Tuberkulose ist die HIV-Infektion. Durch die Erniedrigung der CD4⁺ T-Zellzahl kommt es zu einer geschwächten Abwehrreaktion gegen Mykobakterien, sodass es bei HIV-positiven Individuen ein 20-fach erhöhtes Risiko der Reaktivierung einer bereits vorhandenen LTBI kommt, sowie ein deutlich erhöhtes Risiko besteht, bei Neuinfektion an einer manifesten Primärtuberkulose zu erkranken. [17, 18] Sowohl HIV als auch TB beeinflussen das Immunsystem, eine Koinfektion bedingt demnach die Aggravation beider Erkrankungen. Tuberkulöse Granulome schütten proinflammatorische Zytokine aus, welche eine erhöhte HIV-Virämie begünstigen und so die zunehmende Immunsuppression durch T-Zell Depletion beschleunigen; diese wiederum verringert die Eingrenzung der Tuberkulose [19].

1.1.4. Krankheitsbild

Die Primärinfektion mit *M. tuberculosis* bleibt häufig unbemerkt, da die Symptome gering und unspezifisch sind. Das Auftreten von klinischen Anzeichen ist ungewöhnlich und beschränkt sich in den meisten Fällen auf unspezifische Allgemeinsymptome wie Gewichtsverlust, subfebrile Temperaturen, Abgeschlagenheit und Nachtschweiß. Da der Ort der Erstinfektion in den meisten Fällen die Lunge ist, können pulmonale Symptome wie Husten und Belastungsdyspnoe auftreten. In seltenen Fällen kommt es bei Primärinfektion zu Hämoptysen [20]. Die Wahrscheinlichkeit einer symptomatischen Erstinfektion erhöht sich mit jedem Zustand, der die Integrität des Immunsystems beeinträchtigt. Sehr junge Menschen, Patienten mit vorbestehender HIV-Infektion, Diabetiker, Menschen, die Immunsuppressiva einnehmen und Menschen, die sich einer Chemotherapie unterziehen, fallen alle in diese Kategorie.

Durch die Granulombildung und lokale Eindämmung der Infektion bei immunkompetenten Menschen ist die Erstinfektion innerhalb von wenigen Wochen unter Kontrolle gebracht und die Läsionen heilen ab. Die primäre TB erzeugt so eine systemische Immunität, die effektiv vor einer disseminierten Infektion schützt. Die Aufrechterhaltung des Schutzes hängt davon ab, dass die Immunkompetenz bestehen bleibt. Ist die Phase der Eindämmung abgeschlossen und geht in eine subklinische Infektion über, spricht man von einer latenten Tuberkulose. Studien deuten darauf hin, dass sich bei 5 bis 15 % der Personen mit latenter Infektion im Laufe ihres Lebens eine aktive, oder postprimäre Tuberkulose entwickelt [21].

Läsionen der primären TB können immer dann rezidivieren, wenn die Immunsuppression die systemische T-Zell-vermittelte Immunität reduziert [16]. Kommt es zur hämatogenen oder lymphogenen Streuung der Tuberkelbakterien, kann es in Folge zur Organmanifestation kommen. Treten diese Organmanifestationen außerhalb der Lunge auf, wird dies als Extrapulmonale Tuberkulose bezeichnet. Je nach betroffenem Organsystem kann es zu

unterschiedlichen Symptomen kommen. Bei HIV-Seropositiven und immunsupprimierten Personen tritt extrapulmonale TB mit fortschreitender Immunsuppression immer häufiger auf und bei fortgeschrittener HIV-Infektion macht die extrapulmonale TB mehr als 50 % aller TB-Fälle aus. Extrapulmonal sind Lymphknoten am häufigsten betroffen, auch an Pleura und Peritoneum kommt es häufig zur Ansiedelung und Ausbreitung der Tuberkulose [22].

Bei Dissemination der Infektion in mehrere, unzusammenhängende Organe spricht man von einer Miliartuberkulose. Die klinischen Manifestationen der Miliartuberkulose sind vielfältig und unspezifisch und hängen vom befallenen Organsystem ab. Eine atypische klinische Präsentation verzögert oft die Diagnose. Die tuberkulöse Meningitis ist die schwerwiegendste extrapulmonale Manifestation der Tuberkulose mit Sterblichkeitsraten von bis zu 50 %, die meist im Zusammenhang mit einer HIV-1-Koinfektion beobachtet werden [23, 24].

1.2. Übersicht über das Immunsystem

Sowohl um die Pathophysiologie der Tuberkulose nachzuvollziehen als auch die diagnostischen Methoden zum Nachweis einer latenten Tuberkulose, bei welchen es sich um immundiagnostische Verfahren handelt, sollte man die Grundlagen des Immunsystems beachten. Aus diesem Grund folgt ein kleiner Exkurs über das Immunsystem.

Zellen des Immunsystems finden sich im ganzen Körper, sowohl im Blut als auch im Gewebe, aber das Immunsystem verfügt auch über ein spezialisiertes Netzwerk von Organen, welche Immunzellen produzieren oder beherbergen. Die Organisation des Immunsystems innerhalb der Immunorgane ermöglicht eine regulierte Immunreaktion, die in der Lage ist, schnell eine große Anzahl von Zellen zu produzieren, die eine sich ausbreitende Infektion effektiv eingrenzen und aufhalten können. Von diesen Immunreservoirs aus können Immunzellen und -moleküle freigesetzt werden, um in fast jedes Gewebe des Körpers einzudringen [25].

Man unterteilt die Zellen des Immunsystems in zwei Gruppen, sie sind entweder Teil der angeborenen, unspezifischen oder der adaptiven, spezifischen Immunantwort. Zur angeborenen Immunantwort gehören neben zellulären Anteilen auch mechanische, physikalische und chemische Komponenten, die das Eintreten von Erregern in den Organismus verhindern sollen.

1.2.1. Das angeborene Immunsystem

Zu den schnell reagierenden, angeborenen Immunzellen gehören Granulozyten, Makrophagen, Mastzellen und dendritische Zellen, welche bei Kontakt zu Erregern die Immunantwort einläuten. Sie entstehen aus myeloischen Vorläuferzellen im Knochenmark und wandern von dort in Blut und Gewebe. Granulozyten machen einen Großteil der immunologischen Zellen aus und umfassen eine Gruppe von drei Zelltypen, die sich durch den Inhalt ihrer Granula unterscheiden: Neutrophile, Basophile und Eosinophile Granulozyten. In ihren Granula befinden sich verschiedene Enzyme und Peptide, die bei Kontakt zu Pathogenen ausgeschüttet werden und eine bakterizide Wirkung entfalten, sowie mit Hilfe von Zytokinen und Chemokinen weitere Immunzellen anlocken [25]. Ähnlich wie die Neutrophilen Granulozyten sind Makrophagen Zellen, die in der Lage sind, eindringende Erreger zu phagozytieren, sie produzieren Entzündungsmediatoren, deren Funktion es ist, andere Zellen des Immunsystems zu aktivieren und zu einer Immunantwort rekrutieren [26].

Die sensorischen Zellen des angeborenen Immunsystems tragen sogenannte Mustererkennungs-Rezeptoren (*pattern recognition receptors*, PPRs), welche einfache, körperfremde Moleküle oder molekulare Strukturen erkennen, die pathogenassoziiert sind

und in vielen Mikroorganismen vorkommen. Diese pathogenassoziierten molekularen Muster (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs) sind nicht erregerspezifisch, sondern bestehen aus mannosereichen Oligosacchariden, Peptidoglykanen oder Liposacchariden bakterieller Zellwände, sowie DNA Bestandteilen, die bei vielen Krankheitserregern vorkommen [26].

Dendritische Zellen (DCs) sind ebenfalls in der Lage, eingedrungene Mikroben zu internalisieren und durch Phagozytose zu zerstören; sie sind jedoch besser bekannt für ihre wichtige Rolle bei der Aktivierung der Zellen des adaptiven Immunsystems. Sowohl DCs als auch Makrophagen werden häufig als Antigen-präsentierende Zellen (APCs) bezeichnet, da sie in der Lage sind, Pathogene zu internalisieren und Pathogenpeptide auf ihrer Zelloberfläche zu präsentieren. Durch proteasomalen Abbau werden die Peptidfragmente des Pathogens an einen Rezeptor gebunden und an die Zelloberfläche transportiert. Die Präsentation von Antigenen erfolgt über sogenannte MHC-II Rezeptoren, wobei MHC für *Major Histocompatibility Complex*, Haupthistokompatibilitätskomplex steht. Wird ein spezielles Antigen über einen MHC-II Rezeptor präsentiert, können T-Zellen mit einem antigenspezifischen Rezeptor aktiviert werden. Im Gegensatz zu MHC-II Rezeptoren werden MHC-I Rezeptoren auf nahezu allen körpereigenen Zellen exprimiert und dienen der Präsentation körpereigenen Polypeptiden. Ist eine Zelle von einem Virus befallen oder unterliegt einer Mutation, werden körperfremde Peptide präsentiert und von Natürlichen Killerzellen erkannt.

1.2.2. Das erworbene Immunsystem

Aus lymphatischen Stammzellen gehen im Knochenmark die Zellen des erworbenen oder adaptiven Immunsystems hervor. Sowohl B- als auch T-Lymphozyten werden im Knochenmark gebildet, siedeln sich jedoch an unterschiedlichen Stellen zur Ausreifung ab und haben unterschiedliche Funktionen. Natürliche Killerzellen sind Lymphozyten-ähnliche Zellen, die ebenfalls aus lymphatischen Stammzellen entstehen, sich jedoch in ihrer Funktion von B- und T-Lymphozyten unterscheiden, da sie keine antigenspezifischen Rezeptoren besitzen. Sie identifizieren das Fehlen von MHC-I Rezeptoren auf virusinfizierten oder tumormutierten Zellen und lösen in Folge eine zytotoxische Reaktion aus. Sie werden demnach zu den Zellen des angeborenen Immunsystems gezählt.

Das besondere Merkmal von B- und T-Zellen ist, dass sie nach Kontakt zu einem Antigen sogenannte Gedächtniszellen erschaffen, welche in Milz und Lymphknoten auch nach

Abklingen der Primärinfektion persistieren. So wird ein immunologisches Gedächtnis erschaffen, was es bei einer erneuten Infektion durch denselben Erreger ermöglicht, eine schnellere und effizientere Immunantwort zu generieren.

T-Zellen werden in unterschiedliche Gruppen unterteilt, je nachdem welche Oberflächenmoleküle sie an ihrer Zelloberfläche exprimieren und welche Funktion sie aufweisen. Trifft eine T-Zelle zum ersten Mal auf ein Antigen, das an ihrem Rezeptor binden kann, so kommt es zur Proliferierung und Differenzierung, zu einem der Untertypen. Die Unterscheidung erfolgt anhand von membrangebundenen Glykoproteinen, den sogenannten *Cluster of differentiation* Molekülen (CD), welche ein immunphänotypisches Merkmal der einzelnen Zelle darstellen. Man unterscheidet mehrere hundert verschiedene CDs, welche je nach Zelltyp Rezeptor- oder Signalfunktion aufweisen können. Bei T-Zellen spielen CD4 und CD8 eine essenzielle Rolle bei der Bildung der Immunsynapse zwischen dem T-Zell-Rezeptor und dem MHC-II-Komplex des APCs. CD8-T-Zellen gelten als zytotoxische T-Lymphozyten, da sie bei Aktivierung zytotoxische Granula und Perforin in die Immunsynapse absondern, die in die Zielzelle eindringen und die Apoptose einleiten.

Werden CD4 Rezeptoren exprimiert, handelt es sich um eine sogenannte T-Helfer Zellen (Th-Zellen), welche eine wichtige Rolle bei der Zytokinantwort spielen, die entweder die zellvermittelte Immunität durch Makrophagen und CD8-T-Zellen oder die durch B-Zellen vermittelte humorale Immunität antreibt. Wenn CD4-T-Zellen in Gegenwart von IL-12 und IFN γ aktiviert werden, werden sie zum Th1-Phänotyp und geben IFN γ und Lymphotoxin-alpha (LT- α) in die Umgebung ab, was eine Entzündung auslöst und die Funktion von Makrophagen und CD8-T-Zellen zur Abtötung von Krankheitserregern unterstützt. Wenn CD4-T-Zellen jedoch in Gegenwart von IL-4 aktiviert werden, nehmen sie den Th2-Phänotyp an, der die Tätigkeit der B-Zellen zur Produktion von Antikörpern unterstützt [25].

1.2.2.1. T-Zell Rezeptor

T-Zellen erkennen fremde Antigene nur, wenn sie an MHC-Rezeptoren gebunden sind, im Gegensatz zu sezernierten Antikörpern und dem BCR, welche prinzipiell jede lösliche Substanz erkennen können. Jede T-Zelle trägt ca. 30.000 Antigenrezeptoren auf ihrer Oberfläche. Dabei besteht jeder Rezeptor aus zwei Polypeptidketten, einer α - und einer β -Kette, welche über eine Disulfidbrücke miteinander verbunden sind und strukturell dem Fab-Fragment eines Immunglobulins ähneln. Selten besteht der TCR aus anderen Polypeptidketten, die mit γ und δ bezeichnet werden und andere Antigenerkennungseigenschaften aufweisen. Sie scheinen nicht auf MHC-Rezeptoren angewiesen zu sein, um Antigene zu erkennen [26].

Die Funktionsweise von $\gamma\delta$ -T-Zell-Rezeptoren ist noch nicht abschließend geklärt und wird aktuell weiter untersucht [27].

Der T-Zellrezeptor ist auf einen Korezeptor angewiesen, um funktionsfähig zu sein. Dieser Korezeptor ist der sogenannte CD3-Komplex und besteht aus den Proteinketten CD3 γ , CD3 δ , CD3 ϵ und der ζ -Kette, welche zusammen mit der α - und einer β -Kette des TCR einen Multiproteinkomplex bilden.

BCR und TCR unterscheiden sich im Wesentlichen dadurch, dass der TCR nur eine Antigenbindungsstelle hat und niemals sezerniert wird, wohingegen der BCR zwei Bindungsstellen besitzt und als Antikörper sezerniert werden kann.

1.2.2.2. T-Helfer Zellen

CD4 exprimierende T-Zellen werden T-Helfer Zellen genannt. Wird eine CD4⁺ Effektorzelle durch Kontakt zu einem antigentragendem MHC-II Rezeptor an der Oberfläche eines APCs aktiviert, differenziert sie sich zu einem der vier Subtypen. Diese Differenzierung ist abhängig von Zytokinen, welche die naiven T-Zellen stimulieren und die Differenzierung anregen. Man unterscheidet T_{H1}-, T_{H2}-, T_{H17}, T_{FH}- und T_{reg}-Zellen, welche unterschiedliche Funktionen aufweisen und die Immunantwort auf unterschiedliche Weise vorantreiben.

T_{H1}-Zellen werden gebildet, wenn eine CD4⁺ T-Zelle Kontakt zu einem antigentragenden Makrophagen aufnimmt und der TCR:MHC-II-Komplex aktiviert wird. Die T_{H1}-Zelle bildet proinflammatorische Zytokine, vor allem IFN γ und Interleukin 2 (IL-2) und schüttet diese in die Zellumgebung aus. Während IL-2 die Autostimulation anregt, fördert IFN γ die Funktionsfähigkeit von Makrophagen und steigert damit die Phagozytose von Erregern, die Freisetzung bakterizider Substanzen, z.B. durch TNF- α und die Entstehung von CD8⁺ T-Zellen, sowie den Klassenwechsel der Immunglobuline der B-Zellen von IgM zu IgG. T_{H1}-Zellen sind maßgeblich an der Bekämpfung intrazellulärer Pathogene, die innerhalb von Makrophagen überleben können, wie zum Beispiel *Mycobacterium tuberculosis*, beteiligt [28].

T_{H2}-Zellen haben die Aufgabe B-Zellen zu aktivieren und fördern den Angriff gegen extrazelluläre Erreger, indem sie die B-Zellen dazu anregen sich in eine Plasmazelle umzuwandeln, welche neutralisierende Immunglobuline produzieren kann. [25, 26].

T_{H17}-Zellen sind nach ihrer Funktion benannt, Interleukin 17 auszuschütten. Neben IL-17 wird auch IL-22 ausgeschüttet. Diese Gruppe von T-Zellen hat die Funktion, das Immunsystem bei der Bekämpfung von extrazellulären Bakterien und Pilzen zu unterstützen, indem sie die Epithelbarriere verstärkt. Die Ausschüttung von IL-17 scheint jedoch auch bei

Autoimmunprozessen auslösend zu sein und wird aktuell noch weiter erforscht [25, 29]. Um Autoimmunerkrankungen zu verhindern und den Immunprozess einzugrenzen gibt es sogenannte regulatorische T-Zellen. T_{reg}-Zellen sollen eine überschießende Reaktion verhindern und exprimieren antiinflammatorische Zytokine wie Interleukin 10, welches aktivierte Makrophagen inhibiert. Eine starke Proliferation von T_{reg}-Zellen kann bei einer Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis* das immunologische Gleichgewicht zwischen Eingrenzung des Erregers und Eingrenzung der Inflammation stören und vor allem bei bereits immunsupprimierten Patienten die TB Immunität herabsetzen [30].

Eine weitere Gruppe von CD4⁺ Effektorzellen, deren Funktion es ist, B-Lymphozyten zu aktivieren, sind folliculäre T-Zellen (T_{FH}-Zellen). Sie sitzen in Lymphfollikeln und haben keine erregerspezifische Funktion, können deshalb sowohl T_{H1}, T_{H2} als auch T_{H17} Zellen unterstützen, indem sie B-Zellen anregen eine Keimzentrumsreaktion zu initiieren. [31].

1.2.2.3. Zytotoxische T-Zellen

Bei Kontakt zu antigenbesetzten MHC-I Rezeptoren wandelt sich eine naive CD8⁺ T-Zelle mit passendem TCR in eine zytotoxische T-Effektorzelle um. Dabei ist ein kostimulatorisches Signal zwischen dem CD28 der T-Zelle zum B7 der antigenpräsentierenden Zelle notwendig. Die Zytotoxische T-Zelle kann auf zwei Wegen die Apoptose der Zielzelle induzieren: Zum einen durch Freisetzung von Perforin und Granzym, welche die Zellwand durch Serinproteasen perforieren und im Zellinneren die Apoptose auslösen; zum anderen durch Aktivierung des membranständigen Fas-Liganden, welcher den programmierten Zelltod des APCs über einen Rezeptor-Mechanismus einleitet. Da CD8⁺ Zellen die Apoptose in antigenpräsentierenden Zellen einleiten sind sie vor allem bei der Abwehr gegen intrazelluläre Erreger wie Viren effektiv, sie spielen jedoch auch eine große Rolle bei der körpereigenen Abwehr gegen entartete Zellen. Neben dem Auslösen der Apoptose besitzen CD8⁺ T-Zellen die Fähigkeit Zytokine freizusetzen. Das sind IFN- γ , TNF- α und LT- α , welche auf unterschiedliche Art zur Immunabwehr beitragen [26, 28].

1.2.3. Zytokine und Chemokine

Zytokine sind potente Botenstoffe, welche eine maßgebliche Rolle im Immunsystem einnehmen, jedoch auch als Wachstumsfaktoren bei der Hämatopoese fungieren. Dabei handelt es sich um Polypeptide, welche meist parakrin oder autokrin wirken, in seltenen Fällen wie z.B. Erythropoetin auch endokrin sezerniert werden. Manche Zytokine werden von einer Vielzahl von Zellen ausgeschüttet, andere nur von wenigen spezifischen, ebenso kann sich die Wirkung einiger Zytokine auf eine Vielzahl von Zielzellen ausbreiten oder nur auf eine bestimmte Gruppe von Zellen wirken. Man unterscheidet bei den Zytokinen des

Immunsystems zwischen Interleukinen, Interferonen und den Mitgliedern der TNF-Superfamilie.

Eine wichtige Untergruppe der Zytokine sind die Chemokine, die eine Schlüsselrolle bei der Migration von Leukozyten spielen. Sie haben eine wesentliche chemotaktische Funktion, was bedeutet, dass sie die gerichtete Bewegung von Zellen zum Ort der Infektion veranlassen [28].

Um eine standardisierte Nomenklatur für Zytokine zu entwickeln, werden viele Moleküle Interleukin (IL) genannt, gefolgt von einer Zahl. Interleukine sind die größte Untergruppe von Zytokinen. Sie dienen der Kommunikation zwischen weißen Blutkörperchen und haben sehr unterschiedliche Zielfunktionen. Mit wenigen Ausnahmen interagieren sie mit Tyrosinkinase assoziierte Rezeptoren. Der Übersichtlichkeit halber wird in diesem Kapitel nicht auf die Funktion der einzelnen Interleukine eingegangen, sondern ausschließlich in den entsprechenden Kapiteln erläutert.

1.2.4. Tumornekrosefaktor-alpha

TNF- α ist ein sogenanntes Schlüsselzytokin und der bekannteste Vertreter der TNF-Familie. Neben TNF- α gibt es noch 16 andere Zytokine der TNF-Familie, welche wichtige Funktionen in der adaptiven und angeborenen Immunität innehaben. Anders als die meisten Zytokine sind TNF-Zytokine Transmembranproteine, TNF- α kann jedoch aus der Membran freigesetzt werden und mit einer Vielzahl von Zellen interagieren. Es wird von T-Zellen, Makrophagen und Natürlichen Killerzellen ausgeschüttet. TNF- α hat unterschiedliche Funktionen, welche abhängig vom Zielgewebe sind. Auf den Hypothalamus wirkt es gemeinsam mit IL-1 und IL-6 pyrogen, in der Leber stimuliert es die Produktion und Ausschüttung von Akute Phase Proteinen, im direkten Umfeld der Infektion wird es chemotaktisch, stimuliert Makrophagen, fördert die Gerinnung und begünstigt die Bildung von Mikrothromben in kleinen Blutgefäßen, was die Verstreuung der Erreger über den Blutstrom verhindert. Es erleichtert die Leukozytenmigration durch Steigerung der Gefäßpermeabilität und die Hochregulierung von Adhäsionsmolekülen [26].

Obwohl TNF- α ein entscheidender Bestandteil der angeborenen und adaptiven Immunität ist, kann es, wenn es zu einer Dysregulation und zur erhöhten Ausschüttung kommt, chronische Entzündungen, Kachexie und im akuten Entzündungsgeschehen einen septischen Schock verursachen. Experimente an einer Vielzahl von Tiermodellen, bei denen die lokale oder systemische TNF- α -Produktion genetisch erhöht oder durch genetische Manipulation oder Antikörperneutralisierung verringert wurde, zeigen, dass eine erhöhte Produktion dieses Zytokins ein Mitauslöser von Autoimmunkrankheiten ist. TNF- α Hemmer werden aus diesem

Grund in der medikamentösen Therapie von Autoimmunerkrankungen eingesetzt. Weiterhin gilt TNF- α als einer der chemischen Mediatoren, welche bei der Entstehung von entzündungsbedingten Krebserkrankungen mit ursächlich sind [32].

1.2.5. Interferon Gamma

Interferone (IFN) sind eine weitere wichtige Klasse von Zytokinen, sie werden in Typ 1 (α und β Interferone, sowie die weniger gut erforschten IFN- κ , IFN- ϵ und IFN- ω .) und Typ 2 (Interferon γ) unterteilt [28]. Eine neu definierte IFN-Familie, die Typ-III-Interferone, sind die Produkte von drei IFN- λ -Genen und umfassen IL-28A, IL-28B und IL-29 [25]. Interferone vom Typ 1 haben eine starke antivirale Wirkung und werden hauptsächlich von Fibroblasten und Monozyten als Reaktion auf eine Infektion produziert.

IFN- γ ist das einzige identifizierte Interferon vom Typ II. Es handelt sich um ein Homodimer mit einer antiparallelen, ineinandergreifenden Struktur, welches sechs Alphahelixe pro Monomer besitzt. Beim Menschen befindet sich das IFN- γ -Gen auf dem Chromosom 12q15. Der Rezeptorkomplex für IFN- γ , IFNGR1 und IFNGR2, ist nahezu ubiquitär in allen Körperzellen von Säugetieren, mit Ausnahme von Erythrozyten, vorhanden.

IFN- γ signalisiert in erster Linie über den Jak-Stat-Weg, einen Weg, der von über 50 Zytokinen, Wachstumsfaktoren und Hormonen genutzt wird, um die Genregulation zu beeinflussen. Es wurde nachgewiesen, dass IFN- γ die Expression von über 2300 menschlichen Genen moduliert. Dabei wird IFN- γ von einer Reihe von Zellen ausgeschüttet. Neben CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen, welche die Hauptproduzenten von IFN- γ sind, schütten auch B-Zellen und andere professionellen APCs in der frühen Phase der Immunreaktion IFN- γ aus. Die Stimulation und Hemmung der IFN- γ Ausschüttung erfolgt durch Zytokine, welche von APCs ausgeschüttet werden, wobei die Stimulation vor allem über IL-12 und IL-18 erfolgt und IL-4, IL-10 und Glukokortikoide eine hemmende Wirkung auf die IFN- γ Sekretion haben [33].

IFN- γ ist an der Aktivierung, dem Wachstum und der Differenzierung von T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen, natürlichen Killerzellen und anderen Zelltypen wie Endothelzellen und Fibroblasten beteiligt, wodurch es für die Entzündungsreaktion und die zellvermittelten Immunantworten von entscheidender Bedeutung ist. Das angeborene und das adaptive Immunsystem sind auf eine kontrollierte IFN- γ -Expression angewiesen, um das Gleichgewicht zwischen einer wirksamen Immunantwort des Wirts und der Entwicklung einer Autoimmunerkrankung zu wahren [34].

Obwohl die Funktionen der verschiedenen Interferone oft redundant sind, wird ein Mangel an normaler IFN- γ -Expression mit einer erhöhten Anfälligkeit für einige Krankheiten in

Verbindung gebracht, selbst wenn Interferon α und β vorhanden sind [34]. Verschiedene Studien konnten belegen, dass bei geringer Expression von IFN- γ die Anfälligkeit für Infektionen mit Mykobakterien und Pilzen steigt; dies gilt auch für die Infektion mit NTM [33, 35]. So wie Typ-I Interferone besitzt IFN- γ zwar ebenfalls eine antivirale Kapazität, zeichnet sich aber eher durch seine umfassendere Fähigkeit aus, das Immunsystem zu stimulieren und zu modulieren.

Wie die Typ I-Interferone kann auch IFN- γ die verstärkte Expression von MHC-I-Molekülen auf der Zelloberfläche antigenpräsentierender Zellen auslösen und die Erkennung von Fremdpeptiden durch antigenspezifische, cytotoxische CD8⁺-Lymphozyten fördern. Die Hochregulation der Expression von MHC-II Molekülen und in Folge die peptid-spezifische Aktivierung von CD4⁺-T-Zellen ist spezifisch für IFN- γ . Dabei ist es auch in der Lage, die Expression von MHC der Klasse II in Zellen zu induzieren, die diese Gene nicht konstitutiv exprimieren (nicht-professionelle APCs) [33].

Eine der wichtigsten Wirkungen von IFN- γ ist die Aktivierung von Makrophagen und deren Umwandlung in potente Effektor-Zellen. Makrophagen, die durch IFN- γ aktiviert werden, zeigen eine erhöhte Pinozytose und rezeptorvermittelte Phagozytose, sowie eine verbesserte Fähigkeit zur Abtötung von Mikroorganismen. Ein weiterer Unterschied zwischen IFN- γ und den Typ I Interferonen ist die Fähigkeit von IFN- γ den Übergang von der angeborenen Immunität zur adaptiven Immunität einzuleiten. Dazu gehört die Stimulation proliferierender CD4⁺-T-Zellen zur Differenzierung zum T_{H1}-Phänotyp und die Förderung des Isotypwechsels von B-Zellen zum IgG-Typ. Ein weiterer Aspekt ist die Ausschüttung von Chemokinen und die verstärkte Expression von Adhäsionsmolekülen auf der Oberfläche von Endothelzellen [33].

1.2.6. Einfluss von Glukokortikoiden auf das Immunsystem

Kortikosteroide sind Lipidhormone, die von den Nebennieren gebildet werden und zahlreiche Funktionen im menschlichen Organismus innehaben. Neben Hormonen mit androgener Wirkung, die zu den Sexualhormonen gehören und den Mineralkortikoiden, die den Wasser- und Salzhushalt des Organismus regulieren, sind Glukokortikoide dafür bekannt die Blutglukosekonzentration und den Blutdruck in Stresssituationen zu steigern und das Immunsystem zu supprimieren. Ihre immunsupprimierende Wirkung wird sich in der medikamentösen Therapie einer Vielzahl von Krankheiten zunutze gemacht, neben der kurzfristigen Gabe von Glukokortikoiden z.B. bei allergischen Reaktionen, wird eine dauerhafte Therapie bei chronisch entzündlichen und rheumatischen Erkrankungen indiziert. Die Mechanismen, die den immunsuppressiven Eigenschaften dieser Hormone zugrunde liegen, wurden intensiv untersucht und es wird allgemein anerkannt, dass Glukokortikoide

pleiotrope Auswirkungen auf das Immunsystem haben [36, 37]. Im Folgenden soll kurz angerissen werden, welche immunsupprimierende Mechanismen Glukokortikoide aufweisen, besonders in Hinblick auf die T-Zell Funktion, auf eine vollständige Widergabe der immunsupprimierenden Funktionen ist jedoch aufgrund des großen Umfangs der Thematik verzichtet.

Glukokortikoide supprimieren das Immunsystem auf verschiedene Wege. Die Einnahme von Glukokortikoiden verringert die Anzahl der funktionstüchtigen Lymphozyten, einschließlich der B- und der T-Zellen. Dies geschieht zum einen durch die Hemmung von Transkriptionsfaktoren wie NF- κ B, zum anderen durch die Hemmung von Genen, welche die Bildung wichtiger Zytokine wie Interleukine und IFN- γ kodieren, aber auch direkt durch glukokortikoidinduzierte Apoptose von Lymphozyten. Weiterhin beeinflussen Glukokortikoide die Ausreifung von T-Helferzellen und begünstigen die Differenzierung von TH₂-Zellen und regulatorischen T-Zellen gegenüber der Differenzierung von TH₁-Zellen und TH₁₇-Zellen [36]. Die fehlende Expressierung von IL2 bewirkt zum einen, dass weniger T-Lymphozyten aktiviert werden und zum anderen, dass die Antikörperproduktion von B-Zellen herunterreguliert wird und weniger B-Zellklone gebildet werden. Hu et al. konnten beweisen, dass Glukokortikoide neben der Signalübertragung von IL2 und IL2 auch die Bildung von Interferon-Gamma hemmen[38]. Glukokortikoide haben so einen Einfluss auf die zelluläre, als auch auf die humorale Immunantwort.

1.3. Diagnostik der Tuberkulose

Das langsame Wachstum der Tuberkelbakterien und die spezifische Pathophysiologie mit häufig subklinischer Primärinfektion und Übergang in eine latente Infektion erschweren die Diagnostik der Tuberkulose. Grundsätzlich unterscheidet man verschiedene diagnostische Methoden, die je nach Stadium der Erkrankung zum Einsatz kommen. Besteht der Verdacht auf eine symptomatische, also eine aktive Tuberkulose, kommen radiologische Verfahren in Kombination mit mikrobiologischen Untersuchungen für einen direkten Erregernachweis zum Einsatz [39]. Bei der Diagnostik einer latenten Tuberkulose kann ein direkter Erregernachweis nicht erfolgen, hier werden indirekte immunologische Verfahren verwendet, die durch eine zellulären Immunreaktion auf Proteine von Mykobakterien den Nachweis einer vorangegangenen Infektion erbringen.

1.3.1. Diagnostik der aktiven Tuberkulose

Während die Erstinfektion mit *M. tuberculosis* und die primäre Tuberkulose bei immunkompetenten Menschen häufig asymptomatisch verläuft, haben immungeschwächte Patienten eine Prädisposition für schwerwiegende und rapide Verläufe. Die aktive Tuberkulose ist im Gegensatz zur latenten Tuberkulose ein symptomatisches Krankheitsbild. Je nach Ort der Infektion und Organbeteiligung können sich unterschiedliche Symptome zeigen. Bei der pulmonalen Tuberkulose sind mögliche Symptome Schwäche, Nachtschweiß und Fieber. Auch Husten, Hämoptysen und Dyspnoe können auftreten. Die extrathorakale Tuberkulose (ETB) kann sich in jedem Organ manifestieren, findet sich aber am häufigsten in Lymphknoten, Urogenitalsystem und Knochen. Die Symptome sind je nach Organmanifestation vielfältig und häufig nicht wegweisend für die Diagnostik. Differentialdiagnostisch werden häufig in niedrig Prävalenzländern zuerst maligne Tumore oder andere entzündliche Prozesse als Ursache von Krankheitssymptomen vermutet, bevor an eine Tuberkulose gedacht wird [40]. Zur Diagnostik der aktiven Tuberkulose werden radiologische Verfahren, die den Ort des Infektionsgeschehen aufdecken sollen, mit mikrobiologischer Diagnostik, zum Nachweis des Keimes und zur Resistenzbestimmung, kombiniert.

Die S2k Leitlinie „Tuberkulose im Erwachsenenalter“ von 2017 empfiehlt bei der pulmonalen Tuberkulose die Durchführung eines Röntgen Thorax in zwei Ebenen vor Therapiebeginn und die Wiederholung der Bildgebung zur Verlaufskontrolle [42]. Die Durchführung einer Sonographie, Computertomographie (CT) oder Magnetresonanztomographie (MRT) kann als diagnostisches Instrument zur Differentialdiagnostik, sowie bei atypischen Verläufen oder bei Verdacht auf extrathorakale Tuberkulose hilfreich sein [43].

Besteht der klinische Verdacht auf eine aktive Tuberkulose, sollte vor Initiierung einer Therapie immer ein Keimnachweis erfolgen. Die kostengünstigste und schnellste Methode hierfür ist der mikroskopische Nachweis von Tuberkulosebakterien [44]. Diese können als säurefeste Stäbchenbakterien in Sputum oder Magensaft nachgewiesen werden, oder bei extrathorakaler Tuberkulose auch in anderen Körperflüssigkeiten wie Urin, Liquor, Sperma, Blut oder anderen Punktaten wie z.B. Aszites oder Pleuraerguss [42].

Die Sensitivität der Mikroskopie bei aktiver Tuberkulose ist mit 20 – 94 % beschrieben, wobei spezielle Färbetechnik nach Ziehl-Neelsen oder Kinyoun zum Einsatz kommen sollten, welche „säurefeste“ Bakterien farblich hervorheben und von anderen Erregern abgrenzen [45, 46]. Werden säurefeste Stäbchen identifiziert, ist dies jedoch kein Beweis einer Tuberkulose, da optisch nicht zwischen nichttuberkulösen Mykobakterien und *M. tuberculosis* unterschieden werden kann [47]. Alternativ zur herkömmlichen Lichtmikroskopie kann die Fluoreszenzmikroskopie z.B. mit Auramin-Färbung angewendet werden, welche eine höhere Sensitivität aufweist als die der konventionellen Mikroskopie, bei gleichbleibender Spezifität [46, 48].

Zusätzlich zur Mikroskopie soll immer die kulturelle Untersuchung erfolgen. Sie ist der Goldstandard der Diagnostik der aktiven Tuberkulose [42, 47]. Hierfür stehen verschiedene flüssige und feste, lipidhaltige Nährböden wie z.B. der Löwenstein-Jensen Agar zur Verfügung. Gelingt ein Keimnachweis in Mikroskopie oder Kultur, muss die umgehende Identifizierung des Keims erfolgen, um eine Besiedelung mit NTM auszuschließen. Dazu können Nukleinsäureamplifikationstests (NAT), wie z.B. die Polymerasekettenreaktion (PCR) zum Einsatz kommen. Neben dem Keimnachweis kann die Realtime-PCR genutzt werden, um Antibiotikaresistenzen aufzudecken. Ein solches von der WHO empfohlenes diagnostisches Instrument zum Nachweis einer Infektion mit *M. tuberculosis* und zeitgleichem Nachweis einer Rifampicin Resistenz ist der Xpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, United States). Die Sensitivität zum Nachweis einer Rifampicin Resistenz ist mit 86 % - 98 % angegeben [49, 50]. Vorteil des Xpert ist, dass ein Keimnachweis bereits bei einer Anzahl von 131 Koloniebildenden Einheiten pro Milliliter Sputum erfolgen kann, wohingegen in der Mikroskopie ca. 10,000 Bakterien pro mL vorhanden sein müssen [51].

Alternativ zur Realtime-PCR stehen andere molekularbiologische Verfahren zum Nachweis von Antibiotikaresistenzen wie die Streifenhybridisierung zur Verfügung. Bei dieser Methode erfolgt die spezifische Anlagerung von komplementärer DNA oder RNA Fragmenten über Basenpaarung; das Vorliegen einer Mutation in bestimmten Genabschnitten wird bei diesem Verfahren eindeutig nachgewiesen [52]. Alternativ kann eine phänotypische

Resistenzbestimmung durchgeführt werden, bei der das Wachstum der Mykobakterien unter Einwirkung der untersuchten Antibiotika beurteilt wird und ein sogenanntes Antibiogramm erstellt wird.

1.3.2. Diagnostik der latenten Tuberkulose

1.3.2.1. Tuberkulin-Skin-Test

Vor der Einführung des LTBI-Screenings mit Interferon Gamma Release Assays wurde die Testung auf LTBI mit dem Tuberkulin-Skin-Test durchgeführt. Bei der Methode nach Mendel-Mantoux erfolgt dabei die intrakutane Injektion gereinigten Tuberkulins in den volaren Unterarm. Nach maximal 72 Stunden wird der Test ausgewertet, ein positives Ergebnis liegt vor, wenn eine Induration der Haut von ≥ 5 mm gemessen wird. Hierbei handelt es sich um einen indirekten Erregernachweis, da der Test die T-Zell vermittelte Reaktion auf den Kontakt zu Tuberkulin *Purified Protein Derivative* (PPD) RT23 misst. Im Falle einer durchgemachten Infektion mit Tuberkulose, oder bei noch bestehender Erkrankung erkennen die körpereigenen Lymphozyten die im Tuberkulin-Serum enthaltenen Antigene und es kommt zu einer Immunreaktion vom verzögerten Typ. Bei Antigenkontakt kommt es zur Aktivierung der lokalen Tuberkulose-spezifischen Gedächtnis-T-Lymphozyten und Sekretion proinflammatorischer Zytokine durch diese [53]. Dies bedingt zum einen die Migration weiterer Zellen des Immunsystems, die Vermehrung der spezifischen Lymphozyten und Interaktion mit T-Helferzellen. Die von Immunzellen ausgeschütteten Zytokine lösen die Ausbildung von Erythem, Ödem und Induration aus. Für die Ablesung und Auswertung des Tests wird nur die Induration gemessen. Ist diese unter 5 mm oder liegt nur eine Rötung vor, gilt das Ergebnis als negativ.

Vorteile des TST sind seine geringen Kosten und die direkte Durchführung und Auswertung am Patienten. Außer dem Tuberkulin-Serum werden keine zusätzlichen Reagenzien oder Laboratorien benötigt. Von Nachteil ist hingegen, dass das Ablesen des Tests innerhalb von 48 – 72 Stunden erfolgen muss. Dies erfordert einen zweimaligen Patientenkontakt. Trotz einheitlicher Definition des Vorliegens eines positiven Testergebnisses bei einer Induration von über 5 mm kann es zu Fehlern bei der Auswertung des Testes kommen, wenn zum Beispiel die Rötung anstelle der Induration gemessen wird. Eine Impfung mit BCG kann mit der Auswertung des TST interferieren, da es aufgrund der genetischen Ähnlichkeit zwischen BCG und *M. tuberculosis* zu falsch positiven Ergebnissen kommen kann. Kreuzreaktionen und eine erhöhte Anzahl an falsch positiven Ergebnissen bei Infektionen mit nichttuberkulösen Mykobakterien sind ebenfalls beschrieben worden [54].

Insgesamt ist die gepoolte Sensitivität des Tests mit 77 % beschrieben. Die Spezifität zeigte jedoch einen deutlicheren Unterschied zwischen nicht-BCG-geimpften und BCG-geimpften Teilnehmern. Bei den nicht BCG-geimpften Probanden war die gepoolte Spezifität durchweg hoch und betrug 97 %, in der BCG-geimpften Population betrug die Spezifität nur 59 % [55].

Aufgrund der niedrigen Spezifität des TST wird die Überprüfung positiver Testergebnisse mittels IGRA in Deutschland vom Deutschen Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose (DZK) empfohlen. Weiterhin sind falsch-negative Ergebnisse bei aktiver Tuberkulose und bei Patienten mit Immunschwäche beschrieben [56].

Ein neuartiger Test, der *C-Tb skin Test* (Statens Serum Institute, Copenhagen, Denmark), ist dem TST in der Durchführung ähnlich, zeigte in klinischen Studien jedoch eine erhöhte Sensitivität als dieser [57, 58]. Hier erfolgt die intrakutane Injektion von rekombinanten Tuberkulose Antigenen, ESAT-6 und CFP-10, in den volaren Unterarm; sowie das Ablesen der Induration nach 48 - 72 Stunden gemäß der Technik nach Mendel-Mantoux. Im Jahr 2017 wurde die Sicherheit und Wirksamkeit des C-Tb in einer Phase III randomisierten, kontrollierten, Doppelblindstudie überprüft. Hier zeigte sich im Vergleich zum TST eine erhöhte Sensitivität, da Patienten nach BCG-Impfung keine falsch positiven Ergebnisse aufwiesen. Dies wird darauf zurückgeführt, dass die verwendeten Antigene in *Mycobacterium bovis* nicht exprimiert werden [59].

1.3.2.2. Interferon Gamma Release Assays

Interferon Gamma Release Assays (IGRAs) messen die Menge an Interferon-Gamma, die von körpereigenen T-Zellen bei Kontakt mit spezifischen Antigenen des *Mycobacterium tuberculosis*-Komplexes ausgeschüttet werden [60].

Dabei gilt es zwei kommerzielle, in Deutschland verfügbare Tests zu unterscheiden: QuantiFERON-TB Gold In-Tube (QFT-GIT) und der neuere QuantiFERON-TB Gold Plus (Qiagen, Hilden, Germany), sowie T-SPOT.TB (TSPOT) (Oxford Immunotec, Ltd, Abingdon, Oxfordshire, United Kingdom).

Bei beiden Tests handelt es sich um indirekte Nachweisverfahren für eine Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis*, welche auf ähnliche Methoden der Proteinanalytik zurückgreifen. Beide Tests haben gemeinsam, dass sie den stattgehabten Kontakt des Organismus mit *Mycobacterium tuberculosis in vitro* visualisieren. Die Immunantwort der körpereigenen T-Zellen auf zwei spezifische Antigene des *Mycobacterium tuberculosis*-Komplexes wird je nach Test mittels *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) oder *Enzyme-linked immunospot Assay* (ELISPOT) dargestellt. Liegt eine Infektion mit *M. tuberculosis* vor, sezernieren

sensibilisierte Tuberkulose-spezifische T-Zellen bei Antigenkontakt Interferon-Gamma. Dieses wird mit spezifischen Antikörpern markiert und gemessen und mit einer Positiv-, sowie einer Negativkontrolle abgeglichen. Unter Methoden soll im Einzelnen auf die Funktionsweise des T-SPOT.TB eingegangen werden, da sich unsere Studie auf seine Verwendung beschränkt hat.

Die in T-SPOT.TB verwendeten Antigene, ESAT-6 (6 kDa *early secretory antigenic target*) und CFP-10 (*Culture Filtrate Protein-10*), sind für Mykobakterien des *Mycobacterium tuberculosis*-Komplexes (*M. tuberculosis*, *M. microti*, *M. africanum*, *M. canetti*, *M. bovis*) spezifische Peptide und werden auf der *Region of difference 1* (RD 1) des *M. tuberculosis* Genoms kodiert [61]. Auch QuantiFERON-TB Gold In-Tube nutzt CFP-10 und ESAT-6. Zusätzlich dazu verwendet QFT-GIT Plus ein drittes Antigen: TB-7.7 aus der *Region of difference 2* (RD 2) des *M. tuberculosis* Genoms. Diese „RD“-Gene werden bei den meisten Umwelt-Mykobakterien, sowie bei den Stämmen von *Mycobacterium bovis*-BCG nicht exprimiert [62]. Dies bedingt, dass die Kreuzreaktivität der Antigene mit anderen Mykobakterien und dem BCG-Impfstoff deutlich reduziert wird. Die niedrige Kreuzreaktivität erklärt die hohe Spezifität von IGRAs.

Da der T-SPOT.TB eine definierte Anzahl an PMBC voraussetzt, kann ein gewisses Maß an Standardisierung erreicht werden. Liegt jedoch ein singulärer T-Zell Mangel vor, kann dies nicht kompensiert werden. Weiterhin können nicht valide Ergebnisse durch eine hohe Hintergrundreaktion in den nicht stimulierten Zellen oder eine geringere als die erwartete Reaktion auf Mitogen stimulierte Zellen entstehen. Diese Effekte können verschiedene Auslöser haben, zum einen durch Beeinträchtigung des Immunsystems und somit die Funktionsfähigkeit der T-Zellen durch Krankheiten oder Medikamente, welche eine T-Zell Anergie auslösen oder eine Lymphozytopenie bewirken, aber auch durch Transportfehler oder technische Fehler bei der Durchführung des Tests [60, 63].

Die Sensitivität von T-SPOT.TB wurde in verschiedenen Studien untersucht und ist in der Packungsbeilage des Tests mit 95.6 % angegeben, die geschätzte Spezifität mit 97.1 %, die Rate an nicht validen Ergebnissen beträgt 3.4 % [64].

Eine Meta-Analyse von Cattamanchi et al. ergab, dass IGRAs (T-SPOT.TB und QFT-GIT) bei HIV-Infizierten nicht durchweg sensitiver sind als der TST, aber sie konnte nachweisen, dass der T-SPOT.TB-Test eine höhere Sensitivität aufweist und weniger von Immunsuppression beeinflusst wird als der TST oder QFT-GIT [65]. Da beide Tests falsch-negative Ergebnisse liefern können, kann die geringe Übereinstimmung zwischen den Tests möglicherweise dazu beitragen, mehr Fälle von LTBI zu identifizieren, wenn die beiden Tests parallel angewendet werden, wobei Infektionen, die durch IGRA nicht erkannt werden, möglicherweise durch den TST entdeckt werden und umgekehrt [66].

1.4. Therapie der Tuberkulose

1.4.1. Therapie der aktiven Tuberkulose

Die Therapie der aktiven Tuberkulose erfolgt nach den Empfehlungen der S2k-Leitlinie des Deutschen Zentralkomitees zur Bekämpfung der Tuberkulose e.V. und der Leitlinie der Weltgesundheitsorganisation (WHO) mit einer Kombination von Antibiotika unter Berücksichtigung der aktuellen Resistenzsituation. Die Therapieempfehlung für Patienten ohne Risikofaktoren für eine Medikamentenresistenz beinhalten eine initiale Vierfachtherapie mit Isoniazid (INH), Pyrazinamid (PZA), Rifampicin (RMP) und Ethambutol (EMB) über zwei Monate, sowie eine Erhaltungstherapie mit Isoniazid und Rifampizin für weitere vier Monate [42, 67].

1.4.2. Therapie der latenten Tuberkulose

Das Ziel der Therapie der latenten Tuberkulose ist die Verhinderung der Progression zu einer aktiven Tuberkulose, sie wird auch Chemoprävention genannt. Die Durchführung einer solchen Chemoprävention ist vor allem bei Patienten mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer aktiven Tuberkulose sinnvoll. Zu diesen Patienten zählen HIV-Infizierte, Patienten mit einer angeborenen oder erworbenen Immunschwäche und Patienten mit schwerwiegenden Grunderkrankungen, wie maligne Tumore oder Diabetes mellitus [42]. Auch die Behandlung mit TNF-alpha Blockern stellt ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer aktiven Tuberkulose dar, sowie den Übergang in eine disseminierte oder extrapulmonale Tuberkulose [68]. Die Behandlung der latenten Tuberkulose kann mit verschiedenen Therapie-Regimen erfolgen, dabei wird eine Monotherapie oder eine Zweierkombination von Tuberkulostatika eingesetzt. [42, 69].

1.5. Ziele der Arbeit

Ziel der Arbeit ist es, durch eine groß angelegte retrospektive Datenerhebung und Analyse zu evaluieren, ob die Einnahme von Kortikosteroiden einen Einfluss auf die Ergebnisvalidität des T-SPOT.TB IGRAs hat, bzw. es zu einer Zunahme der nicht validen Ergebnisse bei der Einnahme von Kortikosteroiden kommt. Sekundär soll beobachtet werden, ob es andere Einflussfaktoren gibt, die mit nicht validen Testergebnissen assoziiert sind. Im Vordergrund steht dabei die Frage welche Einflussfaktoren es auf die T-Zellzahl sowie T-Zellfunktion gibt und inwiefern sich diese in Subgruppen zusammenfassen und analysieren lassen. Dabei werden sowohl Erkrankungen als auch medikamentöse Einflüsse berücksichtigt. Verschiedene bereits in anderen Studien untersuchte Einflussfaktoren wie zum Beispiel HIV-Infektion oder immunsupprimierende Medikation werden miteinbezogen, aber auch kleinere Subgruppen mit Patienten mit Psoriasis vulgaris oder Chronisch Entzündlichen Darmerkrankungen werden gebildet.

Ein weiterer Endpunkt ist es, herauszufinden, ob es Einflussfaktoren auf die Anzahl der positiven Testergebnisse gibt. Hier wird untersucht, ob die Einnahme von Kortikosteroiden mit einer geringeren Anzahl an positiven Testergebnissen im T-SPOT.TB IGRA assoziiert ist. Auch andere Einflussfaktoren auf die Anzahl positiver Testergebnisse, wie die Einnahme von Immunsuppressiva oder ein positiver HIV-Status werden in einer statistischen Analyse untersucht. Obwohl diese Studie die Frage, welche Einflussfaktoren es auf die Anzahl falsch negativer Ergebnisse im T-SPOT.TB-Test geben könnte, nicht beantworten kann, wollen wir herausfinden, welche Einflussfaktoren es gibt, die mit einer geringeren Anzahl an positiven Testergebnissen assoziiert sind.

2. Material und Methoden

Zwischen Januar 2014 und Dezember 2015 wurden am Universitätsklinikum Düsseldorf insgesamt 1339 Proben mit dem T-SPOT.TB-Assay untersucht. Es wurden pro Patient 6 ml venöses Blut in einem Li-Heparin Röhrchen entnommen und in das mikrobiologische Labor geschickt, wo der T-SPOT.TB gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt wurde. T-SPOT.TB verwendet eine enzymgekoppelte Immunospot-Methode, um die TB-spezifischen aktivierten Effektor-T-Zellen des Patienten zu ermitteln, wenn diese mit den beiden rekombinanten *M. tuberculosis*-spezifischen Proteinen ESAT-6 und CFP-10 in separaten Vertiefungen inkubiert werden. Zur Durchführung des Assays wird eine standardisierte Anzahl von mononukleären Zellen aus peripherem Blut verwendet. Eine Positivkontrolle ist enthalten, um die Funktionalität der mononukleären Zellen mit Phytohämagglutinin (PHA) zu bestätigen, sowie eine Nullkontrolle (Ansatz nur mit Kulturmedium, ohne Stimulanz), um eine unspezifische T-Zell-Aktivierung auszuschließen.

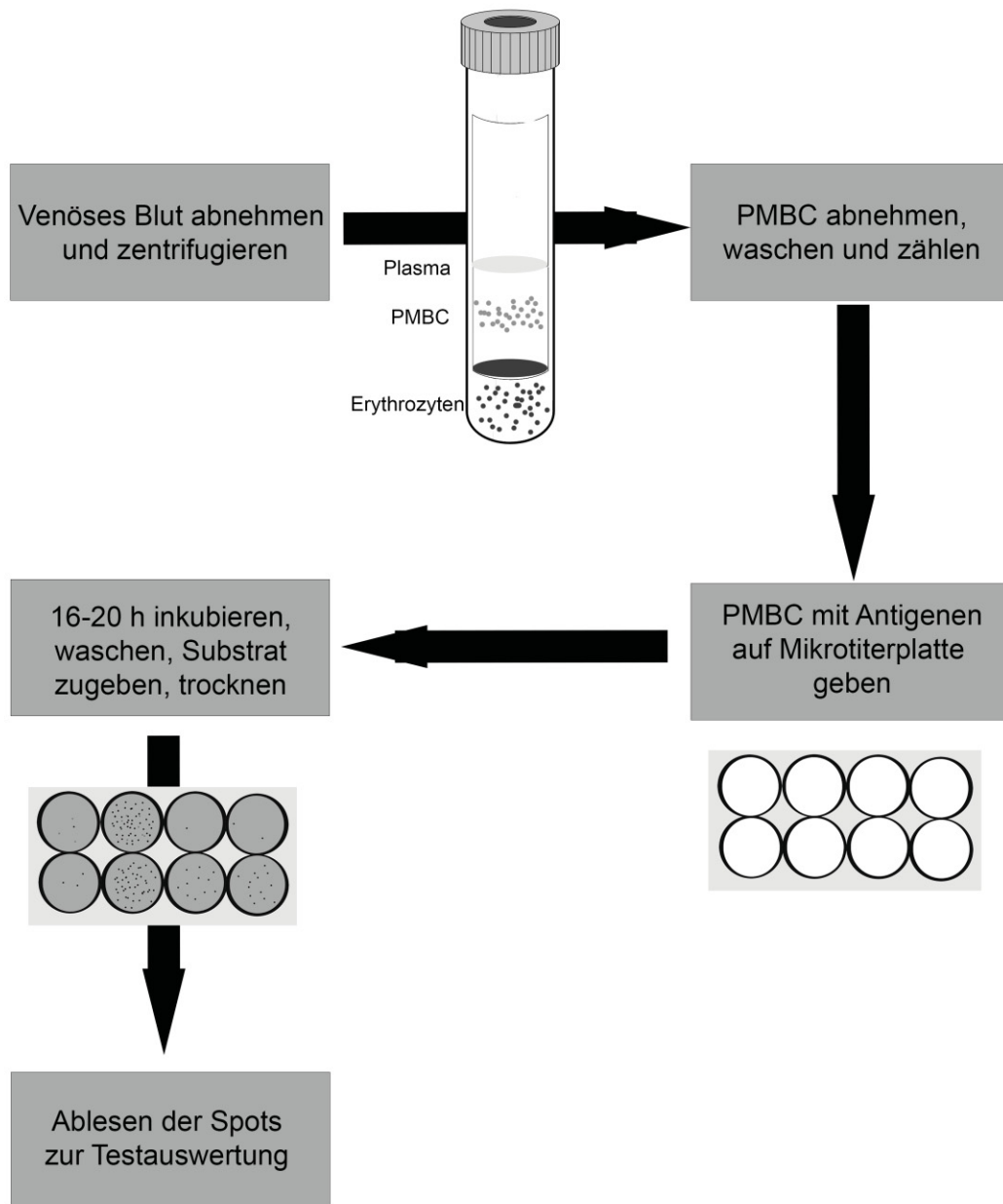


Abb. 2: Vereinfachte Darstellung der Durchführung des T-SPOT.TB IGRA.

Quelle: eigene Darstellung

Die peripheren, mononukleären Zellen (PBMC) einer venösen Blutprobe des Patienten werden mittels Dichtegradienten-Zentrifugationsmethode isoliert und maschinell gezählt. Die Konzentration der PBMC in der Ausgangssuspension wird berechnet und es werden 500 µl einer Zellsuspension mit einer Konzentration von $2,5 \times 10^5$ PBMC pro 100 µl hergestellt. Für jede Patientenprobe werden jeweils 100 µl in vier Vertiefungen einer Mikrotiterplatte gegeben, dabei sind zwei Vertiefungen mit den tuberkulose-spezifischen Antigenen ESAT-6 und CFP-10 beschichtet (Panel A und Panel B), bei der dritten Vertiefung handelt es sich um die Positivkontrolle, die ein Mitogen (Phytohämagglutinin) enthält. Die vierte Vertiefung, in

der es keine T-Zell aktivierende Substanz gibt, dient als Negativkontrolle und soll eine unspezifische T-Zellaktivierung aufdecken. Nach Zugabe der Zellsuspension in die Panels wird die Platte über 16 bis 20 Stunden in einen befeuchten Inkubator bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. T-Zellen mit TB-spezifischem T-Zell Rezeptor binden die Antigene und schütten Interferon-Gamma aus. Dieses wird von spezifischen Antikörpern, die auf einer Membran festgehalten sind, gebunden, während der zelluläre Überschuss und andere Zytokine in einem Waschvorgang entfernt werden. Ein zweiter Enzym-gekoppelter Antikörper wird hinzugegeben, welcher an ein anderes Epitop von Interferon-Gamma bindet. Nach einem erneuten Waschvorgang wird ein Substrat beige setzt, welches den enzymatischen Farbstoff an der Stelle freisetzt, an der es zu einer Bindung zwischen Interferon-Gamma und dem spezifischen Antikörper gekommen ist. Es bilden sich kleine Punkte, die jeweils eine Interferon-Gamma produzierende T-Zelle darstellen, sogenannte Spots. Die Spots werden durch ein Mikroskop sichtbar gemacht und abgelesen. Eine schematische Darstellung der Abfolge der einzelnen Testschritte ist in Abbildung zwei zu sehen.

Die Ergebnisse des T-SPOT.TB-Tests werden als positiv aufgezeichnet, wenn die Vertiefungen A oder B (mit ESAT-6- und CFP-10-Antigenen) mindestens 8 Spots mehr aufweisen als die Nullkontrolle. Ein Ergebnis gilt als grenzwertig positiv, wenn die höchste Spotanzahl von Vertiefung A oder B 5, 6 oder 7 Spots mehr als die Nullkontrolle aufweist. Ein negatives Ergebnis ist eine Spotanzahl (minus der Anzahl der Spots der Nullkontrolle) von weniger als 5 in beiden Vertiefungen. Darüber hinaus muss jeder Patient eine ausreichende Reaktion auf die Positivkontrolle zeigen (>20 Spots). Eine Negativkontrolle mit mehr als 10 Spots gilt als nicht valide. Diese Grenzwerte wurde gemäß der Packungsbeilage des Herstellers festgelegt. In dieser Studie wurde ein nicht valider Test als ein Test bezeichnet, bei dem entweder die Positivkontrolle oder die Negativkontrolle nicht im erwarteten Bereich lag. Eine schematische Darstellung der Panels mit einem Beispiel für ein negatives, sowie ein positives Testergebnis ist in Abbildung 3 zu sehen.

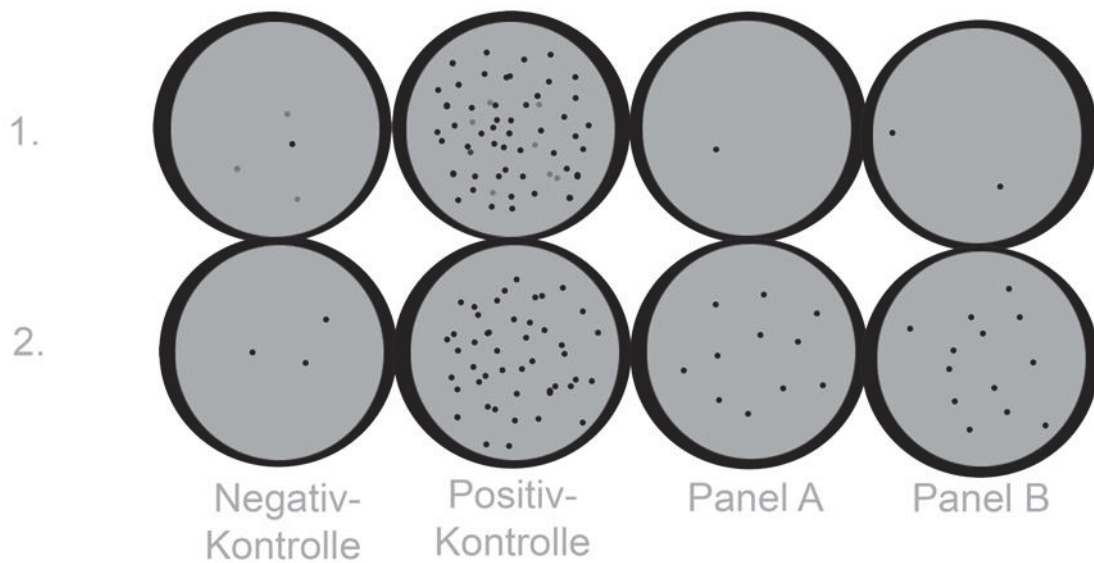


Abb. 3: Schematische Darstellung des T-SPOT.TB Elispot mit zwei Patientenproben. Obere Reihe, 1. zeigt einen negativen T-SPOT.TB-Test, untere Reihe 2. zeigt einen positiven Test mit > 8 Spots in den Antigen Panels. Quelle: eigene Darstellung

Eine Reihe von Gründen für eine nicht reaktive positive Kontrolle kann angenommen werden, einschließlich einer relativen Verringerung der Anzahl von T-Zellen, da im Test die gesamten mononukleären Zellen verwendet werden, welche neben T-Zellen auch B-Zellen und Monozyten umfassen, die kein IFN- γ sezernieren. Weitere Gründe sind das Vorhandensein nicht vitaler T-Zellen oder eine unspezifische oder medikamentös induzierte T-Zell-Anergie. Eine unspezifische Stimulation der T-Zellen hingegen tarnt ein echtes positives Ergebnis und kann durch eine Reihe von patienten- und nicht patientenbezogenen Bedingungen verursacht werden.

Nach Zustimmung der Ethikkommission der Universität Düsseldorf (Studiennummer 5266) wurden die Krankenakten der Patienten, deren Proben zur T-SPOT.TB-Analyse eingeschickt wurden, retrospektiv analysiert und die Daten zur Krankengeschichte aller Patienten extrahiert. Die Krankenakten wurden im Hinblick auf mögliche Einflüsse auf die T-Zell-Antwort, wie zum Beispiel HIV-Status und immunsuppressive Medikation, insbesondere Kortikosteroide, untersucht. Andere Faktoren, die auf eine Dysfunktion des Immunsystems hinweisen, wurden ebenfalls charakterisiert und in die Analyse einbezogen; das Vorhandensein von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) und Psoriasis vulgaris wurden zusammengefasst und auf Abweichungen von der Kontrollgruppe überprüft. Da die Anzahl der Patienten mit anderen immunsuppressiven Erkrankungen sehr gering war, wurden

keine weiteren Analysen für diese Untergruppen durchgeführt. Die immunsuppressive Behandlung umfasste Zytostatika (Azathioprin, Methotrexat, Colchicin, 5-Aminosalizylsäure, Cyclophosphamid oder Mycophenolsäure), Calcineurin-Inhibitoren (Cyclosporin, Tacrolimus, Sirolimus oder Severolimus), TNF-Hemmer (Infliximab, Adalimumab, Eterncept), biopharmazeutische Wirkstoffe (Rituximab, Anakinra, Alemtuzumab, Sekukinumab, Ustekinumab, Tocilizumab) und andere immunmodulierende Wirkstoffe (Dimethylfumarat, Fingolimod). Die Datenanalyse wurde mit dem SPSS-Softwarepaket Version 24.0 (IBM Corp. Freigegeben 2016. IBM SPSS Statistics for Macintosh, Version 24.0. Armonk, NY: IBM Corp.) durchgeführt. Um die Korrelation zwischen der begleitenden Kortisontherapie (sowie der anderen Faktoren) und den Ergebnissen des T-SPOT.TB Tests zu ermitteln, wurden die Ergebnisse der Gruppen mit dem Chi-Quadrat-Test und Cramers-V statistisch ausgewertet.

3. Ergebnisse

Von 1339 durchgeführten Tests waren 914 für die Datenanalyse geeignet. 425 Tests wurden aus folgenden Gründen ausgeschlossen: Für 201 Proben waren keine oder unzureichende klinische Daten verfügbar, 61 Tests wurden innerhalb einer Zeitspanne von 6 Wochen wiederholt und 163 Tests wurden aufgrund einer unzureichenden PMBC-Zahl nicht durchgeführt.

Die Altersspanne der getesteten Population lag zwischen 0 und 91 Jahren, der Median des Alters betrug 46 Jahre. 507 (55,5 %) der getesteten Patienten waren männlich. Nur 15 Patienten mit soliden Organtransplantationen wurden eingeschlossen und 17 Patienten mit rheumatoider Arthritis. Von den ausgewerteten Tests waren 858 (93,9 %) valide und 56 (6,1 %) nicht valide.

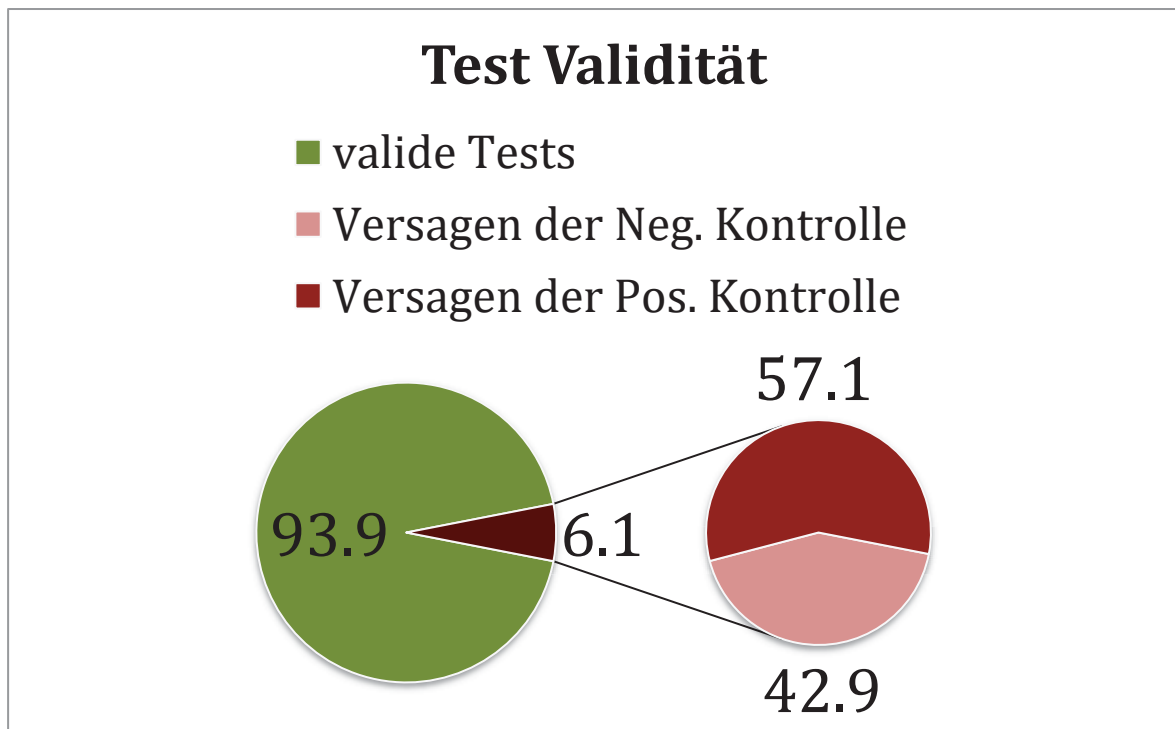


Abb.4: Darstellung der Anzahl der validen und nicht validen Tests des T-SPOT-TB

Von den gültigen Testergebnissen waren 719 (83,8 %) negativ und 130 (15,2 %) positiv, 9 Tests (1 %) waren grenzwertig positiv. Nicht valide Ergebnisse ergaben sich durch Versagen der negativen Kontrolle in 24 (42,9 %) und dem Versagen der positiven Kontrolle in 32 (57,1 %) Fällen, wie in Abbildung 4 dargestellt.

Tabelle 1: Übersicht über die Anzahl der Teilnehmer der einzelnen Patientengruppen

	N, (%)
Männlich	507 (55.5)
Weiblich	407 (44.5)
Einnahme von Kortikosteroiden	196 (21.4)
Keine Einnahme von Kortikosteroiden	718 (78.6)
Einnahme von Immunsuppressiva	173 (18.9)
Keine Einnahme von Immunsuppressiva	741 (81.1)
HIV-Positiv	94 (10.3)
HIV-Negativ	820 (89.7)
CED	55 (6)
Keine CED	859 (94)
Psoriasis vulgaris	123 (13.5)
Keine Psoriasis vulgaris	791 (86.5)

Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die Anzahl der Studienteilnehmer der Subgruppenanalysen. Von 914 Patienten nahmen 196 (21.4 %) zum Zeitpunkt des Tests Kortikosteroide ein; von diesen Patienten erhielten 180 (91,8 %) ein gültiges Ergebnis und 16 (8,2 %) ein nicht valides Ergebnis. Dies steht im Vergleich zu 40 nicht validen Tests von 718 (5,6 %) Ergebnissen von Patienten, die zum Zeitpunkt des Tests keine Kortikosteroid Therapie erhielten ($p = 0,180$), (relatives Risiko [RR] 1,46, 95 % Konfidenzintervall [95 % CI] 0,84 bis 2,56). Diese Ergebnisse sind in Tabelle 2 dargestellt. Wie aus den Häufigkeiten in Tabelle 2 ersichtlich ist, besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer begleitenden Kortikosteroid-Therapie und einem nicht validen Testergebnis.

Tabelle 2: Korrelation zwischen begleitender Kortikosteroid Therapie und Ergebnisvalidität von T-SPOT.TB

	Keine Kortikosteroide N (%)	Kortikosteroide N (%)	p
Anzahl an Patienten	718 (78.6)	196 (21.4)	
Anzahl valider Ergebnisse	678 (94.4)	180 (91.8)	
Anzahl nicht valider Ergebnisse	40 (5.6)	16 (8.2) *	0.180
* $\chi^2 (1, N = 914) = 1,799, p = 0.180$			

Von 196 Patienten, welche Kortikosteroide zum Zeitpunkt des Tests eingenommen haben, hatten 157 (87.2 %) ein negatives, 16 (12.8 %) ein positives Ergebnis im T-SPOT.TB IGRA.

In Bezug auf andere immunsuppressive Zustände hatten unter den HIV-positiven Patienten 83 (81,3 %) gültige Testergebnisse, während bei HIV-negativen Personen die Anzahl der gültigen Testergebnisse 775 (94,5 %) betrug. Es ergab sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen HIV-Status und Ergebnisvalidität ($p = 0,017$) (relatives Risiko [RR] 2,13, 95 % Konfidenzintervall [95 % CI] 1,14 bis 3,98), wie in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Korrelation zwischen Krankheit oder Therapie und Ergebnisvalidität des T-SPOT.TB

	Ergebnis valide N, (%)	Ergebnis nicht valide N, (%)	p
HIV-positiv	83 (88.3)	11 (11.7) ^a	0.017
HIV-negativ	775 (94.5)	45 (5.5)	
Immunsuppressive Medikation	164 (94.8)	9 (5.2) ^b	0.573
Keine Immunsuppressive Medikation	694 (93.7)	47 (6.3)	
CED	52 (94.5)	3 (5.5) ^c	0.830
Keine CED	806 (93.8)	53 (6.2)	
Psoriasis vulgaris	118 (95.9)	5 (4.1) ^d	0.305
Keine Psoriasis vulgaris	740 (93.6)	51 (6.4)	

- a) $\chi^2(1, N=914) = 5,662, p = .017$
- b) $\chi^2(1, N=914) = 0,317, p = .573$
- c) $\chi^2(1, N=914) = 0,046, p = .0830$
- d) $\chi^2(1, N=914) = 1,051, p = .305$

Hundertdreiundsiebzig Patienten befanden sich zum Zeitpunkt des Tests in einer immunsuppressiven Behandlung, von diesen Patienten hatten 9 (5,2 %) nicht valide Testergebnisse, verglichen mit 47 (6,3 %) Patienten, die keine immunsuppressive Therapie erhielten (relatives Risiko [RR] 0,82, 95 %-Konfidenzintervall [95 % CI] 0,41 bis 1,64). Der Chi-Quadrat-Test zeigt keinen signifikanten Zusammenhang zwischen aktueller Einnahme immunsuppressiver Medikation und Ergebnisvalidität ($p = 0,573$).

In einer Untergruppe von Patienten mit CED hatten 52 von 55 Patienten gültige Ergebnisse (94,5 %) ($p = 0,830$), (relatives Risiko [RR] 0,88, 95 %-Konfidenzintervall [95 % CI] 0,29 bis 2,74) und in der Untergruppe der Patienten mit Psoriasis vulgaris war die Rate der nicht validen Ergebnisse sogar niedriger (5 von 123 (4,1 %), $p = 0,305$), (relatives Risiko [RR] 0,63, 95 %-Konfidenzintervall [95 % CI] 0,26 bis 1,55). Insgesamt konnten nur in der HIV-Subgruppe signifikante Unterschiede in den klinischen Merkmalen der Patienten mit nicht validem Ergebnis festgestellt werden.

In einer zweiten Analyse wurde die Anzahl positiver Testergebnisse in den verschiedenen Subgruppen untersucht. Von 83 HIV-positiven Patienten hatten nur 4,8 % positive Testergebnisse, verglichen mit 16,5 % positiven Testergebnissen in der Kontrollgruppe. Der Chi-Quadrat-Test zeigt einen signifikanten Zusammenhang zwischen HIV-Infektion und positivem Testergebnis ($p = 0,005$). Auch in der Gruppe der Patienten, welche immunsuppressive Medikation einnahmen, gibt es deutlich weniger positive Testergebnisse (5,5 % versus 17,7 % ohne immunsuppressive Medikation), auch dies ist statistisch signifikant ($p = <,001$). Obwohl in der Gruppe der Patienten, welche Kortikosteroide einnehmen weniger positive Testergebnisse auftreten (12,8 %) als in der Kontrollgruppe (17,7 %), hat dies keine statistische Signifikanz.

Tabelle 4: Korrelation zwischen Krankheit oder Therapie und positivem Ergebnis im T-SPOT.TB

	Ergebnis positiv N, (%)	Ergebnis negativ N, (%)	p
HIV-positiv	4 (4.8)	79 (95.2) ^a	0.005
HIV-negativ	126 (16.5)	640 (83.5)	
Immunsuppressive Medikation	9 (5.5)	155 (94.5) ^b	<,001
Keine Immunsuppressive Medikation	121 (17.7)	564 (82.3)	
Kortikosteroide	23 (12.8)	157 (87.2) ^c	0.206
Keine Kortikosteroide	108 (17.7)	562 (82.3)	
a) $\chi^2 (1) = 7.811, p = .005$ b) $\chi^2(1) = 15.129 p = <.001$ c) $\chi^2(1) = 1.315, p = .206$			

4. Diskussion

In dieser Studie waren von 914 T-SPOT.TB-Tests 6.1 % nicht valide auf Grund eines Versagens der positiven- bzw. negativen Kontrolle. Santin et al. verglichen 18 Studien, um die diagnostische Genauigkeit von T-SPOT.TB abzuschätzen und ermittelten eine gepoolte Rate an nicht validen Ergebnissen, die 5,9 % bei insgesamt 2239 Personen betrug [70]. Allerdings betrug die Anzahl der nicht ermittelbaren Tests in Ländern mit niedriger und mittlerer TB-Belastung nur 3,5 %. Verglichen mit diesen Ergebnissen zeigt sich damit in unserer Studie eine deutlich höhere Rate an nicht validen Testergebnissen als die der Vergleichsgruppe in einem Land mit niedriger Belastung. Lee et al. fanden in ihrer Studienpopulation von Patienten mit Verdacht auf extrapulmonale Tuberkulose eine ähnlich hohe Rate an nicht validen T-SPOT.TB Ergebnissen (8,7 %). In ihrer Untersuchung versuchten sie Risikofaktoren für nicht valide Ergebnisse zu identifizieren, indem sie alle Patienten mit Verdacht auf Tuberkulose mit T-SPOT.TB testeten und in Subgruppenanalysen die Anzahl der nicht validen Testergebnisse verglichen. Ihre statistische Analyse ergab, dass erhöhtes Alter (> 70 Jahre), Grunderkrankungen wie z.B. Diabetes mellitus, immunsuppressive Behandlung, Lymphopenie und klinische Manifestationen von extrapulmonaler TB nicht signifikant mit nicht validen Testergebnissen verbunden waren, wobei jedoch nicht zwischen verschiedenen immunsuppressiven Behandlungen oder einzelnen Erkrankungen unterschieden wurde [71].

Eine Studie von Beffa et al. aus dem Jahr 2008 untersuchte die Prävalenz von nicht validen Ergebnissen von T-SPOT.TB-Tests und die assoziierten Risikofaktoren für das Auftreten von nicht validen Ergebnissen. Von insgesamt 1.429 Tests waren 49 (3,4 %) nicht valide. Nicht valide Testergebnisse waren signifikant mit einem höheren Alter (> 75 versus 5 - 75 Jahre) und der Jahreszeit, in der die Proben transportiert wurden (Herbst und Winter versus Frühling und Sommer) assoziiert. Die Inzidenz von nicht validen Testergebnissen bei Immunsupprimierten betrug 32 (3,0 %), es konnte keine statistische Signifikanz zwischen Immunsupprimierung und nicht validem Testergebnis gezeigt werden. Die Akkumulation von nicht validen Ergebnissen in der kalten Jahreszeit lässt darauf schließen, dass die Transportbedingungen das Auftreten von nicht validen Testergebnissen beeinflussen können [63].

Studien, die den Effekt einer immunsuppressiven Behandlung auf die IGRA-Leistung untersucht haben, zeigten inkonsistente Ergebnisse. Während einige Studien einen Effekt auf die IGRA-Leistung feststellten, insbesondere auf die QFT-GIT Leistung, fanden andere, ähnlich wie unsere Analyse, keinen Effekt für T-SPOT.TB [63, 72-74]. Eine 2022 veröffentlichte Meta-Analyse von Park et al. untersuchte 20 Studien mit insgesamt 4045 Patienten, welche an CED erkrankt sind und auf LTBI getestet wurden. Im Fokus ihrer Analyse stand die Konkordanz

zwischen TST und IGRA-Ergebnissen, sowie der Einfluss der Einnahme von immunsuppressiver Medikation auf die Ergebnisvalidität [75]. Es wurde sowohl der Einfluss von Kortikosteroiden als auch anderer immunsuppressiver Medikamente wie Immunmodulatoren und TNF-alpha Inhibitoren auf die Ergebnisvalidität untersucht, wobei die meisten Studien QFT-GIT als IGRA verwendeten und nur vier Studien T-SPOT.TB untersuchten. Folgende Ergebnisse wurden beschrieben: Die Anzahl der positiven Testergebnisse im IGRA war bei Patienten unter immunsuppressiver Therapie niedriger als bei Patienten ohne Therapie, während die Anzahl der nicht validen Ergebnisse bei Patienten mit immunsuppressiver Therapie höher war als bei Patienten ohne Therapie. Dies bezieht sich sowohl auf Kortikosteroide als auch auf Immunmodulatoren. Eine Subgruppenanalyse, welche die Einnahme von TNF- α Inhibitoren untersuchte, konnte keine statistische Signifikanz bei der Anzahl positiver Testergebnisse oder der Anzahl nicht valider Ergebnisse belegen. Eine der Studien, welche T-SPOT.TB untersuchte, verglich die Anzahl positiver Ergebnisse in Hinblick auf unterschiedliche immunsuppressive Therapie, inklusive der Einnahme von Kortikosteroiden. Obwohl sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der immunsuppressiven Therapie und den T-SPOT.TB-Ergebnissen zeigen konnte, stellten Song et al. fest, dass Patienten mit oralen Immunsuppressiva seltener ein positives Ergebnis hatten als solche ohne. Bei Patienten mit Kortikosteroiden oder Infliximab wurden jedoch keine ähnlichen Auswirkungen beobachtet [76].

In dieser Analyse zeigte sich, dass Patienten die Immunsuppressiva einnehmen seltener positive Testergebnisse im T-SPOT.TB haben als Patienten, die keine Immunsuppressiva einnehmen (5,5 % versus 17,7 %). Eine ähnliche Tendenz zeigte sich in der Gruppe der Kortikosteroide (12,8 versus 17,5 % positive Ergebnisse), allerdings hatte dies keine statistische Signifikanz. Ob die Anzahl an falsch negativen Ergebnissen bei Einnahme von Immunsuppressiva höher ist als in der Kontrollgruppe, kann in diesem Studiendesign jedoch nicht ermittelt werden.

Da das Risiko für die Reaktivierung einer LTBI mit zunehmender Immunsuppression steigt wird es empfohlen, dass Patienten mit Autoimmunerkrankungen vor Therapiebeginn mit starken Immunsuppressiva auf eine latente Tuberkulose getestet werden. Mariette et al. testeten ca. 500 Patienten mit rheumatischen Erkrankungen vor Beginn einer Therapie mit TNF- α Inhibitoren mittels TST, T-SPOT.TB und QFT-GIT auf LTBI und verglichen die Ergebnisse der unterschiedlichen Methoden untereinander. Sie konnten für beide IGRAs keine Risikofaktoren für nicht valide Ergebnisse identifizieren, insbesondere nicht die Einnahme von Kortikosteroiden oder Immunsuppressiva [77]. Arias Guillén et al. führte eine Studie mit ähnlichem Design durch, sie testeten 205 Patienten mit CED mit QFT-GIT, T-SPOT.TB und TST

auf LTBI und bestimmten die T-Zell-Subpopulationen mittels Durchflusszytometrie. Die Autoren konnten zeigen, dass sich die Behandlung mit zwei Immunsuppressiva signifikant auf das Ansprechen des TST auswirkt; außerdem fanden sie in den Untergruppen der Patienten, die eine Kortikosteroid- oder Anti-TNF-Monotherapie erhielten, Tendenzen zu einer proportional niedrigeren TST-Positivität, obwohl dies keine statistische Signifikanz hatte. Eine immunsuppressive Therapie wirkte sich nicht auf positive IGRA-Ergebnisse aus. Die Analyse der T-Zell Subpopulation ergab folgende Ergebnisse: Es wurden keine signifikanten Unterschiede in den T-Zell-Subpopulationen zwischen Patienten mit positiven oder negativen TST- oder T-SPOT.TB-Ergebnissen festgestellt. Patienten mit positiven QFT-GIT-Befunden hatten jedoch mehr CD8⁺ T-Zellen, was zu dem Schluss führt, dass eine niedrige CD8⁺-Zahl die Ergebnisse des QFT-GIT beeinflussen kann [78].

Im Jahr 2017 führten Edwards et al. eine Studie durch, die ein *ex-vivo* Modell verwendete, um den Einfluss von Kortikosteroiden und Infliximab auf die Leistung des QFT-GIT IGRAs zu bestimmen [79]. Infliximab zählt zu den Biologika und enthält chimäre, monoklonale Antikörper. Seine Wirkungsweise besteht in der Bindung und Neutralisierung von TNF- α , wodurch seine antiinflammatorische Wirkung bedingt wird. In Deutschland wird Infliximab zur Therapie von therapierefraktären chronisch-entzündliche Systemerkrankungen wie Morbus Crohn, der Psoriasis Arthritis oder der rheumatoiden Arthritis eingesetzt. In der Studie von Edwards wurden sowohl Kortikosteroide als auch Infliximab nach der Blutentnahme zur Patientenprobe hinzugegeben, die Ergebnisse dieser Assays wurden mit den Testergebnissen von Patientenblut ohne Medikamentenzugabe verglichen. Beide Medikamente beeinträchtigten die Leistung des QFT-GIT signifikant. Leider gibt es bis heute keine solche Studie für T-SPOT.TB.

Es ist bekannt, dass Kortikosteroide die Zytokin- und Chemokinproduktion von T-Zellen, einschließlich IFN- γ , beeinflussen und unterdrücken [38]. Dieser Effekt erklärt, warum die Leistung des QFT-GIT bei Patienten, die Kortikosteroide erhalten, im Vergleich zu der Leistung bei Patienten, die keine Kortikosteroide einnehmen, beeinträchtigt ist. Ein signifikanter Anstieg nicht valider Testergebnisse aufgrund einer verminderten IFN- γ -Freisetzung in der Kontrolle nach Mitogenstimulation (PHA) wurde von Latorre et al. bei Patienten, die Kortikosteroide einnehmen, berichtet [80]. Mit einem QFT-GIT IGRA konnten sie zeigen, dass dieser Effekt dosisabhängig ist, mit einer starken Abnahme der IFN- γ -Freisetzung bei Kortikosteroid-Dosen von mehr als 20 mg/Tag. Belard et al. zeigten, dass orales Prednisolon sowohl die QFT-GIT- als auch die TST-Leistung vermindert und mit einem erhöhten Risiko für nicht valide QFT-GIT-Ergebnisse verbunden war; während langwirksame Kortikosteroide und andere Immunsuppressiva keinen ähnlichen Effekt aufwiesen [72]. Dieser Effekt war

dosisabhängig, wobei Dosen von > 10 mg Prednisolon pro Tag mit einem Risiko von 27 % für ein nicht valides Ergebnis verbunden waren. Eine neuere Studie berichtete über ein signifikantes Risiko nicht valider Ergebnisse bei Patienten, die Steroide unter Verwendung des QFT-GIT erhielten, konnte aber keinen dosisabhängigen Effekt nachweisen [81]. Eine Studie aus dem Jahr 2021 untersuchte den Einfluss der Einnahme von Kortikosteroiden bei immunkompetenten Kindern unter 18 Jahren auf die Anzahl nicht valider Ergebnisse im QFT-GIT IGRA. Die Ergebnisse zeigen, dass es bereits bei Einnahme geringer Dosen Prednisolon zu einem signifikanten Anstieg an nicht validen Ergebnissen kam [82].

Die oben genannten Studien zeigen, dass die Einnahme von Kortikosteroiden das QFT-GIT IGRA beeinflusst und die Anzahl nicht valider Ergebnisse steigern kann. Ob ein solcher Effekt auch für T-SPOT.TB vorliegt und inwiefern dieser dosisabhängig ist, muss noch abschließend geklärt werden. Während in unserer Studie die meisten Patienten mit Kortikosteroiden Prednisolon einnahmen, konnte aufgrund der heterogenen Gruppe und teils fehlender Information über die Dosierung der Medikation keine statistische Analyse diesbezüglich durchgeführt werden. Da sich die meisten Studien auf die Verwendung von QFT-GIT konzentrieren, bleibt es weiterhin unklar, ob Prednisolon oder Kortikosteroide im Allgemeinen die Funktionalität des T-SPOT.TB IGRAs beeinflussen. Während in unserer Studie die Anzahl der nicht validen Testergebnisse bei Patienten, die Kortikosteroide einnahmen, mit 8,2 % höher war als in der Kontrollgruppe (5,6 %), widerlegte die statistische Analyse die Hypothese, dass Kortikosteroide die T-SPOT.TB-Validität signifikant beeinträchtigen. Dies gilt auch für die Anzahl positiver Testergebnisse bei Patienten, die Kortikosteroide eingenommen haben im Vergleich zur Kontrollgruppe (12,8 versus 17,5 % positive Ergebnisse). Obwohl sich auch in dieser Analyse eine Tendenz zu einer geringeren Anzahl an positiven Testergebnissen zeigt, hatte dies keine statistische Signifikanz.

Weder chronisch entzündliche Darmerkrankungen noch Psoriasis vulgaris waren mit nicht validen Testergebnissen assoziiert. Es gilt jedoch zu beachten, dass die Patientengruppe bei CED mit 55 Probanden im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 859 Patienten gering war. Interessant ist, dass Patienten mit Psoriasis vulgaris eine geringere Rate an nicht validen Testergebnissen hatten als Patienten der Kontrollgruppe (4,1 % versus 6,4 % nicht valide Testergebnisse). Dabei fällt auf, dass nur ein geringer Teil der Patienten mit Psoriasis vulgaris Immunsuppressiva oder Kortikosteroide zum Zeitpunkt des Testes eingenommen hat. Von insgesamt 123 Patienten, die an einer Psoriasis vulgaris erkrankt sind, nahmen nur 36 Patienten (29 %) Immunsuppressiva und nur 8 (6,5 %) Patienten Kortikosteroide ein. Verglichen mit der gesamten Studienpopulation, wo 21 % der Patienten Kortikosteroide

einnahmen und 18,9 % Immunsuppressiva, zeigt sich hier eine Verschiebung zugunsten der Einnahme von Immunsuppressiva in der Gruppe der Patienten mit Psoriasis vulgaris.

Ein weiterer wichtiger Endpunkt der Studie war die Frage, ob der HIV-Status die Ergebnisvalidität von T-SPOT.TB beeinflusst. HIV infiziert CD4+-T-Lymphozyten und verringert die Anzahl der funktionellen T-Zellen in der Peripherie. Da IGRAs Verfahren sind, welche die Interferon- γ Ausschüttung aus T-Zellen visualisieren und so den Kontakt des Patienten zu *Mycobacterium tuberculosis* nachweisen, gilt die Hypothese, dass die Verringerung funktioneller T-Zellen in der Peripherie die Performance des Testes beeinträchtigen kann. Mehrere Studien haben die Leistung von T-SPOT.TB und QFT-GIT bei HIV-positiven Personen untersucht. Es wurde festgestellt, dass die Sensitivität beider IGRAs bei HIV-positiven Personen im Vergleich zu HIV-negativen Personen geringer ist [70, 83]. In unserer Studie hatten von 88 HIV-infizierten Personen 11 (11,7 %) nicht valide Ergebnisse, während es bei den HIV-unifizierten Personen nur 5,5 % nicht valide Ergebnisse gab. Dieses Ergebnis stimmt mit den Ergebnissen anderer Studien überein, da die Anzahl nicht valider Testergebnisse sowohl im QFT-GIT als auch im T-SPOT.TB bekanntermaßen bei HIV-positiven Personen höher ist als bei HIV-negativen Personen. Von allen immunmodulierenden Faktoren war HIV-Positivität in unserer Analyse der Einzige, der eine statistische Signifikanz auf die Gültigkeit der T-SPOT.TB-Ergebnisse erreichte.

Ein weiterer Punkt, den es zu betrachten gilt, ist die Anzahl der positiven Testergebnisse bei HIV-positiven Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe. Während HIV-positive Patienten nur in 4,8 % der Fälle ein positives Testergebnis hatten, gab es bei den HIV-negativen Patienten 16,5 % positive Testergebnisse. Warum es einen signifikanten Unterschied der T-SPOT.TB - Positivität bei HIV-Positiven gibt, kann mit den Informationen aus diesem Studiendesign nicht endgültig beantwortet werden. Zum einen gilt die Hypothese, dass HIV-Positivität ein Risikofaktor für falsch negative IGRA-Ergebnisse ist, zum anderen besteht die Möglichkeit, dass es sich um ein Selektionsbias handelt. Da HIV-Erkrankte ein hohes Risiko haben an Tuberkulose zu erkranken und gleichzeitig eine erhöhte Morbidität und Mortalität bei Erkrankung besteht, ist es möglich, dass es in dieser Patientengruppe zur Übertestung kommt. Um herauszufinden, ob es sich bei der niedrigen Anzahl der positiven Testergebnisse im Zusammenhang mit HIV-Status und Immunsuppressiva tatsächlich um falsch negative Tests handelt, müsste man dies in einem anderen Studiendesign kontrollieren, wie zum Beispiel einer prospektiven Studie, welche die Konversion der negativ getesteten Patienten zur aktiven TB überprüft und so die Rate an falsch negativen Test ermittelt. Andere Studien konnten bereits beweisen, dass HIV-Positivität zu einer erhöhten Rate an falsch negativen Ergebnissen in der TB-Testung mit IGRAs führen [84]. Eine Meta-Analyse von Yamasue et al. untersuchte

die Risikofaktoren für falsch negative Ergebnisse bei IGRAs und konnte mehrere Faktoren identifizieren. Neben fortgeschrittenem Alter für beide IGRAs, konnte bei QFT-GIT eine erniedrigte Lymphozytenzahl als Risikofaktor identifiziert werden. Auch HIV-Positivität wurde als Risikofaktor für falsch-negative IGRA-Ergebnisse aufgelistet, allerdings fanden die Autoren keinen Unterschied in den peripheren Lymphozytenzahlen zwischen der positiven QFT-GIT-Gruppe und der falsch negativen Gruppe. Die Meta-Analyse untersuchte auch, ob immunsuppressive Zustände zu den Risikofaktoren für falsch negative Ergebnisse zählen. Allerdings war der Begriff "immunsuppressive Erkrankung" in den meisten Studien nicht klar definiert und in nur einer Studie wurde ein immunsuppressiver Zustand als signifikanter Risikofaktor für falsch-negative QFT-GIT-Ergebnisse angegeben [85]. Es bleibt jedoch anzunehmen, dass HIV unabhängig von der Lymphozytenzahl ein Risikofaktor für nicht valide und falsch negative IGRA-Ergebnisse ist. Ob dieser Effekt durch die Verwendung von einer definierten Anzahl an peripheren, mononukleären Blutzellen wie bei T-SPOT.TB abgeschwächt werden kann, muss in weiteren Studien untersucht werden. Es gilt anzunehmen, dass die Verwendung einer definierten Anzahl von PMBC helfen kann, eine ausreichende Anzahl an T-Lymphozyten für die Durchführung des ELISPOT zu erreichen, allerdings unterscheidet die Dichtegradienten-Zentrifugationsmethode, in der die Zellen isoliert werden, nicht zwischen T-Zellen und anderen mononukleären Zellen, wie z.B. Monozyten oder natürliche Killerzellen. Es kann demnach sein, dass trotz dem ausreichenden Vorhandensein von PMBC nicht ausreichend funktionelle T-Zellen zur Durchführung des ELISPOT vorliegen und es zu einem Versagen der positiven Kontrolle durch T-Zell Anergie kommt, also zu einem nicht validen Ergebnis, oder aber auch zu einem falsch negativen Ergebnis.

In einer ausführlichen Meta-Analyse von 2021 untersuchten Ma et al. den diagnostischen Wert von IGRAs bei HIV-infizierten Personen mit aktiver Tuberkulose. Sie schlossen 20 Studien ein, von denen sich 11 auf QFT-GIT und neun auf T-SPOT.TB bezogen. Sie untersuchten 652 HIV-infizierte Patienten mit klinischem Verdacht auf Tuberkulose und 2566 HIV-negative Kontrollen. Die Meta-Analyse ergab folgende Ergebnisse: Die gepoolte Sensitivität von IGRAs für die Diagnose einer aktiven Tuberkuloseinfektion bei HIV-Patienten lag bei 0,75, was bedeutet, dass die Anzahl der verpassten Diagnosen und Fehldiagnosen bei ca. 25 % lag. Die gepoolte Spezifität betrug 0,82, was darauf hindeutet, dass bei bis zu 20 % der Patienten ohne Tuberkulose-Infektion fälschlicherweise eine Tuberkulose-Infektion diagnostiziert wurde. Die gepoolte positive Likelihood-Ratio (PLR) lag bei 4,25, dies bedeutet, dass die Wahrscheinlichkeit, dass das IGRA richtig positiv beurteilt wird, 4,25-mal höher ist als die Wahrscheinlichkeit einer falschen Beurteilung. Die gepoolte negative Likelihood-Ratio (NLR) betrug 0,30; was in Zusammenschau mit den anderen Ergebnissen zu der Schlussfolgerung

führt, dass IGRAs bei der Diagnose einer aktiven Tuberkuloseinfektion bei HIV-Patienten einen begrenzten Stellenwert haben. Obwohl die Anzahl von nicht validen Ergebnissen nicht in die statistische Analyse miteinbezogen wurden, geben die Autoren an, dass eine beträchtliche Anzahl von Teilnehmern in den eingeschlossenen Artikeln nicht valide IGRA-Ergebnisse hatten, was wiederum die Diagnosegenauigkeit der IGRAs bei Patienten mit HIV-assoziiertes Tuberkuloseinfektion beeinträchtigen könnte [86]. Zahlreiche Studien untersuchten die diagnostischen Testgenauigkeit von IGRAs bei latenter Tuberkulose-Infektionen bei HIV-positiven Patienten. Chen et al. führten 2022 eine umfangreiche systematische Auswertung und Meta-Analyse mit insgesamt 45 Studien zu dieser Fragestellung durch. Nicht valide IGRA-Ergebnisse wurden in ihrer Studie als falsch-negative Ergebnisse eingestuft. Die Sensitivität und Spezifität zeigten ähnliche Ergebnisse wie die Meta-Analyse von Ma et al., nämlich 0,663 und 0,867 für QFT-GIT bzw. 0,604 und 0,862 für T-SPOT.TB im bivariaten Modell. Die Sensitivität von IGRAs für die Diagnose von LTBI betrug 0,64 für HIV-positive Patienten [87]. Eine Subgruppen-Analyse in Bezug auf CD4⁺ T-Zellzahl wurde hier nicht durchgeführt, die Autoren thematisierten jedoch, dass die Anzahl der CD4⁺ T-Zellen die Genauigkeit des IGRA-Tests bei HIV-positiven Patienten beeinflussen könnte.

In mehreren Studien war die Sensitivität von T-SPOT.TB bei Patienten mit normaler CD4⁺ T-Zellzahl ebenso hoch wie bei Patienten mit niedriger CD4⁺ T-Zellzahl [88-90]. Es konnte nicht bestätigt werden, dass die Höhe der zirkulierenden CD4⁺ T-Zellen in irgendeiner Weise mit der Anzahl der nicht validen Testergebnisse zusammenhängt [83, 91]. Cai et al. untersuchten 100 HIV-1 infizierte Patienten mit klinischem Verdacht auf TB mit dem T-SPOT.TB IGRA und teilten die Patienten anhand ihrer CD4⁺ T-Zellzahl in vier Subgruppen ein. Die gepoolte Sensitivität des T-SPOT.TB IGRAs lag bei 59 %. Obwohl Patienten mit niedrigeren CD4⁺ T-Zell-Zahlen (11-50 Zellen/ μ L) die niedrigsten T-SPOT.TB -Positivraten (50 %) hatten, konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den T-SPOT.TB-positiven Raten von Patienten mit unterschiedlichen CD4⁺ T-Zell-Zahlen festgestellt werden. Auch eine weitere Subgruppenanalyse, in der CD4⁺ T-Zell-Zahlen in nur zwei Kategorien eingeteilt wurden (1-50 Zellen/ μ L und > 50 Zellen/ μ L), konnte keinen signifikanten Unterschied zeigen [90].

Diesen Studien zufolge beeinträchtigt der Grad der CD4⁺ T-Zell-Depletion bei HIV-positiven Personen nicht die Funktionalität von T-SPOT.TB IGRAs. Verschiedene Studien haben jedoch bestätigt, dass sowohl der QFT-GIT als auch der TST von der Anzahl der zirkulierenden CD4⁺ T-Zellen beeinflusst werden, genauer gesagt, dass das QFT-GIT Ergebnis invers mit der CD4⁺ Lymphozytenzahl korreliert [91, 92]. Diese Ergebnisse könnten darauf hindeuten, dass die diagnostische Leistung des T-SPOT.TB dem QFT-GIT bei Patienten, die HIV-positiv sind und eine niedrige CD4⁺ T-Zell-Zahl haben, überlegen ist. In unserer Studie haben wir den Einfluss

der CD4⁺ T-Zellzahl auf die Leistung des T-SPOT.TB nicht statistisch analysiert, da ein Großteil der HIV-positiven Patienten eine antiretrovirale Therapie (ART) durchlief und eine aktuelle CD4⁺ T-Zell-Zahl für die meisten unserer Patienten zum Zeitpunkt der Durchführung der Tuberkulose Diagnostik nicht verfügbar war. Es ist anzunehmen, dass die Mehrheit der Patienten unter ART eine adäquate CD4⁺-Zahl haben, dies bleibt jedoch spekulativ.

Es gibt mehrere Einschränkungen in unserer Studie, die zu berücksichtigen sind. Es war nicht möglich zwischen verschiedenen Gruppen von Immunsuppressiva und Dosierungen zu unterscheiden und diese in der statistischen Auswertung zu berücksichtigen, da es sich um zu kleine Subgruppierungen handeln würde. Auch die Dauer der Behandlung oder die Krankheitsaktivität konnten nicht mit einbezogen werden. Alle diese Faktoren könnten jedoch einen Einfluss auf das Vorkommen nicht valider Ergebnisse haben. Darüber hinaus enthielt die Subgruppenanalyse nur eine kleine Anzahl von Patienten, was die Fähigkeit, signifikante Unterschiede zu erkennen, beeinträchtigen könnte. HIV-Infektion war mit einem höheren Risiko für ein nicht valides Ergebnis assoziiert und es wäre logisch anzunehmen, dass die CD4⁺-T-Zellzahl diese Beobachtung beeinflusst; eine Subgruppenanalyse unter Berücksichtigung der CD 4⁺ T-Zellzahl konnte jedoch nicht durchgeführt werden, da diese Information für die Mehrzahl der Patienten nicht zur Verfügung stand. Da die meisten Patienten unter ART waren, nahmen wir an, dass die CD4⁺ T-Zellzahl in der Norm war, dies ist jedoch spekulativ. Andere Determinanten für ein nicht valides Ergebnis, wie z. B. Hypoalbuminämie oder Anämie [78, 93], wurden nicht gemessen, da diese Studie in erster Linie auf die Auswirkung der Kortikosteroid Anwendung auf die T-SPOT.TB -Leistung abzielte. Darüber hinaus wurde die Studie retrospektiv durchgeführt, so dass nicht alle Messwerte erhoben werden konnten, da die medizinischen Daten nicht immer vollständig waren.

5. Schlussfolgerung

Zusammenfassend ergab sich in unserer Studie kein Hinweis darauf, dass eine Kortikosteroid Therapie die Validität des T-SPOT.TB IGRAs beeinflusst. Weiterhin war unter den in dieser Studie untersuchten Bedingungen nur ein positiver HIV-Status mit einer erhöhten Rate an nicht validen Tests verbunden. Die Anzahl der positiven Testergebnisse bei HIV-positiven Patienten und Patienten, die Immunsuppressiva einnahmen, war signifikant niedriger als in den Kontrollgruppen. Tendenziell zeigte sich dies auch bei Patienten, die Kortikosteroide einnahmen, allerdings ohne statistische Signifikanz und infolge wahrscheinlich auch ohne klinische Relevanz. Ob die geringe Anzahl an positiven Testergebnissen bei diesen Patientengruppen mit falsch negativen Testergebnissen assoziiert sind, lässt sich mit diesem Studiendesign jedoch nicht beantworten.

6. Quellen- und Literaturverzeichnis

1. Tsukamura, M., *Numerical Classification of 280 Strains of Slowly Growing Mycobacteria*. Microbiology and Immunology, 1983. **27**(4): p. 315-334.
2. Wassilew, N., et al., *Pulmonary Disease Caused by Non-Tuberculous Mycobacteria*. Respiration, 2016. **91**(5): p. 386-402.
3. World Health Organisation. *Global tuberculosis report 2020*. 2020 15 October 2020 [cited 2022 01.02.2022]; Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240013131>.
4. Robert Koch-Institut, *Bericht zur Epidemiologie der Tuberkulose in Deutschland für 2018*. 2019, Robert Koch-Institut.
5. Robert Koch Institut, *Bericht zur Epidemiologie der Tuberkulose in Deutschland für 2019*. 2020.
6. Bauer T, H.B., Otto-Knapp R, Trost C, *Infektionskontrolle gestern und heute – 125 Jahre Deutsches Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose (DZK)*. Epid Bull 2021;11:3 -5, 2021.
7. World Health Organization, *Global tuberculosis report 2020* 2020.
8. Schranz M., U.A., Rexroth U., Hamouda O., and D.M. Schaade L., Boender S., *Die Auswirkungen der COVID-19-Pandemie und assoziierter PublicHealth-Maßnahmen auf andere meldepflichtige Infektionskrankheiten in Deutschland MW 1/2016 – 32/2020*. Epidemiologisches Bulletin 2021;7:3 -7, 2021.
9. Häcker B., O.K.R., Bauer T., Breuer C., Priwitzer M., *Tuberkuloseversorgung in Deutschland unter Pandemiebedingungen – Eine Online-Umfrage des DZK im Öffentlichen Gesundheitsdienst*. Epid Bull 2021;26:9-12, 2021.
10. World Health Organisation. *Global tuberculosis report 2021*. 2021 [cited 2022 01.02.2022]; Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.]. Available from: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports>.
11. Cardona, P.J., *Pathogenesis of tuberculosis and other mycobacteriosis*. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2018. **36**(1): p. 38-46.
12. Chuquimia, O.D., et al., *The role of alveolar epithelial cells in initiating and shaping pulmonary immune responses: communication between innate and adaptive immune systems*. PLoS One, 2012. **7**(2): p. e32125.
13. Hunter, R.L., et al., *Multiple roles of cord factor in the pathogenesis of primary, secondary, and cavitory tuberculosis, including a revised description of the pathology of secondary disease*. Ann Clin Lab Sci, 2006. **36**(4): p. 371-86.
14. Pai, M., et al., *Tuberculosis*. Nat Rev Dis Primers, 2016. **2**: p. 16076.
15. KGH, *Tuberculous caseous granuloma*, in *Personal collection of histopathologic slides* 2005.
16. Hunter, R.L., *The Pathogenesis of Tuberculosis: The Early Infiltrate of Post-primary (Adult Pulmonary) Tuberculosis: A Distinct Disease Entity*. Frontiers in Immunology, 2018. **9**.
17. Pawlowski, A., et al., *Tuberculosis and HIV co-infection*. PLoS Pathog, 2012. **8**(2): p. e1002464.
18. Selwyn, P.A., et al., *A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection*. N Engl J Med, 1989. **320**(9): p. 545-50.

19. Aaron, L., et al., *Tuberculosis in HIV-infected patients: a comprehensive review*. Clin Microbiol Infect, 2004. **10**(5): p. 388-98.
20. Milburn, H.J., *Primary tuberculosis*. Curr Opin Pulm Med, 2001. **7**(3): p. 133-41.
21. Getahun, H., et al., *Latent Mycobacterium tuberculosis Infection*. New England Journal of Medicine, 2015. **372**(22): p. 2127-2135.
22. Sharma, S.K. and A. Mohan, *Extrapulmonary tuberculosis*. Indian Journal of Medical Research, 2004. **120**(4): p. 316-53.
23. Davis, A.G., et al., *The pathogenesis of tuberculous meningitis*. Journal of Leukocyte Biology, 2019. **105**(2): p. 267-280.
24. Marais, S., et al., *Presentation and Outcome of Tuberculous Meningitis in a High HIV Prevalence Setting*. PLoS ONE, 2011. **6**(5): p. e20077.
25. McComb, S., et al., *Introduction to the Immune System*. 2019, Springer New York. p. 1-24.
26. Murphy, K. and C. Weaver, *Janeway Immunologie* 2018.
27. Rudolph, M.G., R.L. Stanfield, and I.A. Wilson, *How TCRs bind MHCs, peptides, and coreceptors*. Annu Rev Immunol, 2006. **24**: p. 419-66.
28. Parkin, J. and B. Cohen, *An overview of the immune system*. The Lancet, 2001. **357**(9270): p. 1777-1789.
29. Yasuda, K., Y. Takeuchi, and K. Hirota, *The pathogenicity of Th17 cells in autoimmune diseases*. Seminars in Immunopathology, 2019. **41**(3): p. 283-297.
30. Jasenosky, L.D., et al., *T cells and adaptive immunity to Mycobacterium tuberculosis in humans*. Immunological Reviews, 2015. **264**(1): p. 74-87.
31. Schmitt, N., S.-E. Bentebibel, and H. Ueno, *Phenotype and functions of memory Tfh cells in human blood*. Trends in Immunology, 2014. **35**(9): p. 436-442.
32. Balkwill, F., *TNF- α in promotion and progression of cancer*. Cancer and Metastasis Reviews, 2006. **25**(3): p. 409-416.
33. Schroder, K., et al., *Interferon- γ : an overview of signals, mechanisms and functions*. Journal of Leukocyte Biology, 2004. **75**(2): p. 163-189.
34. Fenimore, J. and H.A. Young, *Regulation of IFN- γ Expression*. 2016, Springer Netherlands. p. 1-19.
35. Zhang, S.-Y., et al., *Inborn errors of interferon (IFN)-mediated immunity in humans: insights into the respective roles of IFN- α/β , IFN- γ , and IFN- λ in host defense*. Immunological Reviews, 2008. **226**(1): p. 29-40.
36. Cain, D.W. and J.A. Cidlowski, *Immune regulation by glucocorticoids*. Nat Rev Immunol, 2017. **17**(4): p. 233-247.
37. Taves, M.D. and J.D. Ashwell, *Glucocorticoids in T cell development, differentiation and function*. Nat Rev Immunol, 2021. **21**(4): p. 233-243.
38. Hu, X., et al., *Inhibition of IFN-gamma signaling by glucocorticoids*. J Immunol, 2003. **170**(9): p. 4833-9.
39. Nachiappan, A.C., et al., *Pulmonary Tuberculosis: Role of Radiology in Diagnosis and Management*. RadioGraphics, 2017. **37**(1): p. 52-72.
40. Kienzl-Palma, D. and H. Prosch, *Extrathorakale Manifestationen der Tuberkulose*. Der Radiologe, 2016. **56**(10): p. 885-889.
41. Skoura, E., A. Zumla, and J. Bomanji, *Imaging in tuberculosis*. International Journal of Infectious Diseases, 2015. **32**: p. 87-93.
42. Schaberg, T., et al., *S2k-Leitlinie: Tuberkulose im Erwachsenenalter*. Pneumologie, 2017. **71**(06): p. 325-397.

43. Raut, A.A., P.S. Naphade, and R. Ramakantan, *Imaging Spectrum of Extrathoracic Tuberculosis*. Radiologic Clinics of North America, 2016. **54**(3): p. 475-501.
44. Singhal, R. and V.P. Myneedu, *Microscopy as a diagnostic tool in pulmonary tuberculosis*. International Journal of Mycobacteriology, 2015. **4**(1): p. 1-6.
45. Ojha, A., et al., *Light emitting diode (LED) based fluorescence microscopy for tuberculosis detection: a review*. Lasers in Medical Science, 2020. **35**(6): p. 1431-1437.
46. Steingart, K.R., A. Ramsay, and M. Pai, *Optimizing sputum smear microscopy for the diagnosis of pulmonary tuberculosis*. Expert Review of Anti-infective Therapy, 2007. **5**(3): p. 327-331.
47. Pai, M., M.P. Nicol, and C.C. Boehme, *Tuberculosis Diagnostics: State of the Art and Future Directions*. Microbiology Spectrum, 2016. **4**(5).
48. Steingart, K.R., et al., *Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review*. Lancet Infect Dis, 2006. **6**(9): p. 570-81.
49. Detjen, A.K., et al., *Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children: a systematic review and meta-analysis*. The Lancet Respiratory Medicine, 2015. **3**(6): p. 451-461.
50. Helb, D., et al., *Rapid Detection of Mycobacterium tuberculosis and Rifampin Resistance by Use of On-Demand, Near-Patient Technology*. Journal of Clinical Microbiology, 2010. **48**(1): p. 229-237.
51. Steingart, K.R., et al., *Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults*. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2014.
52. Ling, D.I., A.A. Zwerling, and M. Pai, *GenoType MTBDR assays for the diagnosis of multidrug-resistant tuberculosis: a meta-analysis*. European Respiratory Journal, 2008. **32**(5): p. 1165-1174.
53. Huebner, R.E., M.F. Schein, and J.B. Bass, *The Tuberculin Skin Test*. Clinical Infectious Diseases, 1993. **17**(6): p. 968-975.
54. Adams, S., et al., *Predictors of discordant latent tuberculosis infection test results amongst South African health care workers*. BMC Infect Dis, 2019. **19**(1): p. 131.
55. Trajman, A., R.E. Steffen, and D. Menzies, *Interferon-Gamma Release Assays versus Tuberculin Skin Testing for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection: An Overview of the Evidence*. Pulmonary Medicine, 2013. **2013**: p. 1-11.
56. Auguste, P., et al., *Comparing interferon-gamma release assays with tuberculin skin test for identifying latent tuberculosis infection that progresses to active tuberculosis: systematic review and meta-analysis*. BMC Infectious Diseases, 2017. **17**(1).
57. Hoff, S.T., et al., *Sensitivity of C-Tb: a novel RD-1-specific skin test for the diagnosis of tuberculosis infection*. European Respiratory Journal, 2016. **47**(3): p. 919-928.
58. Aggerbeck, H., et al., *C-Tb skin test to diagnose Mycobacterium tuberculosis infection in children and HIV-infected adults: A phase 3 trial*. PLOS ONE, 2018. **13**(9): p. e0204554.
59. Ruhwald, M., et al., *Safety and efficacy of the C-Tb skin test to diagnose Mycobacterium tuberculosis infection, compared with an interferon γ release assay and the tuberculin skin test: a phase 3, double-blind, randomised, controlled trial*. The Lancet Respiratory Medicine, 2017. **5**(4): p. 259-268.

60. Meier, T., et al., *Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice*. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2005. **24**(8): p. 529-536.
61. Millington, K.A., et al., *Rv3615c is a highly immunodominant RD1 (Region of Difference 1)-dependent secreted antigen specific for Mycobacterium tuberculosis infection*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011. **108**(14): p. 5730-5735.
62. Kaeryn, et al., *Deletion of RD1 from Mycobacterium tuberculosis Mimics Bacille Calmette - Guérin Attenuation*. The Journal of Infectious Diseases, 2003. **187**(1): p. 117-123.
63. Beffa, P., et al., *Indeterminate test results of T-SPOT.TM.TB performed under routine field conditions*. European Respiratory Journal, 2008. **31**(4): p. 842-846.
64. Inc., O.I., *T-SPOT TB. Package Insert 2017*.
65. Cattamanchi, A., et al., *Interferon-Gamma Release Assays for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection in HIV-Infected Individuals: A Systematic Review and Meta-Analysis*. JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes, 2011. **56**(3): p. 230-238.
66. Santos, J.A., R. Duarte, and C. Nunes, *Tuberculin skin test and interferon - γ release assays: Can they agree?* The Clinical Respiratory Journal, 2022.
67. Getahun, H., et al., *Management of latent Mycobacterium tuberculosis infection: WHO guidelines for low tuberculosis burden countries*. Eur Respir J, 2015. **46**(6): p. 1563-76.
68. Dobler, C.C., *Biologic Agents and Tuberculosis*. Microbiology Spectrum, 2016. **4**(6): p. 4.6.49.
69. Sterling, T.R., et al., *Guidelines for the Treatment of Latent Tuberculosis Infection: Recommendations from the National Tuberculosis Controllers Association and CDC, 2020*. MMWR. Recommendations and Reports, 2020. **69**(1): p. 1-11.
70. Santin, M., L. Muñoz, and D. Rigau, *Interferon- γ Release Assays for the Diagnosis of Tuberculosis and Tuberculosis Infection in HIV-Infected Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis*. PLoS ONE, 2012. **7**(3): p. e32482.
71. Lee, Y.M., et al., *Indeterminate T-SPOT.TB Test Results in Patients with Suspected Extrapulmonary Tuberculosis in Routine Clinical Practice*. Infect Chemother, 2013. **45**(1): p. 44-50.
72. Belard, E., et al., *Prednisolone treatment affects the performance of the QuantiFERON gold in-tube test and the tuberculin skin test in patients with autoimmune disorders screened for latent tuberculosis infection*. Inflamm Bowel Dis, 2011. **17**(11): p. 2340-9.
73. Redelman-Sidi, G. and K.A. Sepkowitz, *IFN- γ release assays in the diagnosis of latent tuberculosis infection among immunocompromised adults*. Am J Respir Crit Care Med, 2013. **188**(4): p. 422-31.
74. Kobashi, Y., et al., *Clinical evaluation of the T-SPOT.TB test for patients with indeterminate results on the QuantiFERON TB-2G test*. Intern Med, 2009. **48**(3): p. 137-42.
75. Park, C.H., J.H. Park, and Y.S. Jung, *Impact of Immunosuppressive Therapy on the Performance of Latent Tuberculosis Screening Tests in Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Journal of Personalized Medicine, 2022. **12**(3): p. 507.

76. Song, D.J., et al., *Tuberculosis screening using IGRA and chest computed tomography in patients with inflammatory bowel disease: A retrospective study.* Journal of Digestive Diseases, 2017. **18**(1): p. 23-30.
77. Mariette, X., et al., *Influence of replacing tuberculin skin test with ex vivo interferon γ release assays on decision to administer prophylactic antituberculosis antibiotics before anti-TNF therapy.* Annals of the Rheumatic Diseases, 2012. **71**(11): p. 1783-1790.
78. Arias-Guillen, M., et al., *T-cell profiling and the immunodiagnosis of latent tuberculosis infection in patients with inflammatory bowel disease.* Inflamm Bowel Dis, 2014. **20**(2): p. 329-38.
79. Edwards, A., et al., *Corticosteroids and infliximab impair the performance of interferon- γ release assays used for diagnosis of latent tuberculosis.* Thorax, 2017. **72**(10): p. 946-949.
80. Latorre, I., et al., *Immune-mediated inflammatory diseases differently affect IGRAs' accuracy for latent tuberculosis infection diagnosis in clinical practice.* PLoS One, 2017. **12**(12): p. e0189202.
81. Kaur, M., et al., *Factors That Contribute to Indeterminate Results From the QuantiFERON-TB Gold In-Tube Test in Patients With Inflammatory Bowel Disease.* Clin Gastroenterol Hepatol, 2018. **16**(10): p. 1616-1621.e1.
82. Kim, K.H., J.-M. Kang, and J.G. Ahn, *Low-dose steroids are associated with indeterminate QuantiFERON-TB Gold In-Tube assay results in immunocompetent children.* Scientific Reports, 2021. **11**(1).
83. Stephan, C., et al., *Comparing QuantiFERON-tuberculosis gold, T-SPOT tuberculosis and tuberculin skin test in HIV-infected individuals from a low prevalence tuberculosis country.* AIDS, 2008. **22**(18): p. 2471-9.
84. Hang, N.T.L., et al., *Analysis of Factors Lowering Sensitivity of Interferon- γ Release Assay for Tuberculosis.* PLoS ONE, 2011. **6**(8): p. e23806.
85. Yamasue, M., et al., *Factors associated with false negative interferon- γ release assay results in patients with tuberculosis: A systematic review with meta-analysis.* Scientific Reports, 2020. **10**(1).
86. Ma, Y., et al., *Diagnostic value of interferon- γ release assay in HIV-infected individuals complicated with active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis.* Epidemiology and Infection, 2021. **149**: p. 1-27.
87. Chen, H., et al., *Diagnostic accuracy of the interferon-gamma release assay in acquired immunodeficiency syndrome patients with suspected tuberculosis infection: a meta-analysis.* Infection, 2022. **50**(3): p. 597-606.
88. Chen, J., et al., *T-SPOT.TB in the diagnosis of active tuberculosis among HIV-infected patients with advanced immunodeficiency.* AIDS Res Hum Retroviruses, 2011. **27**(3): p. 289-94.
89. Ling, D.I., et al., *Are interferon- γ release assays useful for diagnosing active tuberculosis in a high-burden setting?* Eur Respir J, 2011. **38**(3): p. 649-56.
90. Cai, R., et al., *Relationship between T-SPOT.TB responses and numbers of circulating CD4+ T-cells in HIV infected patients with active tuberculosis.* Biosci Trends, 2014. **8**(3): p. 163-8.
91. Leidl, L., et al., *Relationship of immunodiagnostic assays for tuberculosis and numbers of circulating CD4+ T-cells in HIV infection.* Eur Respir J, 2010. **35**(3): p. 619-26.

92. Santin, M., et al., *Detection of latent tuberculosis by the tuberculin skin test and a whole-blood interferon- γ release assay, and the development of active tuberculosis in HIV-seropositive persons*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2011. **69**(1): p. 59-65.
93. Sharninghausen, J.C., et al., *Risk Factors for Indeterminate Outcome on Interferon Gamma Release Assay in Non-US-Born Persons Screened for Latent Tuberculosis Infection*. *Open Forum Infect Dis*, 2018. **5**(8): p. ofy184.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen meinen großen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben. Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Colin Mackenzie, für die hervorragende Betreuung und seine grenzenlose Geduld bei der Umsetzung der gesamten Arbeit. Für seine langjährige, stetige Hilfe möchte ich meinem guten Freund Benjamin Haane meinen Dank ausdrücken. Meiner Familie danke ich für ihre Ermutigungen und moralischen Unterstützung während des Studiums und während der Arbeit an dieser Dissertation.