

Aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Infektiologie und Pneumologie
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einsatz eines Interferon-Gamma-Release-Assays in der Diagnostik der latenten Tuberkulose bei schwer immunsupprimierten HIV-Patienten

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Katrin Ziemann
aus Stuttgart

Datum der Promotion: 12.09.2014

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung und Abstract	4
1.1. Zusammenfassung	4
1.2. Abstract	5
2. Einleitung	6
2.1. Epidemiologie der Tuberkulose	6
2.1.1. Globale Situation	6
2.1.2. Situation in der Bundesrepublik Deutschland	7
2.2. Erreger	7
2.3. Pathogenese	8
2.4. Verlaufsformen und klinisches Bild	8
2.5. Diagnostik der Tuberkulose	10
2.5.1. Radiologische Untersuchungen	10
2.5.2. Mikrobiologische Untersuchungen	10
2.5.3. Molekularbiologischer Nachweis	11
2.5.4. Tuberkulin-Hauttest	11
2.5.5. Interferon-Gamma-Release-Assays	12
2.6. Therapie der Tuberkulose	14
2.6.1. Therapie der aktiven Tuberkulose	14
2.6.2. Therapie der latenten Tuberkulose	14
2.7. Tuberkulose und HIV	15
2.7.1. HIV und AIDS	15
2.7.2. Epidemiologie der HIV-TB-Koinfektion	15
2.7.3. Immunologische Grundlagen der Interaktion	17
2.7.4. Klinischer Verlauf der HIV-TB-Koinfektion	17
2.7.5. Diagnostik	18
2.7.6. Therapie der Koinfektion	19
2.8. Herleitung der Fragestellung	20
3. Methoden	21
3.1. Patienten	21
3.1.1. Einschlusskriterien, Ausschlußkriterien, Patientenfragebogen, Datenerfassung	21
3.1.2. Nachbeobachtung	22
3.2. Chemikalien und Apparate	22
3.3 T-SPOT	23
3.3.1. Isolation der peripheren mononukleären Blutzellen	24
3.3.2. Durchführung des T-SPOT	24
3.3.3. Interpretation der Ergebnisse	25
3.4. Tuberkulin-Hauttest	25
3.5. Statistische Analyse	25
4. Ergebnisse	27
4.1. Demographische Daten des Studienkollektivs	27

4.1.1. Nationalität	28
4.1.2. Immunkompromittierende Faktoren	28
4.1.3 Stadium der HIV-Infektion	29
4.2. Valide und determinante Ergebnisse	30
4.2.1. Positive T-SPOT Ergebnisse	30
4.2.2. Prädiktoren eines positiven T-SPOT-Ergebnisses	31
4.3. Indeterminante Ergebnisse	33
4.4. Schwer immunsupprimierte Patienten	36
4.5. Produktion von Interferon-gamma	40
4.5.1. Positivkontrolle mit Phytohaemagglutinin	40
4.5.2. ESAT-6 und CFP-10	42
4.6. Ergebnisse des Tuberkulin-Hauttests	44
4.6.1. Positive THT-Ergebnisse	44
4.6.2. Prädiktoren eines positiven THT-Ergebnisses	44
4.7. Konkordanz beider Tests	47
4.8. Nachbeobachtung	48
4.8.1. Verlauf von HI-Viruslast und CD4-Zellen in der Nachbeobachtung	50
4.8.2. Auftreten von aktiver Tuberkulose	53
4.8.3. Präventive Therapie	53
5. Diskussion	55
5.1. Demographische Daten	56
5.1.1. Allgemein	56
5.1.2. Immunkompromittierende Faktoren	57
5.1.3. HIV-Status	58
5.2. Valide und determinante Ergebnisse	60
5.2.1. Prävalenz positiver T-SPOT-Ergebnisse	60
5.2.2. Prädiktoren eines positiven T-SPOT-Ergebnisses	61
5.2.2.1. Herkunft aus einem TB-Hoch- oder Niedrigprävalenzland	61
5.2.2.2. Viruslast	62
5.2.2.3. CD4-Zellzahl	63
5.3. Indeterminante Ergebnisse	63
5.4. Produktion von Interferon-gamma	65
5.5. Schwer immunsupprimierte Patienten mit < 100 CD4-Zellen/µl	65
5.6. Ergebnisse des Tuberkulin-Hauttests	66
5.6.1. Prädiktoren eines positiven Tuberkulin-Hauttest-Ergebnisses	67
5.7. Konkordanz beider Tests	68
5.8. Nachbeobachtung	68
5.8.1. Prophylaktische Therapie	69
5.8.2. Auftreten von aktiver Tuberkulose	71
5.9. Schlussfolgerung	72
Anhang	74
6.1. Abkürzungen	74
6.2. Literatur	76

1. Zusammenfassung und Abstract

1.1. Zusammenfassung

Die Tuberkulose (TB) ist weltweit die häufigste Todesursache bei HIV-positiven Patienten. Die frühzeitige Identifizierung latent mit *M. tuberculosis* (MTB) Infizierter sowie die präventive Therapie sind entscheidend für die Reduktion der Morbidität und Mortalität bei HIV-Patienten. Ein Goldstandard für die Diagnostik der latenten Tuberkulose (LTB) ist bisher noch nicht etabliert. Bei bisher eingesetzten Tests wie dem Tuberkulin Hauttest (THT) wird vor allem bei immunsupprimierten Patienten eine niedrige Sensitivität beschrieben. In den letzten Jahren wurden neue Tests, die Interferon-Gamma-Release-Assays (IGRAs) entwickelt. Zur Abschätzung der Prävalenz der LTB in einer deutschen Großstadt wurden 192 HIV-Patienten mit einem IGRA, speziell dem T-SPOT.TB® (T-SPOT), sowie in 119 Fällen ebenfalls mit dem THT auf das Vorliegen einer LTB getestet. Als Ergebnis stellte sich eine anzunehmende LTB-Prävalenz von 20,7 % heraus, die bei Patienten aus TB-Hochendemiegebieten deutlich höher lag. Signifikante Risikofaktoren ließen sich jedoch weder für die Herkunft der Patienten, noch für Begleiterkrankungen oder den HIV-Status nachweisen. 3,2 % aller Patienten hatten ein indeterminantes Testergebnis. Der T-SPOT war im Gegensatz zum THT nicht vom Schweregrad der Immunsuppression abhängig: 20 % der Patienten mit < 100 CD4-positiven T-Lymphozyten (CD4-Zellen)/ μl und 20,8 % der Patienten mit > 100 CD4-Zellen/ μl waren T-SPOT positiv, allerdings traten bei Patienten mit weniger als 100 CD4-Zellen/ μl mehr indeterminante Ergebnisse auf (Median der CD4-Zellzahl bei Patienten mit indeterminantem Ergebnis 54/ μl und bei Patienten mit positivem oder negativem Ergebnis 286/ μl , $p = 0,003$). Bei 112 Patienten, für die valide Ergebnisse in beiden Tests vorlagen, waren 23,2 % T-SPOT positiv und nur 11,6 % THT positiv. Beim THT zeigte sich eine Abhängigkeit zur CD4-Zellzahl. Obwohl nur sieben von 185 Patienten mit positivem Test (T-SPOT oder THT) eine präventive Therapie erhielten, entwickelte keiner der Patienten im Beobachtungszeitraum von über fünf Jahren eine aktive TB. Weitere große, prospektive Studien zur Optimierung des LTB-Screening mittels IGRA-Diagnostik und eine Überprüfung der Empfehlungen zur präventiven Therapie sind notwendig.

1.2. Abstract

Objective: Early detection of *M. tuberculosis* and preventive therapy are crucial to reduce morbidity and mortality in HIV-infected patients. However, a gold standard instrument for the diagnosis of latent tuberculosis (LTB) is lacking. Previous tests such as the tuberculin skin test (TST) are known for their low sensitivity, especially in immunocompromised patients. In recent years, new tools referred to as interferon-gamma release assays (IGRAs) have been developed. In this study, the test-performance of an IGRA, the T-SPOT.TB® (T-SPOT), was investigated in severely immunocompromised HIV-patients to detect LTB in a low-incidence country.

Material and methods: The T-SPOT was performed on 192 HIV-positive patients at the Charité - Universitätsmedizin Berlin after written informed consent. Data about the immunological and virological status, concurrent other diseases, immunosuppressive therapy and demographic facts were drawn from the patients' medical records. 119 patients underwent an additional TST. In a follow up period of up to 66 months, clinical data and TB-status were reviewed.

Results: Of 185 patients with valid T-SPOT results, 20.7 % were tested positive for LTB. The prevalence was higher in patients from high-TB-incidence countries, but as concerning HIV status or immunosuppressive therapy none of all examined factors were significantly associated with a positive test result. The proportion of positive results was equal regardless of the number of CD4-positive T-lymphocytes (CD4-cells): 20 % in patients with < 100 CD4-cells/ μ l and 20.8 % in patients with > 100 CD4-cells/ μ l were tested T-SPOT positive. 3.2 % of all patients received an indeterminate test result. However, there were more indeterminate results in patients with low CD4-cell count (CD4 median in patients with indeterminate results: 54/ μ l, CD4 median in patients with positive or negative results: 286/ μ l, $p = 0.003$). In 112 patients with valid results for T-SPOT and TST, there were 23.2 % with a positive T-SPOT results and 11.6 % with a positive TST. The proportion of positive TST results was low in patients with reduced CD4-cell count and increased with higher CD4-cell count. Of 43 patients with a positive test either with T-SPOT or TST, only seven received isoniazid as preventive therapy, but none of the 43 patients developed active TB during follow up.

Conclusion: One-fifth of the HIV-positive patients in a central European city are latently infected with *M. tuberculosis* (LTB), according to a positive T-SPOT result. The results show an excellent performance in severely immunocompromised patients, though there were more indeterminate results in patients with < 100 CD4-cells/ μ l. Further prospectively designed studies are needed to evaluate the risk of developing active TB and indications of preventive therapy have to be reconsidered.

2. Einleitung

Die Tuberkulose (TB) ist eine der ältesten Erkrankungen der Menschheit. Sie wurde schon in der Antike beschrieben und vor mehr als einhundert Jahren von Robert Koch als Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*; MTB) identifiziert. Sie kann seit mehr als fünfzig Jahren gezielt antibiotisch behandelt werden und stellt trotzdem nach wie vor eines der größten ungelösten Gesundheitsprobleme der Welt dar.

Das humane Immundefizienzvirus (HIV) ist dagegen erst seit 30 Jahren bekannt und hat sich als Pandemie innerhalb kürzester Zeit ausgebreitet. Trotz intensiver Forschungsbemühungen versterben jedes Jahr circa zwei Millionen Menschen an den Folgen der HIV-Infektion.¹

Die TB stellt eine der wichtigsten opportunistischen Infektionen bei HIV infizierten Patienten dar und umgekehrt führte die globale HIV Epidemie zu einem dramatischen Anstieg der TB-Inzidenz. Aus diesem Grund ist die Verbesserung der Diagnostik und Therapie von HIV-TB-Koinfektionen von wesentlicher Bedeutung für die Kontrolle dieser beiden weltgesundheitspolitisch bedeutsamen Infektionskrankheiten.

2.1. Epidemiologie der Tuberkulose

2.1.1. Globale Situation

Laut dem aktuellen Bericht der Weltgesundheitsorganisation (WHO) sind weltweit mehr als 12 Millionen Menschen an aktiver, das heißt symptomatischer TB erkrankt.² Die Inzidenz liegt bei ca. 8,8 Millionen und etwa 1,1 Millionen Menschen versterben pro Jahr an einer TB. Die WHO schätzt, dass darüber hinaus ein Drittel der Weltbevölkerung latent, also asymptomatisch mit *M. tuberculosis* infiziert ist.

Dabei sind regional große Unterschiede in der Häufigkeit zu verzeichnen. Während die Inzidenz der aktiven TB in Europa und den USA in den letzten Jahrzehnten auf ein konstant niedriges Niveau gesunken ist, tragen Armut, Unterernährung, politische Instabilität und die HIV-Epidemie in den Entwicklungsländern zu einer enormen Verbreitung der Erkrankung bei. In Afrika werden in einigen Regionen bis zu 503 inzidente Fälle pro 100 000 Einwohner registriert.²

2.1.2. Situation in der Bundesrepublik Deutschland

In Deutschland ist die Häufigkeit der TB-Neuinfektionen seit Jahrzehnten sinkend und stagniert auf einem niedrigen Niveau von vier bis acht Fällen pro 100 000 Einwohner. Dies entspricht 4000 Fällen im Jahr 2010; 200 Menschen verstarben in diesem Jahr an einer TB.²

Innerhalb der Bundesrepublik gibt es jedoch eine große Schwankungsbreite. So lag die Inzidenz im Flächenland Schleswig-Holstein 2009 bei 3,2 Fällen pro 100 000 Einwohner. In Großstädten wie Hamburg wurden dagegen mit 10 Fällen pro 100 000 Einwohner mehr als dreimal so viele TB-Erkrankungen gemeldet und in machen urbanen Zentren wie beispielsweise in Berlin Mitte liegt die Inzidenz noch deutlich höher.³ Im Jahr 2008 erfasste das Robert Koch Institut dort 17,2 Fälle pro 100 000 Einwohner.⁴

Der Anteil HIV-assoziiertes Tuberkuloseerkrankungen beträgt in Europa fünf bis neun Prozent.^{5,6,7}

2.2. Erreger

Bei Mykobakterien handelt es sich um stäbchenförmige, nicht sporenbildende, obligat aerobe Bakterien. Sie sind ca. 0,5 µm breit, 3 µm lang und die lipidreiche Zellwand ist nur schlecht permeabel. Daraus resultiert die eingeschränkte Wirksamkeit vieler Antibiotika und ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber Umweltfaktoren. Ein weiteres Merkmal von Mykobakterien ist die extrem langsame Teilungsgeschwindigkeit von 15 bis 20 Stunden. Dies erschwert den kulturellen Nachweis und i.d.R. werden angelegte mikrobiologische Kulturen erst nach Wochen positiv.

Die TB wird durch obligat pathogene Mykobakterien vom *M.-tuberculosis*-Komplex hervorgerufen. Dabei zählen im Einzelnen folgende Erreger zum *M.-tuberculosis*-Komplex: *M. tuberculosis*, *M. bovis ssp.*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti* und *M. pinnipedii*. *M. bovis* ist der Erreger der Rinder-Tuberkulose, welche auch auf den Menschen übertragen werden kann.

Viele weitere Mykobakterienspezies sind apathogen (z.B. *M. gordonae*, *M. mucogenicum*, *M. haemophilum*) oder fakultativ pathogen (z.B. *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. malmoense*, *M. marinum*, *M. szulgai*, *M. gastri*, *M. flavescens*) und werden als nicht-tuberkulöse Mykobakterien (NTM) oder atypische Mykobakterien bezeichnet. Unter einer atypischen Mykobakteriose versteht man eine Erkrankung durch fakultativ pathogene NTM.

2.3. Pathogenese

M. tuberculosis wird beim Husten, Niesen oder Sprechen durch kleine Tröpfchen (droplets) von einer erkrankten Person mit offener Lungentuberkulose auf eine gesunde Person per inhalationem übertragen. In diesem Sinne handelt es sich um eine klassische Tröpfcheninfektion. Ein Teil der inhalierten Erreger wird durch die mukoziliäre Abwehrsysteme des oberen Respirationstrakts eliminiert, sodass meist nur wenige Mykobakterien die Alveolen erreichen.

Innerhalb der Alveolen werden die Erreger durch Alveolarmakrophagen phagozytiert und anschließend eine spezifische zellvermittelte Aktivierung von überwiegend CD4-positive T-Lymphozyten (CD4-Zellen) induziert. In Folge bilden sich typische epitheloidzellige Granulome, die im Verlauf zentral nekrotisieren und deren Rand durch CD4- und CD8-positive T-Lymphozyten gebildet wird. Innerhalb dieser Granulome wird das weitere Wachstum und letztendlich die Ausbreitung der Mykobakterien je nach Immunitätslage entweder verhindert oder zumindest gehemmt.

Im Frühstadium der Infektion findet die o.g. Abwehrreaktion am primären Ort der Infektion und im Bereich der regionalen Lymphknoten statt. Dabei kann initial die hämatogene bzw. lymphogene Streuung von Mykobakterien in andere Organsysteme und Gewebe oft nicht ganz verhindert werden, was spätere extrapulmonale TB-Manifestationen erklärt.

Die wichtigsten von Alveolarmakrophagen produzierten Zytokine sind Interleukin 6, welches eine Hyperglobulinämie induziert, und Tumor-Nekrose-Faktor alpha, welcher zur Abtötung der Mykobakterien und zur Granulombildung beiträgt, sowie systemische Effekte wie Fieber und Gewichtsverlust hervorruft. Nach erfolgter Antigenpräsentation proliferieren wie oben bereits erwähnt CD4-positive T-Lymphozyten, welche Interferon gamma und Interleukin 2 produzieren. Die primäre Immunantwort ist somit überwiegend zellvermittelt und die humorale Abwehr von nur untergeordneter Bedeutung.

2.4. Verlaufsformen und klinisches Bild

Gelingt im Frühstadium der Infektion keine vollständige Erregerelimination bzw. keine ausreichende Erregerkontrolle innerhalb der Granulome, entwickelt sich circa vier Wochen nach der Exposition die so genannte Primärtuberkulose. Diese Form der aktiven TB tritt typischerweise bei Kleinkindern auf oder bei Patienten, deren zelluläres Immunsystem so geschwächt ist, dass die initiale Abkapselung der Erreger in Granulomen nicht zustande kommen kann.

Die Primärtuberkulose äußert sich in Allgemeinsymptomen wie Müdigkeit und Schwäche, Gewichtsabnahme, Lymphknotenschwellungen, leichtem Fieber sowie Nachtschweiß. Des

Weiteren können Heiserkeit und Husten, gegebenenfalls mit Hämoptoen, und eine Anämie auftreten.

Über die o.g. frühzeitige lymphogene oder hämatogene Streuung kann sich eine Primärtuberkulose z.B. auch als isolierte tuberkulöse Meningitis, Spondylitis oder Urogenitaltuberkulose manifestieren. Eine Sonderform der Primärtuberkulose stellt die primäre Miliartuberkulose dar, die vor allem bei immungeschwächten Patienten auftritt. Hierbei handelt es sich um eine disseminierte hämatogene Ausbreitung der Mykobakterien mit entsprechender klinischer Manifestation, erheblicher Reduktion des Allgemeinzustands und hoher Mortalität. Im Einzelfall entwickelt sich aus einer Miliartuberkulose eine fulminante Landouzy-Sepsis, welche meist nicht überlebt wird.

Gelingt es dem Immunsystem nach der primären Infektion, die weitere Ausbreitung und Replikation der Mykobakterien einzudämmen, stellt sich ein asymptomatisches Gleichgewicht zwischen Erreger und Immunsystem ein. Dieser Zustand, in dem die Patienten keine klinischen Symptome zeigen, aber weiterhin mit vitalen und prinzipiell replikationsfähigen Mykobakterien infiziert sind, wird als latente Tuberkulose (LTB) bezeichnet.

Der Zeitraum bis zur späteren symptomatischen Erkrankung wird durch endogene Faktoren des latent infizierten Patienten bestimmt. Eine Vielzahl dieser Faktoren sind bekannt: neben einem hohen Lebensalter spielen vor allem Begleiterkrankungen eine wichtige Rolle, allen voran die HIV-Infektion. Doch auch Diabetes mellitus, chronische Niereninsuffizienz, intravenöser Drogenabusus oder eine immunsuppressive Therapie erhöhen die Wahrscheinlichkeit, dass sich im Sinne einer Reaktivierung aus einer asymptomatischen LTB eine klinisch symptomatische und somit aktive TB entwickelt.

Diese sogenannte postprimäre TB kann sich pulmonal oder extra-pulmonal manifestieren und geht neben der jeweiligen organspezifischen Symptomatik oft mit allgemeiner Abgeschlagenheit, subfebrilen Temperaturen und Nachtschweiß einher. Unbehandelt entwickelt sich bei der postprimären TB eine progrediente organ-destruierende Erkrankung. Ohne effektive Therapie verstirbt rund ein Drittel der Patienten innerhalb von wenigen Monaten, es sind jedoch auch langwierige Verläufe im Sinne einer chronisch, langsam konsumierenden Erkrankung, in bis zu einem Drittel der Fälle aber auch Spontanremissionen möglich. Wie bei der primären TB ist auch bei der postprimären TB die pulmonale Manifestation am häufigsten. Typische extrapulmonale Manifestationen betreffen die Pleura, Lymphknoten, das Gehirn, die Knochen, das Perikard und das Urogenitalsystem. Eine postprimäre Miliartuberkulose ist vor allem bei schwerere Immunsuppression möglich.

2.5. Diagnostik der Tuberkulose

Die Diagnostik der aktiven TB ist komplex und umfasst zum einen mikrobiologische, molekularbiologische, zytologische, histologische, immunologische und radiologische Untersuchungen und zum anderen die klinische Bewertung der Einzelbefunde und die Beurteilung der Gesamtsituation.

2.5.1. Radiologische Untersuchungen

Das Thoraxröntgen bzw. die Computertomographie des Thorax spielen bei der aktiven Lungentuberkulose eine zentrale Rolle.

Die Spannbreite möglicher radiologischer Befund bei der aktiven TB ist groß und reicht vom unauffälligen Röntgenthorax über das pneumonisch anmutende Infiltrat (z.B. bei der Primärtuberkulose), dem soliden Rundherd bis hin zu kaum sichtbaren disseminierten kleinnodulären Veränderungen (z.B. bei der Miliartuberkulose).

Bei der postprimären TB stellen sich typischerweise infiltrative oder auch kavernöse Veränderungen in den Oberlappen, dem Mittellappen, der Lingula oder den apikalen Unterlappen dar.

Bei der extrapulmonalen TB imponieren die Organläsionen radiologisch oft wie Destruktionen im Rahmen von malignen Grunderkrankungen.

Pleurakuppenschwielen, intrapulmonale Kalzifikationen, verkalkte Lymphknoten, narbig-fibrotische Lungen- und Pleuraveränderungen und eine fibrotische Kranialraffung der Hili können auf eine früher stattgehabte pulmonale TB und oder eine LTB hinweisen.

Prinzipiell gilt, dass keine der oben genannten radiologischen Veränderungen eine ausreichende Spezifität besitzt und ein radiologischer Einzelbefund weder eine aktive TB noch eine LTB beweisen bzw. andere Grunderkrankungen ausschließen kann.

2.5.2. Mikrobiologische Untersuchungen

Für die mikrobiologische Untersuchung werden respiratorische Sekrete (Sputum, Bronchialspülungen oder broncho-alveoläre Lavage), Magensaft oder Gewebeproben verwendet.

Der färberische Nachweis von Mykobakterien erfolgt meist mittels Auramin-Rhodamin- und Ziehl-Neelsen-Färbung. Der Nachweis säurefester Stäbchen allein ist jedoch noch kein Beweis für das Vorliegen einer aktiven TB, da sich NTM oder *Nocardia* spp. ebenfalls als solche darstellen.

Der definitive Nachweis einer aktiven TB basiert auf dem kulturellen Nachweis von MTB und gilt als Goldstandard der TB-Diagnostik. Die TB-Kultur wird aufgrund des langsamen

Wachstums der Mykobakterien im Durchschnitt erst nach zwei bis vier Wochen positiv. Bei fehlendem Wachstum werden TB-Kulturen erst nach sechs bis acht Wochen als negativ befundet.

2.5.3. Molekularbiologischer Nachweis

Der molekularbiologische Nachweis einer aktiven TB kann mit Hilfe eine Polymerase-Kettenreaktion (PCR) erfolgen und liefert binnen Stunden ein Ergebnis. Die Sensitivität molekular-biologischer Methoden liegt jedoch unter der der Kultur.

2.5.4. Tuberkulin-Hauttest

Der Tuberkulin-Hauttest (THT) basiert auf der Induktion und Messung einer Immunantwort vom verzögertem Typ (Typ IV nach Coombs und Gell). Nach der Mendel-Mantoux-Methode werden z.B. zwei Tuberkulineinheiten Tuberkulin RT23 des Statens Serum Institut Kopenhagen intradermal in den Unterarm des Patienten injiziert. Nach 3 Tagen wird die Induration mit einem Lineal abgelesen. Für ein positives Ergebnis werden je nach Bacille-Calmette-Guérin (BCG)-Impfstatus, Immunstatus und klinischer Fragestellung Grenzwerte zwischen 5-15 mm verwendet.

Die Sensitivität des THT bei der aktiven TB liegt in der Regel bei ca. 68 % und die Spezifität bei ca. 75 %.⁸ Bei immunsupprimierten Patienten mit verminderter Typ IV-Immunantwort und aktiver TB fällt die Sensitivität des THT teilweise bis auf unter 40 %.⁹ Bei der LTB liegt die mutmaßliche Sensitivität des THT bei ca. 71 %, die Spezifität bei ca. 89 % und nach einer relevanten TB-Exposition der positive Vorhersagewert (positive predictive value, PPV) zum Übergang von einer asymptomatischen LTB zu einer aktiven TB zwischen 2,1 bis 3,1.⁹

Da es sich beim Tuberkulin und auch beim seit 1932 verwendeten purified protein derivate (PPD) um eine Mischung unspezifischer mykobakterieller Proteinen handelt, ist die Spezifität des THT für die Diagnose einer Infektion mit *M. tuberculosis* begrenzt. Zum einen kann anhand eines positiven THT nicht zwischen einer aktiven TB und einer asymptomatischen LTB unterscheiden werden, zum anderen fällt der THT nach BCG-Impfung oder bei einer NTM-Infektion regelhaft positiv aus.

Die Reproduzierbarkeit des THT ist ebenfalls limitiert, da bei wiederholten Testungen ein Booster-Effekt mit falsch positiven Ergebnissen eintreten kann.

Ein weiterer Nachteil des THT ist die Notwendigkeit einer erneuten Patientenvorstellung zum Ablesen des Ergebnisses.

2.5.5. Interferon-Gamma-Release-Assays

Um eine aktive oder latente Infektion mit *M. tuberculosis* unabhängig vom direkten Erregernachweis diagnostizieren zu können, wurden Interferon-Gamma-Release-Assays (IGRAs) entwickelt und in den letzten dreizehn Jahren in einer Vielzahl von klinischen Studien evaluiert. Wie bereits der THT können die IGRAs ebenfalls nicht zwischen einer aktiven TB und einer asymptomatischen LTB unterscheiden.

Den verschiedenen IGRAs ist gemein, dass ex vivo die Interferonproduktion von Effektor- und Gedächtnis-T-Zellen nach Stimulation mit mykobakteriellen Antigenen gemessen wird. Als Antigene werden dabei außerordentlich spezifische Peptide von *M. tuberculosis* verwendet, meist das early secretory antigen target 6 (ESAT-6), das culture filtrate protein 10 (CFP-10) und TB7.7(p4).

Innerhalb des mykobakteriellen Genoms befindet sich die Kodierung für die Genprodukte ESAT-6 und CFP-10 in der region of difference 1 (RD1), die in allen Stämmen von *M. tuberculosis* und *M. bovis* auftritt, jedoch in BCG-Impfstoff-Stämmen und den meisten nichttuberkulösen Mykobakterien (mit Ausnahme von *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. szulgai*, *M. flavescens* und *M. gastrii*) fehlt.¹⁰ TB7.7(p4) stammt aus der RD11, welche bei den BCG-Stämmen und der Mehrheit der NTM ebenfalls nicht vorhanden ist.

Diese drei Peptide werden zur in vitro Lymphozytenstimulation genutzt und die von den aktivierten T-Zellen dann synthetisierte Menge an Interferon- γ mittels enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) oder enzyme linked immunospot (ELISPOT) als Korrelat für eine anzunehmende *M. tuberculosis* Infektion quantifiziert.

Kommerziell sind aktuell zwei verschiedene Testsysteme erhältlich und international zugelassen: der ELISA basierte QuantiFERON-TB Gold® (QFT) der Firma Qiagen/Cellestis sowie der hier verwendete ELISPOT basierte T-SPOT.TB® (T-SPOT) der Firma Oxford Immunotec.

Im Vergleich zum THT bieten die IGRAs eine Reihe von prinzipiellen Vorteilen. Die Patienten müssen sich nur einmal zur Blutentnahme vorstellen, die Bestimmung des Testergebnis ist weniger anfällig für individuelle Ablesefehler, es gibt eine Positiv- und Negativkontrolle zur Validierung der Testergebnisse und die IGRAs sind in vielen klinischen Situationen sensitiver und teilweise auch spezifischer als der THT.

In einer aktuellen TBNET/ECDC Metaanalyse von 2010 betrug die gepoolte Sensitivität bei der aktiven TB für den QFT 80 %, für den T-SPOT 81% und für den THT nur 68 %. Die gepoolte Spezifität lag für den QFT bei 79 %, für den T-SPOT deutlich niedriger bei nur 59% und für den THT 75 %.⁸

Bzgl. der LTB Diagnostik in TB-Niedrigprävalenzländern liegt ebenfalls eine rezente

TBNET/ECDC Metaanalyse von 2011 vor.¹¹ Dementsprechend liegt nach relevanter TB Exposition die Spezifität des QFT bei 100 %, des T-SPOT bei 98 % und des THT bei 89 %. Der negativ prädiktive Wert (NPV, negative predicitive value) für die Entwicklung einer aktiven TB innerhalb der ersten zwei Jahre nach Exposition beträgt für den QFT 100 %, für den T-SPOT 98 % und für den THT 100 %. Der PPV liegt zwischen 3 - 14 % für den QFT, zwischen 3 - 10 % für den T-SPOT und bei 2–3 % für den THT.¹¹

Bei HIV-Patienten ist der THT aufgrund der zusätzlich reduzierten Sensitivität nur sehr eingeschränkt verwendbar.¹² Eine Vielzahl von Studien haben die Überlegenheit der IGRAs gegenüber dem THT bei HIV-Patienten gezeigt.^{13,14,15,16,17,18} Details siehe Kapitel 2.7.5.

2.6. Therapie der Tuberkulose

2.6.1. Therapie der aktiven Tuberkulose

Die Standard-Therapie der aktiven TB umfasst eine mehrmonatige Kombinationstherapie. In den ersten zwei Monaten erhalten die Patienten eine Vierfachtherapie bestehend aus Isoniazid, Rifampicin, Pyrazinamid und Ethambutol. Anschließend folgt eine Erhaltungstherapie mit nur Isoniazid und Rifampicin für vier weitere Monate.

Die möglichen Nebenwirkungen der tuberkulostatischen Therapie sind vielfältig und unter Umständen potentiell bedrohlich. Neben Retrobulbärneuritis, Fieber, Polyneuropathien und Arzneimittellexanthemen ist die Tuberkulostatika-induzierte Hepatitis von besonderer Bedeutung.

Ein global zunehmendes Problem ist das Auftreten von Mehrfachresistenzen, welche als multiresistente TB (multidrug resistant tuberculosis, MDR-TB = Resistenz gegen Isoniazid und Rifampicin) und extrem resistente TB (extensively drug resistant tuberculosis, XDR-TB = MDR-TB plus Resistenz gegen injizierbare Medikamente der Gruppe 2 und Fluorchinolone) bezeichnet werden. Die Entstehung und Verbreitung von MDR/XDR-TB ist eng verknüpft mit Armut, politischer Instabilität und fehlender gesundheitspolitischer Infrastruktur in Schwellen- und Entwicklungsländern. Dies führt zu fehlerhafter oder unzureichender Tuberkulosetherapie und letztendlich zur Entwicklung von Resistenzen.

2.6.2. Therapie der latenten Tuberkulose

Prinzipiell besteht auch die Möglichkeit einer präventiven Therapie im Falle einer LTB. Eine solche Behandlung wird oft auch als TB-Chemoprävention bezeichnet und ist i.d.R. nur nach rezenter und relevanter TB-Exposition oder bei immunsupprimierten Patienten mit einem hohen TB-Risiko indiziert. Diesbezüglich existieren entsprechende nationale und internationale Empfehlungen. Für die TB-Chemoprävention ist meist eine Monotherapie mit Isoniazid für neun Monate ausreichend. In Deutschland wird bei HIV-infizierten Patienten mit anzunehmender LTB eine präventive Therapie empfohlen.¹⁹

2.7. Tuberkulose und HIV

2.7.1. HIV und AIDS

Das humane Immundefizienzvirus ist ein Retrovirus, welches entweder über Geschlechtsverkehr, vertikale Transmission von Mutter zu Kind, intravenösen Drogenabusus oder Blutprodukte übertragen wird. Das Virus befällt im Menschen vor allem CD4-positive T-Lymphozyten, aber auch andere Zellen des Immunsystems wie Monozyten und Makrophagen.

Im natürlichen Verlauf der Infektion kommt es zu einer fast vollständigen Depletion der CD4-Zellen. Hieraus entsteht ein schwerer Immundefekt, welcher zum Auftreten opportunistischer Infektionen führt. Klassische opportunistische Infektionen sind die *Pneumocystis jirovecii* Pneumonie (PJP), schwere Candida-Infektionen, die Cytomegalie (CMV) -Retinitis, zerebrale Toxoplasmose, die TB sowie atypische Mykobakteriosen. Zusätzlich besteht ein deutlich erhöhtes Risiko für maligne Erkrankungen wie das Kaposi-Sarkom oder Lymphome.

Die meisten der o.g. opportunistischen Infektionen sind vital bedrohlich und treten beim Unterschreiten einer Grenze von 200 CD4-Zellen/ μ l auf. Eine Ausnahme bildet hierbei die TB, die sich auch schon bei höheren Zellzahlen manifestiert. Bestehen weniger als 200 CD4-Zellen/ μ l oder eine der opportunistischen Infektionen bricht aus, spricht man entsprechend der CDC Definition von 1993 vom Stadium AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome).

Unbehandelt endet die HIV Infektion nach einigen Jahren in fast allen Fällen im Stadium AIDS und führt dann meist innerhalb weniger Monate zum Tode. Durch eine effektive Kombinationstherapie antiretroviraler Medikamente und gezielte Diagnostik, Therapie und Prophylaxe opportunistischer Infektionen ist heute eine drastische Reduktion der HIV-assozierten Mortalität und Morbidität möglich.

2.7.2. Epidemiologie der HIV-TB-Koinfektion

Seit der Erstbeschreibung des HI-Virus vor ca. drei Jahrzehnten hat sich HIV als Pandemie über die ganze Welt ausgebreitet. Global gesehen sind lt. WHO aktuell ca. 33 Millionen Menschen HIV positiv. Die Prävalenz bei 15- bis 49-Jährigen beträgt weltweit 0,8 %. Hierbei ist die Prävalenz im südlichen Afrika mit 5 % am höchsten. In Westeuropa betrug sie 0,2 %.¹

Im Jahr 2010 waren 1,1 Millionen Menschen mit TB und HIV koinfiziert (entspricht ca. 13 % aller an TB erkrankten Menschen), von denen ca. 360 000 Patienten verstarben.^{1,2} Die

TB ist somit die häufigste opportunistische Infektion für HIV-Patienten in Ländern mit geringem oder mittlerem Einkommen und die häufigste Todesursache unter HIV-Patienten.²⁰ Weltweit ist jeder vierte HIV-Patient, der verstirbt, mit TB koinfiziert.¹

Während die meisten opportunistischen Infektionen erst in fortgeschrittenen Stadien der HIV-Infektion bzw. bei weniger als 200 CD4-Zellen/ μ l auftreten, können HIV-Infizierte unabhängig von der CD4-Zellzahl in allen Stadien der HIV-Infektion an einer TB erkranken. Mehr als 50 % der pulmonalen TB treten bei Patienten mit mehr als 200 CD4-Zellen/ μ l auf.²¹ Trotzdem gilt, dass mit fallender CD4-Zellzahl das Risiko einer aktiven TB Erkrankung (entweder als Reaktivierung aus einer bereits länger bestehenden LTB oder nach einer rezenter Exposition) deutlich steigt.²²

Die WHO und UNAIDS schätzen, dass HIV-Infizierte mindestens 20 mal wahrscheinlicher an TB erkranken, als HIV-Negative.¹ Das Lebenszeitrisiko, nach Kontakt mit einem an offener Lungentuberkulose erkranktem Patienten selbst eine aktive TB zu entwickeln, liegt bei HIV-Negativen bei ca. 5 bis 15 %; bei HIV-positiven Patienten liegt das jährliche Risiko bereits bei 7 bis 10 %.²³ Es wurde berechnet, dass HIV-infizierte Personen, die keine adäquate Therapie nach TB-Exposition erhalten, im Gegensatz zu HIV-Negativen mit zehn mal höherer Wahrscheinlichkeit innerhalb von fünf Jahren eine TB entwickeln.^{24,25}

Zur Einschätzung des TB-Risikos wurden Patienten mit positivem THT prospektiv beobachtet. Die Inzidenz einer aktiven TB lag bei HIV-infizierten Patienten mit 35-162 Fällen pro 1000 Personenjahre (PJ) deutlich höher, als bei mit HIV-negativen Personen mit 13 Fällen pro 1000 PJ.^{23,25,26} Handelt es sich um intravenös drogenabhängige HIV-Patienten, steigt das Risiko einer aktiven TB auf 76 Fälle pro 1000 PJ an.^{27,28} Für HIV-Patienten mit positivem THT besteht ein relatives Risiko von 9,9 für die Entwicklung einer aktiven TB.²⁹

Zur Unterscheidung, ob es sich bei den TB-Erkrankungen um Reaktivierungen oder Neuinfektionen handelt, konnten Geng et al. in New York City mittels molekular-genetischem Fingerprinting bei einem Kollektiv von immigrierten HIV-Patienten zeigen, dass es sich in den meisten Fällen um neue Transmissionen handelte.³⁰ In Westeuropa beträgt der Anteil der Neuinfektionen vermutlich bis zu 40 %.³¹

2.7.3. Immunologische Grundlagen der Interaktion

Die HI-Viren befallen Zellen des lymphatischen Systems; in erster Linie sind CD4-positive T-Lymphozyten und Makrophagen als Zielzellen des Virus bekannt. Infolgedessen kommt es bei einer HIV-Infektion zum Absinken der CD4-Zellzahl und damit einhergehend u.a. zu einer verminderten Produktion von Interferon- γ . Hierdurch ist die Fähigkeit des Körpers zur Granulombildung wesentlich gehemmt und Neuinfektionen mit MTB gehen rasch in eine aktive TB über bzw. eine bereits länger bestehenden LTB wird reaktiviert.^{32,33,34} Sonnenberg et al. konnten bei einer Untersuchung südafrikanischer Goldminenarbeiter einen Risikoanstieg für TB bei HIV-Serokonversion zeigen und wiesen nach, dass sich das Risiko, an TB zu erkranken, im ersten Jahr der HIV-Infektion verdoppelt.³⁵ Darüber hinaus ist der Verlauf der aktiven TB bei HIV-Infizierten meist rascher progredient und das Auftreten von MDR und XDR-Stämmen überdurchschnittlich häufig.^{36,37,38}

Zusätzlich führt eine aktive TB zu einem deutlichen Progress der HIV-Infektion mit Anstieg der Viruslast und beschleunigtem Abfall der CD4-Zellzahl.^{39,40,41}

Hierfür gibt es mehrere Erklärungsansätze: Denkbar ist zum einen eine generelle Aktivierung des Immunsystems durch die TB, die den Anteil an CD4-Zellen erhöht, welche dann in noch höherem Maße von HI-Viren infiziert werden können.⁴² Weiterhin wiesen Wolday et al. eine erhöhte Expression der HIV-Korezeptoren CCR5 und CXCR4 bei koinfizierten Patienten nach.⁴³ Schließlich erhöht Tumor Nekrose Faktor alpha, welches in den tuberkulösen Granulomen produziert wird, als aktiver Promotor die HIV-Replikation und führt somit zu einer weiteren Beschleunigung der Spirale der Immunsuppression.⁴⁴

Diese Mechanismen führen bei koinfizierten Patienten im Vergleich zu Patienten mit ausschließlicher HIV-Infektion mit jedoch gleicher CD4-Zellzahl zu einem zweifach erhöhten Risiko, an der HIV-Infektion zu versterben. Als Todesursache registrierten Whalen et al. in den meisten Fälle den Progress der HIV-Infektion, weniger häufig das Versterben an der aktiven TB.⁴⁵

2.7.4. Klinischer Verlauf der HIV-TB-Koinfektion

Um den klinischen Verlauf der HIV-TB-Koinfektion zu beschreiben, empfiehlt sich die Unterteilung der Patienten nach dem Schweregrad der Immunsuppression. Bei leicht oder mittelgradig immunsupprimierten Patienten mit mehr als 200 CD4-Zellen/ μ l wird hauptsächlich das klassische Bild einer Oberlappen betonten pulmonalen TB mit mediastinaler Lymphadenopathie und Kavernen bildenden Infiltraten beobachtet und im Sputum lassen sich meist säurefeste Stäbchen nachweisen. Sinken die CD4-Zellen jedoch unter 200/ μ l, werden ungewöhnliche Manifestation wie die akute tuberkulöse Pneumonie

und Pleuritis, extrapulmonale und miliare Verlaufsformen häufiger. In einer Gruppe von 75 Patienten im Stadium AIDS mit TB-Koinfektion fand man bei knapp einem Drittel der Patienten eine Mykobakteriämie. Bei Patienten mit < 100 CD4-Zellen/ μ l erreichte die Prävalenz sogar 49 %. In 9 bis 40 % der Fälle manifestierte sich die TB zeitgleich sowohl pulmonal als auch extrapulmonal.^{46,47,48} Nahezu jede mögliche extrapulmonale Manifestation der TB wurde bei HIV-Infizierten beschrieben. Die Lymphknotentuberkulose stellt jedoch die häufigste extrapulmonale Manifestation bei HIV-Patienten dar.⁴⁹ Ein alleiniger extrapulmonaler Befall tritt bei 53 bis 63 % der koinfizierten Patienten auf und ist häufiger bei den schwer Immunsupprimierten.⁴⁹

2.7.5. Diagnostik

Die Diagnostik der TB wird durch eine gleichzeitige Infektion mit HIV erschwert. Bedingt durch die mit fortschreitender Immunsuppression häufiger auftretende atypische und extrapulmonale Manifestation wird eine aktive TB durch die behandelnden Ärzte öfter verkannt bzw. später diagnostiziert als eine klassische Lungentuberkulose bei HIV-negativen Patienten.

Darüber hinaus ist die Mikroskopie des Sputums bei nur 30 - 60 % der AIDS-assoziierten TB-Fälle positiv, verglichen mit 57 % bei HIV-negativen Patienten. Der Röntgen-Thorax zeigt in 8 - 20 % der Fälle einen Normalbefund, auch wenn *M. tuberculosis* im Sputum nachweisbar ist.^{45,46,47,48,49,50,51}

In Abhängigkeit vom Immunstatus finden sich histopathologisch typische tuberkulöse Granulome in 60 bis 100 % der Fälle.^{46,52,53}

Bei der aktiven TB ist der THT bei HIV-infizierten Patienten mit < 200 CD4-Zellen/ μ l in nur 30 % positiv; bei Patienten mit > 200 CD4/ μ l steigt der Anteil auf 50 % an.⁴⁶ Die Compliance zur erneuten ärztlichen Vorstellung, um das THT-Ergebnis zeitgerecht abzulesen, ist bei HIV-Patienten sehr variabel und teilweise deutlich reduziert. In unterschiedlichen Studienkollektiven HIV-infizierter Patienten betrug die Rate abgelesener Hauttest-Ergebnisse zwischen 32,5 %⁵⁴ und 94 %.¹⁶

Da bei HIV-infizierten Patienten die pulmonale TB zugunsten extrapulmonaler Manifestationen weniger häufig auftritt und auch bei Befall der Lungen der klassische Verlauf seltener beobachtet wird, hat die Röntgenuntersuchung des Thorax bei HIV-Patienten eine nur eingeschränkte Sensitivität und Spezifität.

Die atypischen klinischen Präsentationen und die o.g. Schwierigkeiten in der TB-Diagnostik führen bei HIV-Patienten oft zu einer signifikanten Verzögerung in der

tuberkulostatischen Therapie.^{36,47,50} Mit jedem Verzug der Therapie steigt jedoch nicht nur die Morbidität und Mortalität, sondern auch die Wahrscheinlichkeit, weitere Kontaktpersonen anzustecken.

2.7.6. Therapie der Koinfektion

Die moderne HIV-Therapie mittels HAART (highly active antiretroviral therapy) kann das TB-Erkrankungsrisiko und im Falle einer aktiven TB auch die TB-Mortalität reduzieren.^{55,56,57,58,59} Als sehr effektive TB-Präventionsmaßnahme senkt HAART die TB-Inzidenz um bis zu 80 % und spielt daher eine entscheidende Rolle in der TB-Eindämmung in Ländern mit hoher Koinfektionsrate.

Trotz des positiven Einflusses der HAART bleibt die TB-Inzidenz jedoch auch bei mit HAART behandelten HIV-Patienten höher, als bei HIV-negativen Menschen.^{48,60} Lawn et al. postulieren, dass trotz HAART eine vollständige Restitution der CD4-Zellzahl nur in einem kleinen Teil der Patienten erzielt werden kann und dass auch bei diesen Patienten phänotypische Abweichungen und Funktionsdefizite der Zellen bestehen bleiben.⁶¹ Die suboptimale Wiederherstellung der tuberkulosespezifischen Immunmechanismen ist möglicherweise der größte Faktor, der den positiven Einfluss der HAART auf die TB-Inzidenz limitiert.

Die gleichzeitige Behandlung einer HIV- und MTB-Infektion ist aufgrund potenzieller Nebenwirkungen (vor allem Hepatotoxizität, Übelkeit, Durchfall, Polyneuropathie, psychische Nebenwirkungen, allergische Reaktionen) und vielfältiger Medikamenten-Interaktionen (Rifampicin vermindert beispielsweise als Induktor am Cytochrom-P-450-System die Serumspiegel vieler HIV-Proteaseinhibitoren) außerordentlich komplex.

Darüber hinaus tritt nach Beginn einer HAART bei ca. 25-60 % der Patienten ein Immunrekonstitutionssyndrom (immune reconstitution inflammatory syndrome; IRIS) auf, was zu einer Exazerbation von klinischen Symptomen und radiologischen Manifestationen der TB führen kann.⁶²

Eine TB-Therapie und konkomitante HAART bedeutet im Falle einer aktiven TB zusätzlich die Einnahme von ca. 15 Tabletten pro Tag. Die hohe Anzahl an Tabletten stellt für viele Patienten eine große Herausforderung dar und verursacht teilweise erhebliche Compliance- und Adhärenzprobleme.⁶³

2.8. Herleitung der Fragestellung

Eine aktive TB ist bei zusätzlicher HIV-Koinfektion mit einer überdurchschnittlich hohen Morbidität und Mortalität assoziiert. Um eine aktive TB bei HIV-Patienten präventiv zu verhindern, wird ein effektives Instrument zur Diagnostik einer bereits vorbestehenden LTB benötigt. Es wird davon ausgegangen, dass durch die Anwendung sensitiver diagnostischer Verfahren und gezielte medikamentöse TB-Chemoprävention die TB-Mortalität bei HIV-Patienten um bis zu 20 % reduziert werden könnte.^{64,65} Ein verlässlicher Standard für die Diagnose der LTB bei HIV-Patienten in Niedrigprävalenzländern fehlt jedoch bisher. Von besonderer Wichtigkeit wäre eine sensitive und spezifische Screening-Methode, unabhängig vom Schweregrad der Immunsuppression.

In den letzten Jahren wurden die IGRAs als mögliche Methode zur Diagnose einer wahrscheinlichen LTB auch bei HIV-Patienten diskutiert. In den bisherigen IGRA-Studien an HIV-Patienten waren aber gerade die schwer immunsupprimierten Patienten im Stadium AIDS und somit die besonders TB-gefährdeten Patienten unterrepräsentiert. Diese Patientengruppe steht im Fokus dieser Arbeit.

Ziel dieser Studie ist es:

1. mittels T-SPOT die Rate der IGRA positiven HIV-Patienten im Zentrum einer westeuropäischen Metropole (Berlin Mitte) zu erheben,
2. die Rate der positiven T-SPOT-Ergebnisse in Bezug auf Herkunft (Hochprävalenzländer versus Niedrigprävalenzländer) und Immunstatus (CD4-Zellzahl) zu vergleichen,
3. mittels Nachbeobachtung die Zuverlässigkeit des LTB-Screening mittels T-SPOT zur Verhinderung einer aktiven TB zu prüfen.

Aus den gewonnenen Daten zur Prävalenz der LTB bei Berliner HIV-Patienten und der Langzeitbeobachtung soll abschließend die Indikation zum LTB-Screening und zur präventiven Therapie diskutiert werden.

3. Methoden

3.1. Patienten

Zwischen März 2005 und Juni 2007 wurden 192 HIV-positive Patienten an der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Infektiologie und Pneumologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, in die Untersuchung eingeschlossen. Dabei stammten von den 185 Patienten mit letztendlich validen Ergebnissen 133 Patienten (71,9 %) von der HIV-Tagesklinik, 46 Patienten von peripheren Stationen und 6 Patienten von Intensivstationen.

3.1.1. Einschlusskriterien, Ausschlußkriterien, Patientenfragebogen, Datenerfassung

Als Einschlusskriterien galten ein Alter von mindestens 18 Jahren sowie die schriftliche Einverständniserklärung.

Strikt ausgeschlossen wurden Patienten mit klinischem Verdacht auf aktive TB oder gesicherter aktiver TB, Patienten, die in der Vergangenheit bereits an einer aktiven TB erkrankt waren und lege artis tuberkulostatisch behandelt wurden und Patienten, die in den letzten sechs Monaten Kontakt zu einem Patienten mit offener Lungentuberkulose hatten.

Die Studie wurde der Ethik-Kommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin vorgestellt und genehmigt.

Nachdem die Patienten die Einverständniserklärung unterschrieben hatten, füllten sie einen Fragebogen unter anderem über bisherige Diagnose und Therapie hinsichtlich einer aktiven TB, ihren BCG-Impfstatus sowie ihren Geburtsort und, im Fall einer ausländischen Herkunft, die bisherige Dauer des Aufenthalts in Deutschland aus.

Weitere klinische und laborchemische Daten wurden den medizinischen Akten entnommen, insbesondere Parameter zum bisherigen immunologischen Status, zur HIV-Therapie, zu immunsuppressiven Therapien (z.B. Steroide) und zu schweren Begleiterkrankungen. Als infektiologisch und immunologisch relevante Parameter wurden die aktuelle CD4-Zellzahl (absolut und als relativer Anteil der Lymphozyten-population) sowie die HI-Viruslast bestimmt. Weiterhin wurde erhoben, ob zum Zeitpunkt der Untersuchung eine AIDS-definierende Erkrankung bestand oder jemals bestanden hat.

3.1.2. Nachbeobachtung

Im Dezember 2010 erfolgte ein Follow-up, in dessen Rahmen die schriftlichen und elektronischen Patientendaten (Medocs, Medvision und Patientenakte in der HIV-Tagesklinik) der eingeschlossenen Patienten abschließend gesichtet wurden. Dabei wurde das Datum der letzten klinischen Visite, die aktuelle Anzahl der CD4-Zellen und die HI-Viruslast bei der letzten Wiedervorstellung exzerpiert. Darüber hinaus wurde erfasst, welche Patienten im Beobachtungszeitraum eine aktive TB entwickelt und welche Patienten mit anzunehmender LTB eine Chemoprophylaxe erhalten haben.

3.2. Chemikalien und Apparate

<u>Materialien</u>	<u>Hersteller</u>
Pipetten:	
Eppendorf Research 10-100 µl	Eppendorf
Eppendorf Research 100-1000 µl	Eppendorf
Eppendorf Research Mehrkanalpipette 300 µl	Eppendorf
Transferpipetten 3,5 ml	Sarstedt
Pipettenspitzen	Sarstedt
Reaktionsgefäße, 1,5 ml	Sarstedt
Heparinröhrchen zur Blutentnahme, 10 ml	Becton Dickinson
Röhrchen PP Falcon, 15 ml	Becton Dickinson
<u>Chemikalien</u>	
T-SPOT.TB® Testkit	Oxford Immunotec
Dulbecco's PBS	PAA Laboratories
Ficoll Paque Plus	GE Healthcare
RPMI 1640	GIBCO-BRL
AIM-V serum free medium	GIBCO-BRL
PPD Batch RT 50	Statens Serum Institut
PPD GT	Behring
<u>Apparate</u>	
Blutbild-Counter ABX Micros CRP	Abbott
Zentrifuge Varifuge 3.0	Hereaus
Elispot-Reader	AID
<u>Software</u>	
EliSpot 3.1.1 SR	AID
SPSS Statistics 19	IBM

3.3 T-SPOT

Beim T-SPOT handelt es sich um einen kommerziell erhältlichen Enzyme Linked Immuno Spot (ELISPOT) der Firma Oxford Immunotec.

Der ELISPOT ist ein Verfahren, mit dem u.a. die Zytokin-Produktion von Lymphozyten gemessen werden kann. Auf eine Reaktionsplatte, die mit Anti-Zytokin-Antikörpern beschichtet ist, werden Lymphozyten und Antigene appliziert. Produzieren die Lymphozyten nach Antigen-Kontakt Zytokine, gehen diese eine Bindung mit den Antikörpern ein. Die am Boden der Platte fixierten Zytokin-Antikörper-Komplexe werden mit einem zweiten Antikörper sowie einem färbenden Substrat sichtbar gemacht. Auf der Reaktionsplatte erscheint daraufhin für jeden Lymphozyten, der Zytokine sezernierte, ein farbiger Punkt.

Im T-SPOT wird die Freisetzung von Interferon- γ nach Inkubation der Lymphozyten mit zwei speziellen TB-Antigenen, ESAT-6 und CFP-10, gemessen.

Die beiden Antigene entstammen der Genregion RD1, und werden nur von *M. tuberculosis* und wenigen NTM (*M. kansasii*, *M. marinum*, *M. szulgai*, *M. flavescens* und *M. gastrii*) gebildet. Die für die BCG-Impfung verwendeten Stämme von *M. bovis*, sowie alle anderen NTM können kein ESAT-6 und kein CFP-10 bilden.

Der Test wurde kommerziell erworben und den Herstellerangaben entsprechend durchgeführt.

Jedem Patienten wurden durch Venenpunktion acht ml Vollblut in heparinisierten Röhrchen abgenommen. Innerhalb von fünf Stunden wurde das Blut in das Labor gebracht und die Bearbeitung gestartet. Der T-SPOT wurde größtenteils von Frau Katrin Ziemann selbstständig durchgeführt. Da das Verfahren am Ende der Studie in die Routine-Diagnostik einging wurde der Test ab Anfang 2007 gelegentlich von Frau Ute Gläser und Herrn Cüneyt Acar (medizinisch-technischen Assistenten der Charité – Universitätsmedizin Berlin) durchgeführt. Alle drei Durchführenden wurden im Vorfeld von Mitarbeitern der Firma Oxford Immunotec in die korrekte Testdurchführung eingewiesen und dann einmal jährlich in der praktischen Durchführung durch die Firma im Labor supervidiert und beraten. Insgesamt gab es seitens der Firma keine Beanstandungen bzgl. der Durchführung des T-SPOT.

3.3.1. Isolation der peripheren mononukleären Blutzellen

Die Isolierung der peripheren mononukleären Blutzellen (peripheral blood mononuclear cells; PBMC) erfolgte mittels Dichtegradientenzentrifugation mit Hilfe eines Ficoll-Gradienten. Das heparinisierte Vollblut wurde hierfür in 15 ml-Röhrchen umgefüllt und mit 37 °C warmen RPMI-Medium (Roswell Park Memorial Institute) auf je 14 ml pro Röhrchen aufgefüllt. Das so verdünnte Blut wurde gleichmäßig auf je zwei 15 ml-Röhrchen, die mit je 4 ml Ficoll gefüllt waren, aufgeschichtet. Die Röhrchen wurden 22 Minuten lang bei 1800 Umdrehungen/Minute und 18 °C zentrifugiert. Die Schicht mit den PBMC wurde mit einer Pipette abgesaugt, mit RPMI auf 10 ml aufgefüllt und dann sieben Minuten lang bei 600 Umdrehungen/Minute und 18 °C zentrifugiert. Nach Entfernung des flüssigen Überstands wurde das verbleibende Zellpellet mit 1 ml AIM-V Medium resuspendiert und dann auf 10 ml mit AIM-V aufgefüllt. Es folgte eine dritte Zentrifugation für sieben Minuten mit 200 Umdrehungen/Minute und 18 °C. Nachdem der flüssige Überstand abgegossen und verworfen wurde, erfolgte die Resuspension des Pellets mit 700 µl AIM-V und die Leukozytenanzahl konnte Mittels Blutbild-Automat ermittelt werden. Um Schwankungen auszugleichen wurden pro Patient zwei Messungen am Blutbild-Automaten durchgeführt und das Ergebnis gemittelt. Mit AIM-V wurde die Zellsuspension dann auf 250 000 Zellen/100 µl adjustiert.

3.3.2. Durchführung des T-SPOT

Auf der 96-well Reaktionsplatte wurden für jeden Patienten je 50 µl ESAT-6, 50 µl CFP-10, 50 µl Phytohaemagglutinin (PHA) als Positivkontrolle und 50 µl AIM-V als Negativkontrolle in jeweils ein Feld eingebracht. In jedes der vier Felder wurden dann 100 µl Zellsuspension gegeben. Es folgte dann eine Inkubationsphase von 16 bis 20 Stunden bei 37 °C und 5 % CO₂.

Am nächsten Tag wurde die Platte vier Mal mit PBS gewaschen und unter dem Abzug 50 µl Conjugat-Antikörper in jedes Reaktionsfeld gegeben. Daraufhin wurde die Platte eine Stunde lang im Kühlschrank bei vier °C inkubiert. Nach vier weiteren Waschsritten mit PBS wurden 50 µl Substrat in jedes Feld gegeben. Nach sieben Minuten wurde die Reaktion durch viermaliges Waschen mit destilliertem Wasser beendet. Die Platte trocknete bei Raumtemperatur und wurde anschließend zunächst visuell ausgezählt. Die vollständig verwendeten Reaktionsplatten wurden abschließend mit einem AID ELISPOT-Reader, Software 3.1.1 SR ausgelesen.

3.3.3. Interpretation der Ergebnisse

Die Reaktionsfelder für ESAT-6 und CFP-10 (Antigen-Felder) wurden als positiv bewertet, wenn die Anzahl der Spots im jeweiligen Antigen-Feld minus der Anzahl der Spots in der Negativkontrolle ≥ 6 ergab. Enthielt die Negativkontrolle mehr als sechs Spots, konnte das Antigen-Feld nur dann als positiv bewertet werden, wenn im Antigen-Feld mindestens doppelt so viele Spots, wie in der Negativkontrolle, nachweisbar waren. Als indeterminant wurde ein Ergebnis bezeichnet, wenn die Anzahl der Spots in der PHA-Positivkontrolle < 20 betrug und es kein positives Ergebnis in einem der Antigen-Felder gab. Waren in den Reaktionsfelder so viele Verfärbungen, dass die Spots nicht vom Hintergrund abgrenzbar waren, wurde das Ergebnis als ungültig bzw. als nicht valide bezeichnet.

3.4. Tuberkulin-Hauttest

Der THT wurde von ärztlichem Personal der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Infektiologie und Pneumologie am Unterarm der Patienten intrakutan nach der Mendel-Mantoux-Methode angelegt. Verwendet wurden 5 tuberculin units (TU) PPD-S, äquivalent zu 10 TU gereinigtes Tuberkulin Behring bzw. 2 TU PPD RT 23 Statens Serum Institut. Die Induration wurde nach 48 bis 72 Stunden mit einem Lineal gemessen und bei einem Durchmesser von ≥ 5 mm als positiv bezeichnet. Die Festlegung des Cut-Offs bei ≥ 5 mm erfolgte analog der Richtlinien der American Thoracic Society und der Centers for Disease Control 2000.⁶⁶

3.5. Statistische Analyse

Es fanden mehrmalige Beratung durch das Institut für Sozialmedizin, Epidemiologie und Gesundheitsökonomie der Charité – Universitätsmedizin Berlin statt. Ansprechpartner waren hier Frau Diplomstatistikerin Stephanie Roll und Herr Dr. med. M.Sc. Public Health Thomas Keil.

Die Berechnungen wurden mit SPSS Version 19 und 20 durchgeführt.

Initial wurden Histogramme erstellt, um Normalverteilungen oder Abweichungen beim Datensatz zu erkennen. Anschließend wurden dementsprechend die Mediane oder der Mittelwert berechnet. Der Interquartilsrang zwischen der 25. und 75. Perzentile wurde jeweils angegeben.

Vergleiche zwischen Gruppen wurden mit dem Chi-Quadrat Test oder bei kleinerer Anzahl mit dem Fisher Exact Test durchgeführt. Als Ergebnis wurde die asymptotische zweiseitige Signifikanz, ggf. mit Kontinuitätskorrektur verwendet.

Mediane verschiedener Gruppen wurden mit dem Wilcoxon Ranked sum test verglichen. Die Korrelation zwischen der CD4-Zellzahl und der Anzahl der Spots wurde mit dem Spearman-Koeffizienten berechnet. Mit dem Kappa-Koeffizienten wurde die Konkordanz zwischen T-SPOT und THT bestimmt.

Der Kruskal-Wallis-Test wurde verwendet, um die konkordanten und diskordanten Ergebnisse beider Tests stratifiziert nach CD4-Zellzahl zu vergleichen.

Als signifikant wurde ein p-Wert von $< 0,05$ definiert.

4. Ergebnisse

4.1. Demographische Daten des Studienkollektivs

Die demografischen Daten der 185 Patienten mit gültigen T-SPOT-Ergebnissen sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Insgesamt sind 129 Patienten (69,7%) männlich, das Alter beträgt im Mittelwert 42,5 Jahre.

Tabelle 1: Demographische Daten der 185 Patienten mit gültigen T-SPOT Ergebnissen und der 112 Patienten mit gültigen Ergebnissen für T-SPOT und THT

	Gesamt n = 185	Pat. mit THT n = 112
Alter; Jahre: Mittelwert (Interquartilsbereich IQR)	42,5 (35-49)	41 (34-47)
Geschlecht männlich (%)	129 (69,7)	76 (67,9)
Herkunftsland		
TB-Niedrigprävalenzländer (%)	121 (65,4)	66 (58,9)
Deutschland (%)	115 (62,2)	62 (55,4)
andere (%)	6 (3,2)	4 (3,6)
TB-Hochprävalenzländer (%)	64 (34,6)	46 (41,1)
Osteuropa (%)	11 (5,9)	8 (7,1)
Afrika (%)	33 (17,8)	23 (20,5)
Asien (%)	17 (9,2)	12 (10,7)
Südamerika (%)	3 (1,6)	3 (2,7)
Immunkompromittierende Faktoren		
Diabetes mellitus (%)	12 (6,5)	7 (6,3)
Alkoholabusus (%)	11 (5,9)	7 (6,3)
Intravenöser Drogenabusus (%)	23 (12,4)	14 (12,5)
Steroid-Therapie (%)	13 (7,0)	3 (2,7)
Maligne Erkrankung (%)	14 (7,6)	8 (7,1)
HIV-Wastingsyndrom (%)	13 (7,0)	4 (3,6)
HIV-Infektion		
Median HIV-1 RNA, Kopien/ml	363	275,5
Median HIV-1 RNA, log Kopien/ml	2,6	2,4
HIV RNA <50 Kopien/<1,7 log Kopien/ml, (%)	63 (34,1)	44 (39,3)
aktuell AIDS-definierende Erkrankung (%)	38 (20,5)	14 (12,5)
Stadium AIDS (%)	145 (78,4)	87 (77,7)
CD4-Zellzahl		
Median CD4-Zellen/µl (IQR) [Spannweite]	275 (133-465) [1-1381]	307 (182,5-490) [1-1381]
CD4-Zellzahl (Zellen/µl)		
0-99	35 (18,9)	11 (9,8)
100-199	31 (16,8)	22 (19,6)
200-349	50 (27,0)	32 (28,6)
>350	69 (37,3)	47 (42)
CD4-Zellzahl (%)		
0 to <14	70 (37,8)	39 (34,8)
14 to <28	77 (41,6)	26 (23,2)
≥28	38 (20,5)	47 (42)

4.1.1. Nationalität

Die Patienten stammen aus 36 verschiedenen Staaten, davon etwa ein Drittel (64 von 185 Patienten, 34,6 %) aus TB-Hochprävalenzländern, hier vor allem aus Afrika (33/185 Patienten, 17,8 %), Asien (17/185 Patienten, 9,2 %) und Osteuropa (11/185 Patienten, 6 %).

In die Definition Hoch- beziehungsweise Niedrigprävalenzland gingen sowohl die TB-Prävalenz von \geq oder $<$ 25 Fälle pro 100 000 Einwohner, als auch die geographische und insgesamt betrachtete Lage von Gesundheitssystem und Gesundheitszustand der Bevölkerung ein. Die epidemiologischen Daten hierfür wurden aus den WHO Global TB Control Reporten von 2007 und 2009 entnommen.

Die Basisdaten der Patientengruppen aus Hoch- und Niedrigprävalenzländern unterscheiden sich. Bei Patienten aus den Hochprävalenzländern waren 60 % weiblich, während in der Gruppe der Patienten aus Niedrigprävalenzländern 80 % männlich waren. Ebenso gab es deutliche Unterschiede bezüglich des Altersmedians: dieser lag in den Hochprävalenzländern bei 38,5 Jahren und in den Niedrigprävalenzländern mit 44 Jahren höher. Der Mittelwert der CD4-Zellen lag bei Patienten aus den Hochprävalenzländern bei 313 Zellen/ μ l, während er bei solchen aus Niedrigprävalenzländern 265,5 Zellen/ μ l betrug. Die demografischen Daten beider Gruppen spiegeln die bekannte Datenlage über die deutschen und westeuropäischen im Vergleich zu den nach Deutschland immigrierten HIV-Patienten wider. So stehen auf dem afrikanischen Kontinent die heterosexuelle HIV-Übertragung sowie die vertikale Transmission von Mutter zu Kind im Vordergrund, während sich in Europa die meisten Patienten durch homosexuellen Geschlechtsverkehr oder durch den Gebrauch intravenöser Drogen infizieren.¹

4.1.2. Immunkompromittierende Faktoren

An TB-Risikofaktoren wurden erhoben: ein Anteil von 5,9 % (11 Patienten) mit bestätigter Diagnose eines Alkoholabusus, 12,4 % (23 Patienten) mit Gebrauch intravenöser Drogen, 6,5 % (12 Patienten) mit Diabetes mellitus Typ 1 und 2.

Zum Testzeitpunkt litten 34% (63 Patienten) an einer schweren Begleiterkrankung, 25 % (46 Patienten) speziell an einer akuten Infektionskrankheit (u.a. bakterielle Pneumonie, Sepsis und typische opportunistische Infektionen), 7,6 % (14 Patienten) an einer malignen Begleiterkrankung (1 neuroendokrines Karzinom mit Lungen- und Lebermetastasen, 1 Pankreaskarzinom, 1 Analkarzinom, 4 Non Hodgkin-Lymphome, 1 Hodgkin-Lymphom, 4 Kaposi-Sarkome, 2 Lungenkarzinome, 1 Osteomyelofibrose) und 7 % (13 Patienten) am

Wasting-Syndrom (ungewollte Gewichtsabnahme von mindestens zehn Prozent des ursprünglichen Körpergewichts).

Zusätzlich wurden 7 % (13 Patienten) zum Testzeitpunkt hochdosiert mit Kortikosteroiden therapiert. Von diesen Patienten erhielten 11 (85 %) die Steroidbehandlung in Zusammenhang mit schweren opportunistischen Infektionen (meist adjuvant zur Therapie einer PJP) oder bei IRIS und 12 der 13 Patienten (92 %) befanden sich im Stadium AIDS mit CD4-Zellen < 200/ μ l.

4.1.3 Stadium der HIV-Infektion

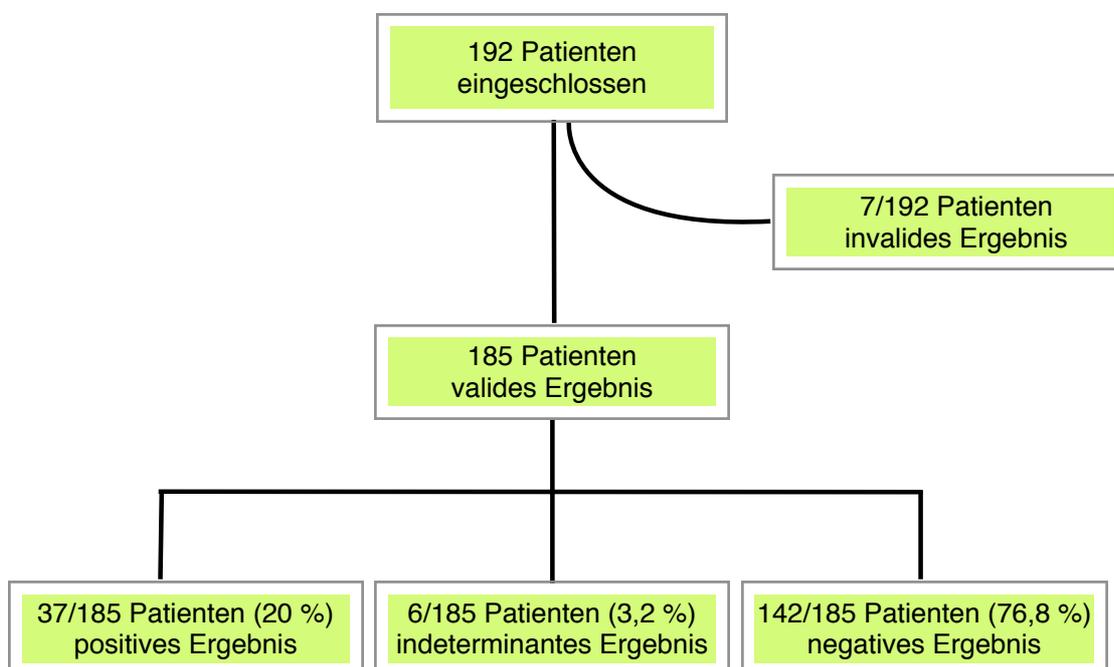
Im gesamten Studienkollektiv betrug der Median der CD4-Zellen 275/ μ l und der Median der Viruslast 363 RNA-Kopien/ml. Zum Zeitpunkt der Untersuchung litten 20,5 % (38 Patienten) an einer AIDS-definierenden Erkrankung, 18,9 % (35 Patienten) hatten weniger als 100 CD4-Zellen/ μ l und insgesamt 78,4 % (145 Patienten) befanden sich im Stadium AIDS, definiert nach den Kriterien der Centers for Disease Control.⁶⁷ Somit spiegelt das Patientenkollektiv eine schwer immunsupprimierte Gruppe von HIV-Patienten wider.

4.2. Valide und determinante Ergebnisse

Von ursprünglich 192 in die Studie eingeschlossenen Patienten hatten sieben (3,6 %) invalide Ergebnisse und wurden aus der statistischen Berechnung ausgeschlossen.

Von den verbleibenden 185 Patienten mit validen Ergebnissen waren 37/185 (20 %) T-SPOT positiv, 142/185 (76,8 %) negativ und 6/185 (3,2 %) indeterminant. Für einige Berechnungen wurden die indeterminanten Ergebnisse ausgeschlossen, hierauf wird in den einzelnen Abschnitten jeweils verwiesen. Abbildung 1 zeigt eine Übersicht über die Ergebnisse.

Abbildung 1: Übersicht über die validen und determinanten T-SPOT Ergebnisse



4.2.1. Positive T-SPOT Ergebnisse

Betrachtet man die validen und determinanten Ergebnisse, ergibt sich eine mit dem T-SPOT ermittelte Prävalenz der LTB von 20,7 % (37/179 Patienten).

4.2.2. Prädiktoren eines positiven T-SPOT-Ergebnisses

Die Patientengruppen mit einem positiven oder negativen Ergebnis wurden bezüglich des Medians der HI-Viruslast, des Medians der CD4-Zellzahl, der Zuordnung in das Krankheitsstadium AIDS, dem Vorhandensein immunkompromittierender Faktoren sowie der Herkunft aus einem Hoch- oder Niedrigprävalenzland für TB untersucht.

Hier zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen einem positiven T-SPOT-Ergebnis und einem der geprüften Faktoren (siehe Tabelle 2). Allerdings war der Anteil der positiven Ergebnisse bei Patienten aus TB-Hochprävalenzländern deutlich höher (siehe Abbildung 2).

Abbildung 2: Positiver T-SPOT und Herkunftsland

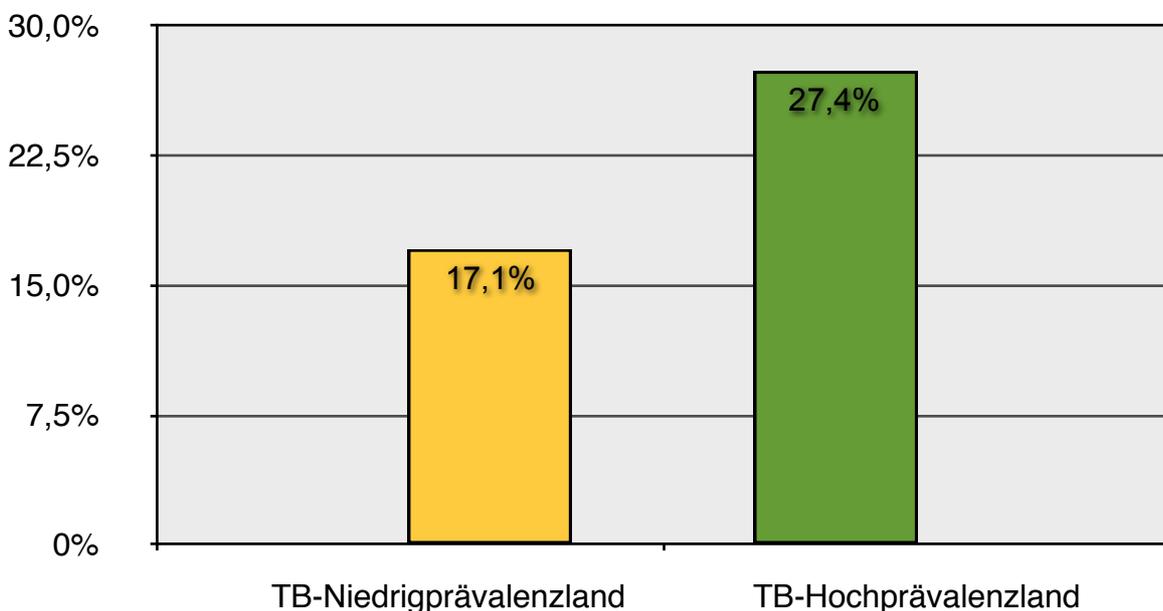


Tabelle 2: Prädiktoren eines positiven T-SPOT-Ergebnisses

(n = 179, ohne indeterminate Ergebnisse)

	T-SPOT negativ (n = 142)	T-SPOT positiv (n = 37)	OR (95 % Konfidenz- intervall)	p-Wert
Alter; Jahre: Mittelwert (Interquartilsbereich IQR)	43 (34-49)	42 (35-49)		p = 0,604 ²
Geschlecht männlich (%)	101 (71,1)	25 (67,6)	0,846 (0,388-1,841)	p = 0,689 ¹
Herkunft aus TB-Hochprävalenzland (%)	45 (31,7)	17 (45,9)	1,832 (0,877-3,828)	p = 0,122 ¹
Immunkompromittierende Faktoren				
Diabetes mellitus (%)	10 (7)	2 (5,4)	0,737 (0,154-3,520)	p = 1,0 ¹
Alkoholabusus (%)	8 (5,6)	3 (8,1)	1,423 (0,358-5,653)	p = 0,703 ¹
Intravenöser Drogenabusus (%)	16 (11,3)	5 (13,5)	1,182 (0,402-3,470)	p = 0,778 ¹
Steroid-Therapie (%)	11 (7,7)	1 (2,7)	0,331 (0,041-2,648)	p = 0,464 ¹
Maligne Erkrankung (%)	14 (7,6)	0		p = 0,10 ¹
HIV-Wastingsyndrom (%)	7 (4,9)	3 (8,1)	1,702 (0,418-6,927)	p = 0,433 ¹
HIV-Infektion				
HI-Viruslast Median (IQR)	295 (0-21700)	3020 (0-84600)		p = 0,180 ²
HI-Viruslast ≤ 50 RNA-Kopien/ml (%)	49 (34,5)	12 (32,4)		p = 0,179 ³
HI-Viruslast 51-49999 RNA-Kopien/ml (%)	56 (39,4)	12 (32,4)		
HI-Viruslast ≥ 50000 RNA-Kopien/ml (%)	22 (15,5)	11 (29,7)		
aktuell AIDS-definierende Erkrankung (%)	28 (19,7)	4 (10,8)	0,494 (0,162-1,508)	p = 0,239 ¹
Stadium AIDS (%)	113 (79,6)	26 (70,3)	0,607 (0,269-1,370)	p = 0,268 ¹
CD4-Zellzahl				
CD4-Zellzahl Median (IQR)	279 (148-456)	345 (146-531)		p = 0,491 ²
CD4-Zellzahl 0-99 (%)	24 (16,9)	6 (16,2)		p = 0,468 ³
CD4-Zellzahl 100-199 (%)	27 (19)	4 (10,8)		
CD4-Zellzahl 200-349 (%)	40 (28,2)	9 (24,3)		
CD4-Zellzahl ≥ 350 (%)	51 (35,9)	18 (48,6)		

¹ - berechnet mit Fisher-Exact-Test

² - berechnet mit Mann-Whitney-U-Wilcoxon-Test

³ - berechnet mit Chi-Quadrat-Test

* signifikantes Ergebnis p ≤ 0,05

4.3. Indeterminante Ergebnisse

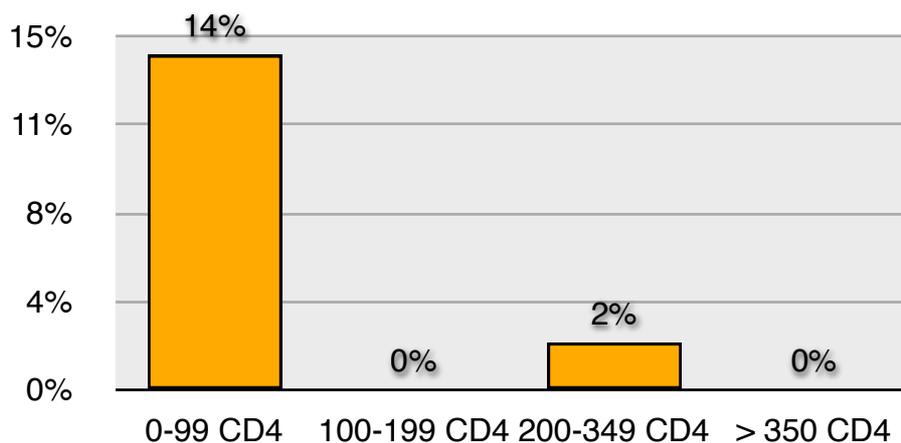
Wie oben beschrieben wurden Ergebnisse als indeterminant bezeichnet, wenn die Anzahl der Spots in der PHA-Positivkontrolle < 20 betrug und es kein positives Ergebnis in einem der Antigen-Felder gab. Von allen 185 Patienten mit validen Ergebnissen betrug der Anteil indeterminanter Ergebnisse 3,2 % (6/185).

Der CD4-Median der indeterminanten Ergebnisse unterschied sich signifikant vom CD4-Median der determinanten Ergebnisse (54/ μ l gegenüber 286/ μ l, $p = 0,003$).

Zusätzlich konnte auch ein signifikanter Zusammenhang ($p = 0,001$) zwischen den unterschiedlichen CD4-Zellzahl-Gruppen und einem indeterminanten Ergebnis gezeigt werden (siehe Tabelle 3). Indeterminante Ergebnisse traten häufiger bei Patienten mit wenig CD4-Zellen auf: fünf der sechs Patienten mit indeterminanten Ergebnissen hatten weniger als 100 CD4-Zellen/ μ l (Spanne 7-77 CD4-Zellen/ μ l). Für Patienten mit unter 100 CD4-Zellen/ μ l beträgt die OR für ein indeterminantes Ergebnis somit 25.

Alternative Darstellung: von den Patienten mit weniger als 100 CD4-Zellen/ μ l hatten 14,3 % (5/35 Patienten) indeterminante Ergebnisse, während die Rate bei Patienten mit höheren CD4-Zellzahlen erheblich niedriger lag (siehe Abbildung 3): 100-199 CD4-Zellen/ μ l – 0/31 Patienten (0 %), 200-349 CD4-Zellen/ μ l – 1/50 Patienten (2 %) und > 350 CD4-Zellen/ μ l – 0/69 Patienten (0 %).

Abbildung 3: Prozentualer Anteil indeterminanter Ergebnisse nach CD4-Zellen



In der Patientengruppe mit indeterminanten Ergebnissen bestand im Vergleich zu den Patientengruppen mit positivem oder negativem Ergebnis eine höhere HI-Viruslast: der Median der Viruslast beträgt 394,5 Kopien/ml bei determinanten und 50250 Kopien/ml bei den indeterminanten Ergebnissen.

Alle Patienten mit indeterminantem Ergebnis hatten eine HIV-Infektion im Stadium AIDS, verglichen mit 77,7 % der Patienten mit determinantem Ergebnis. Bei drei der sechs Patienten (50 %) gegenüber 10 von 179 Patienten mit determinantem Ergebnis (5,6 %) lag ein HIV-Wastingsyndrom vor. Hier zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorliegen eines Wastingsyndroms und einem indeterminanten Ergebnis (OR 16,9, KI 3,018-94,641, $p = 0,005$). Vier der sechs Patienten mit einem indeterminanten Ergebnis waren zum Testzeitpunkt an einer schweren Infektion erkrankt (Patient 1: PJP; Patient 2: PML und Candida-Ösophagitis; Patient 3: *Staphylococcus aureus* Spondylodiszitis; Patient 4: bakterielle Pneumonie).

Die Gruppe der schwer Immunsupprimierten (CD4-Zellen $< 100/\mu\text{l}$) mit indeterminanten Ergebnissen wurde noch einmal detailliert analysiert. In Bezug auf das Vorliegen einer schweren Infektion ergab sich kein erhöhtes Risiko für indeterminate Ergebnisse: 22 von 30 Patienten (73 %) mit determinanten Ergebnissen gegenüber 4 von 5 Patienten (80 %) mit indeterminanten Ergebnissen hatten eine schwere Infektion zum Testzeitpunkt.

Eine systemische Steroidtherapie führte bei den Patienten mit CD4-Zellen $< 100/\mu\text{l}$ ebenfalls zu keiner weiteren Häufung indeterminanter Ergebnisse.

Im Gegensatz dazu scheint sich das HIV-Wastingsyndrom auch bei weniger als 100 CD4-Zellen/ μl als Risikofaktor für indeterminate Ergebnisse zu bestätigen: 9 von 30 Patienten (30 %) mit determinanten Ergebnissen gegenüber 3 von 5 Patienten (60 %) mit indeterminanten Ergebnissen hatten ein Wastingsyndrom. Von 12 Wasting-Patienten mit CD4-Zellen $< 100/\mu\text{l}$ hatten 3 Patienten (25 %) indeterminate Ergebnisse, wohingegen von 23 Non-Wasting-Patienten nur 2 Patienten (9 %) indeterminant reagierten.

Tabelle 3 stellt die untersuchten Prädiktoren für ein indeterminantes Ergebnis im Einzelnen dar.

Tabelle 3: Prädiktoren eines indeterminanten T-SPOT-Ergebnisses (n = 185)

	T-SPOT positiv oder negativ (n = 179)	T-SPOT indeterminant (n = 6)	OR (95% Konfidenzintervall)	p-Wert
Alter; Jahre: Mittelwert (Interquartilsbereich IQR)	43 (35-49)	38,3 (36-41)		p = 0,251 ²
Geschlecht männlich (%)	126 (70,4)	3 (50)	0,421 (0,082-2,152)	p = 0,369 ¹
Herkunft TB-Hochprävalenzland (%)	62 (34,6)	2 (33,3)	0,944 (0,168-5,296)	p = 1,0 ¹
Immunkompromittierende Faktoren				
Diabetes mellitus (%)	12 (6,7)	0		p = 1,0 ¹
Alkoholabusus (%)	11 (6,1)	0		p = 1,0 ¹
Intravenöser Drogenabusus (%)	21 (11,7)	2 (33,3)	3,643 (0,628-21,123)	p = 0,17 ¹
Steroid-Therapie (%)	12 (6,7)	1 (16,7)	2,783 (0,301-25,769)	p = 0,358 ¹
Maligne Erkrankung (%)	14 (7,8)	0		p = 1,0 ¹
HIV-Wastingsyndrom (%)	10 (5,6)	3 (50)	16,9 (3,018-94,641)	p = 0,005* ¹
HIV-Infektion				
HI-Viruslast ≤ 50 RNA-Kopien/ml (%)	61 (34,1)	2 (33,3)		p = 0,192 ³
Hi-Viruslast 51-49999 RNA-Kopien/ml (%)	68 (38)	1 (16,7)		
HI-Viruslast ≥ 50000 RNA-Kopien/ml (%)	33 (18,4)	3 (50)		
HI-Viruslast Median (IQR)	394,5 (0-29500)	50250 (124,8-205000)		p = 0,345 ²
aktuell AIDS-definierende Erkrankung (%)	35 (19,6)	3 (50,0)	4,594 (0,886-23,808)	p = 0,083 ¹
Stadium AIDS (%)	139 (77,7)	6 (100)		p = 0,343 ¹
CD4-Zellzahl				
CD4-Zellzahl Median (IQR)	286 (146,5-472,5)	54 (43-72)		p = 0,003* ²
CD4-Zellzahl 0-99 (%)	30 (16,8)	5 (83,3)		p = 0,001* ³
CD4-Zellzahl 100-199 (%)	31 (17,3)	0		
CD4-Zellzahl 200-349 (%)	49 (27,4)	1 (16,7)		
CD4-Zellzahl ≥ 350 (%)	69 (38,5)	0		

¹ - berechnet mit Fisher-Exact-Test

² - berechnet mit Mann-Whitney-U-Wilcoxon-Test

³ - berechnet mit Chi-Quadrat-Test

* signifikantes Ergebnis p ≤ 0,05

4.4. Schwer immunsupprimierte Patienten

Als „schwer immunsupprimiert“ werden Patienten mit weniger als 100 CD4-Zellen/ μ l bezeichnet, da bei dieser Grenze die Anzahl opportunistischer Infektionen deutlich zu- und der Allgemeinzustand der Patienten markant abnimmt. 35 von 185 Patienten (18,9 %) erfüllten dieses Kriterium.

Da hierdurch die immunologische Situation der Patienten erheblich beeinflusst ist und in dieser Studie auf diese Patientengruppe ein besonderes Augenmerk gelegt wird sind in Tabelle 4 die Charakteristika und Testergebnisse dieser Patientengruppe im Vergleich zu allen anderen Patienten aufgeführt. Anhand der allgemeinen Parameter wird deutlich, dass es sich hier mit leicht höherem Anteil um männliche Patienten handelt, die nicht aus TB-Hochendemiegebieten stammen. Von den allgemein erfassten medizinischen Daten wie dem Anteil Diabetiker oder Patienten mit Alkoholabusus besteht kein Unterschied zum gesamten Patientenkollektiv. Nachvollziehbar sind die Parameter, welche die immunologische Situation beschreiben, wesentlich deutlicher ausgeprägt. So war die HI-Viruslast signifikant höher (Median von 7200 Kopien/ml gegenüber 220 Kopien/ml) und der Anteil von Patienten mit supprimierter Viruslast entsprechend niedriger: eine unterdrückte Viruslast war nur bei 5 Patienten (14,3 %) gegenüber 58 Patienten (38,7 %) der restlichen Patienten erreicht. Der Median der CD4-Zellen lag bei 44 Zellen/ μ l. Es erhielten 8 Patienten aus dieser Gruppe (22,9 %) eine systemische Steroidtherapie, meist im Rahmen einer PJP oder eines IRIS, bei den weniger stark immunsupprimierten Patienten war dies nur bei 5 Patienten (3,3 %) der Fall. 33 der 35 Patienten (94,3 %) befanden sich im Stadium AIDS.

Der Anteil der schweren Begleiterkrankungen ist sehr hoch und wird in Tabelle 5 im Detail deutlich: 23 der 35 Patienten (65 %) mit weniger als 100 CD4-Zellen/ μ l litten zum Untersuchungszeitpunkt an einer aktiven AIDS-definierenden Erkrankung, 26 Patienten (74 %) an einer vital bedrohlichen Infektion, 9 Patienten (26 %) hatten speziell eine PJP, 4 Patienten (11 %) eine maligne Begleiterkrankung und bei 12 Patienten (34 %) lag ein HIV-Wasting-Syndrom vor. Lediglich vier Patienten (11 %) aus der Gruppe mit weniger als 100 CD4-Zellen/ μ l hatten zum Zeitpunkt der Untersuchung keine schwere opportunistische Infektion und keine maligne Begleiterkrankung.

Tabelle 4: Charakteristika und Testergebnisse der schwer immunsupprimierten Patienten (mit < 100 CD4-Zellen/μl)

	Patienten mit ≥ 100 CD4- Zellen/μl (n = 150)	Patienten mit < 100 CD4- Zellen/μl (n = 35)	OR (95% Konfidenz- intervall)	p-Wert
Alter; Jahre: Mittelwert (Interquartilsbereich IQR)	42,9 (35-49)	41,1 (33-49)		p = 0,374 ²
Geschlecht männlich (%)	101 (67,3)	28 (80)	1,941 (0,792-4,753)	p = 0,158 ¹
Herkunft TB-Hochprävalenzland (%)	56 (37,3)	8 (22,9)	0,497 (0,211-1,170)	p = 0,118 ¹
Immunkompromittierende Faktoren				
Diabetes mellitus (%)	10 (6,7)	2 (5,7)	0,863 (0,18-4,13)	p = 1,0 ¹
Alkoholabusus (%)	9 (6,0)	2 (5,7)	0,989 (0,204-4,807)	p = 1,0 ¹
Intravenöser Drogenabusus (%)	18 (12,0)	5 (14,3)	1,28 (0,438-3,738)	p = 0,773 ¹
Steroid-Therapie (%)	5 (3,3)	8 (22,9)	8,593 (2,613-28,258)	p < 0,001* ¹
Maligne Erkrankung (%)	10 (6,7)	4 (11,4)	1,806 (0,532-6,138)	p = 0,307 ¹
HIV-Wastingsyndrom (%)	1 (0,7)	12 (34,3)	77,739 (9,647-626,453)	p < 0,001* ¹
HIV-Infektion				
HI-Viruslast ≤ 50 RNA-Kopien/ml (%)	58 (38,7)	5 (14,3)	0,276 (0,1-0,763)	p = 0,12 ¹
HI-Viruslast Median (IQR)	219,5 (<50-23825)	7200 (246-123250)		p = 0,003* ²
aktuell AIDS-definierende Erkrankung (%)	13 (8,7)	21 (60)	15,808 (6,533-38,250)	p < 0,001* ¹
Stadium AIDS (%)	112 (74,7)	33 (94,3)	5,598 (1,282-24,444)	p = 0,11 ¹
CD4-Zellzahl				
CD4-Zellzahl Median (IQR)	325,5 (230,3-503,5)	44 (12,5-60,5)		p < 0,001* ²
Test-Ergebnis				
T-SPOT positiv (%) bei n = 179 ohne indeterminante Ergebnisse	n = 149 31 (20,8)	n = 30 6 (20,0)	0,952 (0,358-2,531)	p = 1,0 ¹
T-SPOT indeterminant (%)	1 (0,7)	5 (14,3)	24,833 (2,8-220,247)	p = 0,001* ¹
THT positiv (%) bei n = 119 mit THT Ergebnis	n = 119 13 (10,9)	n = 13 0	1,140 (1,061-1,224)	p = 0,356 ¹

¹ - berechnet mit Fisher-Exact-Test

² - berechnet mit Mann-Whitney-U-Wilcoxon-Test

³ - berechnet mit Chi-Quadrat-Test

* signifikantes Ergebnis p ≤ 0,05

Tabelle 5: Relevante Begleiterkrankungen der schwer immunsupprimierten HIV-Patienten mit weniger als 100 CD4-Zellen/ μ l

Patienten-ID	weitere schwere Erkrankungen zum Testzeitpunkt
2	keine
18	Bakterielle Pneumonie, HIV-Wastingsyndrom
38	keine
64	PJP, Steroid-Therapie, Candida albicans-Ösophagitis, CMV-Colitis
106	Bakterielle Pneumonie
112	Progressive multifokale Leukenzephalopathie, HIV-Wastingsyndrom, Candida albicans-Ösophagitis
130	ZNS-Toxoplasmose, HIV-Wastingsyndrom
165	Varizella zoster-Infektion (Trigeminus) mit bakterieller Superinfektion
168	Exazerbierte COPD
171	CMV-Adrenalitis, HIV-Wastingsyndrom, Candida albicans-Ösophagitis, aktive Syphilis Stadium II
187	ZNS-Toxoplasmose, HIV-Wastingsyndrom, Candida albicans-Ösophagitis, Clostridium difficile-assoziierte Diarrhoe
189	Candida albicans-Ösophagitis
198	Plattenepithelkarzinom der Lunge (Stadium IIIA)
202	Mycobacterium avium intracellulare (MAI)-Lymphadenitis
208	Salmonella typhimurium Sepsis,
210	<i>Staphylococcus aureus</i> Spondylodiszitis (LWK 4/5) mit paravertebralem Abszess
211	PJP, Steroid-Therapie, HIV-Wastingsyndrom, Candida albicans-Ösophagitis
226	Kutanes und intestinales Kaposi-Sarkom, Chemotherapie
261	PJP, Steroid-Therapie, HIV-Wastingsyndrom, Listerien-Meningitis und -Sepsis, disseminierte MAI-Infektion, aktive HCV-Infektion, Candida albicans-Ösophagitis
317	Viszerale Leishmaniose
319	PJP, Steroid-Therapie, HIV-Wastingsyndrom
329	Disseminierte Kryptokokkose, Neutropenie
340	CMV-Pneumonie, Klebsiellen-Pneumonie, B-Zell-Lymphom des ZNS
341	PJP, Steroid-Therapie, HIV-Wastingsyndrom
344	Disseminierte Histoplasmose, IRIS, HIV-Wastingsyndrom, Candida albicans-Ösophagitis, Clostridium difficile-assoziierte Diarrhoe, CMV-Retinitis
347	HIV-Kolitis, Akutes Nierenversagen, Pseudomonas-Pneumonie
356	Kryptokokkenmeningitis und -sepsis, HIV-Wastingsyndrom, Candida albicans-Ösophagitis
358	PJP, Steroid-Therapie
378	PJP, Steroid-Therapie
380	Analkarzinom
397	keine
410	keine
430	PJP, Steroid-Therapie, ZNS-Toxoplasmose
447	Akute Hepatitis C
559	PJP, Steroid-Therapie, HIV-Wastingsyndrom

Betrachtet man die Testergebnisse des T-SPOT in der Gruppe schwer immunsupprimierter HIV-Patienten ist der Anteil positiver Ergebnisse dennoch fast genau gleich hoch (6 von 31 Patienten (20,0 %) gegenüber 31 von 149 Patienten (20,8 %)). Ein signifikanter Unterschied besteht in der Anzahl indeterminanter T-SPOT-Ergebnisse mit 5 von 31 Patienten (14,3 %) gegenüber nur einem von 150 Patienten (0,7 %), $p = 0,001$, wie auch im Kapitel 3.3 beschrieben. Bei den Ergebnissen des THT ist der Anteil positiver Ergebnisse bei den schwer immunsupprimierten Patienten deutlich geringer, erreicht aber keinen signifikanten Unterschied. Keiner der Patienten mit weniger als 100 CD4-Zellen/ μl reagierte im THT positiv, während 13 Patienten (10,9 %) mit ≥ 100 CD4-Zellen/ μl ein positives THT-Ergebnis erhielten (siehe hierzu auch Kapitel 3.6).

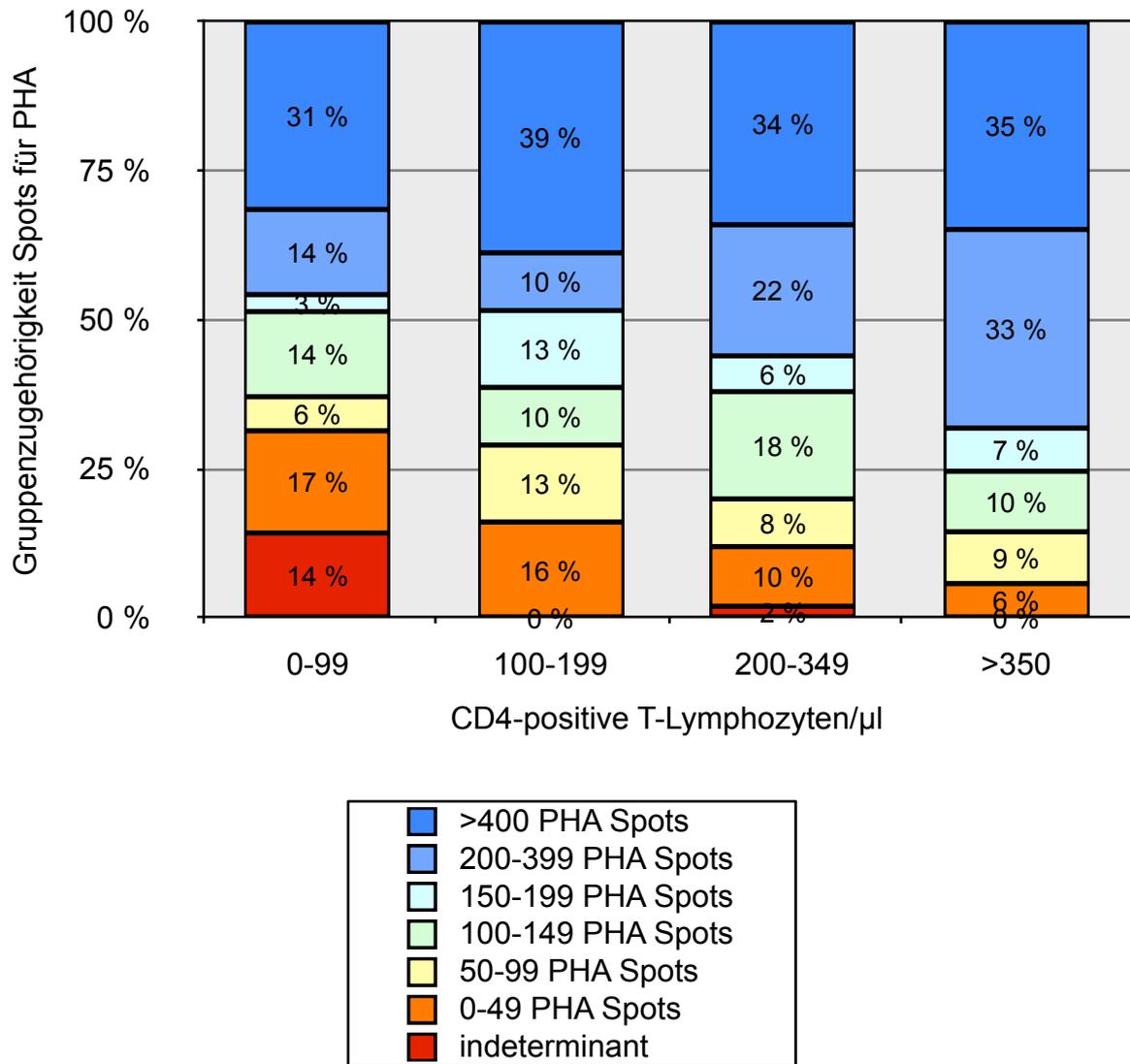
4.5. Produktion von Interferon-gamma

4.5.1. Positivkontrolle mit Phytohaemagglutinin

Abbildung 4 gliedert die Spot-Anzahl für die Positivkontrolle mit Phytohaemagglutinin (PHA) in verschiedene Gruppe und stellt deren Abhängigkeit von der CD4-Zellzahl dar. Die Korrelation zwischen der Anzahl der CD4-Zellen und der Anzahl der Spots in der Positivkontrolle wurde mit dem Spearman-Koeffizienten und dem Kruskal-Wallis-Test berechnet und zeigte hier keine statistische Signifikanz (Spearman rho 0,076, $p = 0,155$; Kruskal-Wallis $p = 0,269$).

Der Anteil der Patienten, die auf PHA eine schwache oder indeterminate Interferon-gamma-Produktion zeigten, war höher bei Patienten mit wenigen CD4-Zellen und sank mit zunehmend besserem Immunstatus. So waren bei Patienten mit < 100 CD4-Zellen/ μl 31,4 % der Positivkontrollen indeterminant oder zeigten weniger als 50 Spots, während bei Patienten mit > 100 CD4-Zellen/ μl nur 10 % der Patienten eine gering ausgeprägte Positivkontrolle hatten. Im Gegensatz dazu betrug der Anteil Patienten mit > 200 PHA-Spots nur 45 % in der Gruppe mit < 100 CD4-Zellen/ μl und steigt auf 68 % in der Gruppe mit > 350 CD4-Zellen/ μl an.

Abbildung 4: Spotanzahl für PHA und CD4-positive T-Lymphozyten



Die Abhängigkeit der PHA-Spot-Anzahl von der CD4-Zellzahl wird auch durch den linearen Anstieg des Medians der Interferon-Gamma-Produktion verdeutlicht: bei < 100 CD4-Zellen/ μ l liegt er bei 122 Spots/Well, bei 100-199 CD4-Zellen/ μ l bei 193 Spots/Well, bei 200-349 CD4/ μ l bei 247 Spots/Well und bei > 350 CD4/ μ l bei 267 Spots/Well.

Bei Spots, deren hohe Anzahl visuell oder mittels Reader nicht mehr ausgezählt werden konnte, wurde die Anzahl als „gesättigt“ angegeben. Der Anteil an gesättigten Positivkontrollen war zwar bei Patienten mit weniger als 100 CD4-Zellen / μ l geringer, als bei den übrigen Patienten, in den unterschiedlichen CD4-Gruppen > 100 Zellen/ μ l war er jedoch ähnlich hoch: 28,6 % bei 0-99 CD4-Zellen, 35,5 % bei 100-199 CD4-Zellen, 32 % bei 200-349 CD4-Zellen und 34,8 % bei gleich oder mehr als 350 CD4-Zellen/ μ l.

Werden nur Patienten mit < 100 CD4-Zellen/ μ l betrachtet, scheinen Wasting und schwere Koinfektionen die Rate an PHA-Spots negativ zu beeinflussen. In der Wasting-Gruppe

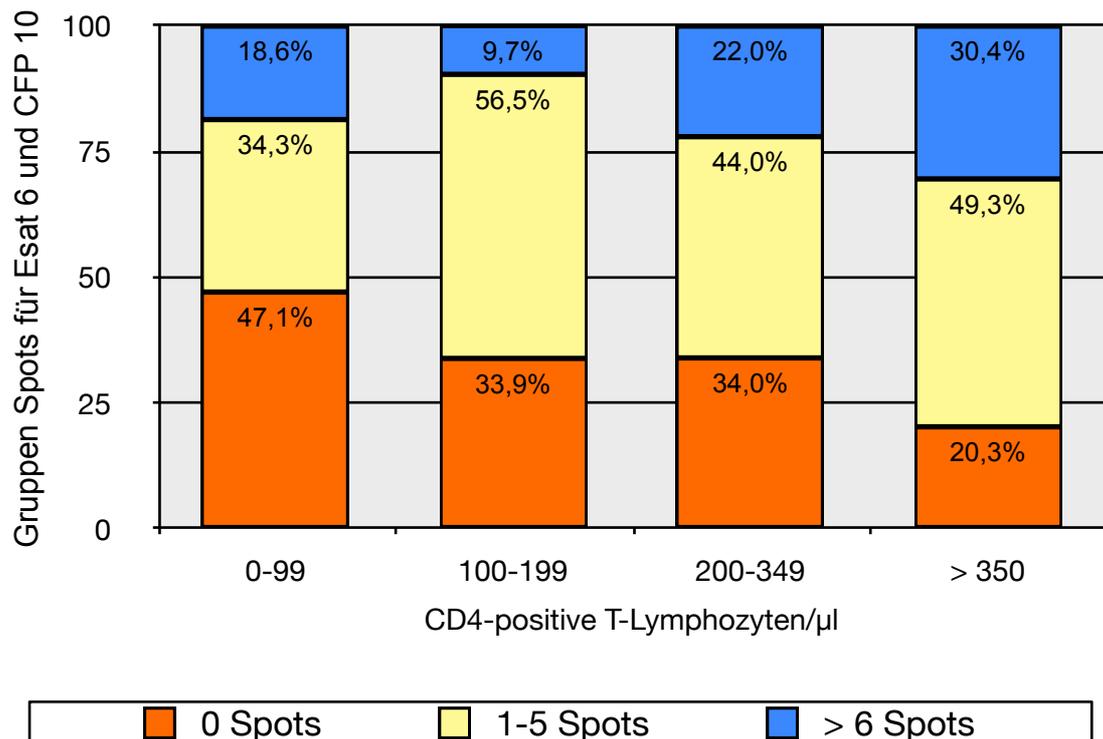
hatten 42 % der Patienten (5 von 12) gegenüber in der Non-Wasting-Gruppe nur 30 % der Patienten (7 von 23) < 50 PHA-Spots/Well. Der PHA-Spot-Median lag in der Wasting-Gruppe bei 103 und in der Non-Wasting-Gruppe bei 159/Well. In der Gruppe mit schweren Koinfektionen hatten 35 % der Patienten (9 von 20) gegenüber in der Gruppe ohne Koinfektionen nur 22 % der Patienten (2 von 9) < 50 PHA-Spots/Well. Der PHA-Spot-Median lag in der Gruppe mit Koinfektionen bei 104 und in der Gruppe ohne Koinfektionen bei 333/Well.

Umgekehrt hatten in der Wasting-Gruppe nur 33 % der Patienten (4 von 12) gegenüber in der Non-Wasting-Gruppe 48 % der Patienten (11 von 23) > 200 PHA-Spots/Well. In der Gruppe mit schweren Koinfektionen hatten 42 % der Patienten (11 von 26) gegenüber in der Gruppe ohne Koinfektionen 56 % der Patienten (5 von 9) > 200 PHA-Spots/Well. In der Steroidgruppe ließen sich keine wesentlichen Unterschiede feststellen: der PHA-Median betrug bei Patienten mit Steroidtherapie 137 gegenüber 128/Well bei Patienten ohne Steroidtherapie.

4.5.2. ESAT-6 und CFP-10

Im Gegensatz zur Spot-Anzahl nach PHA Stimulation lässt sich in der Spot-Anzahl für die Antigene ESAT-6/ CFP-10 keine eindeutige Abhängigkeit von der CD4-Zellzahl erkennen. In Abbildung 5 wurde die Spot-Anzahl für beide Reagenzien jeweils zusammengefasst.

Abbildung 5: Spotanzahl für ESAT-6 und CFP-10 und CD4-Zellen (n=185 Patienten)



Bei den Antigenen zeigen die Mediane der Spot-Anzahl in den einzelnen CD4-Zellzahl-Gruppen keinen klaren Anstieg in Abhängigkeit von der CD4-Zellzahl: sie betragen zusammengefasst 15 (0-99 CD4-Zellen/ μ l), 6 (100-199 CD4-Zellen/ μ l), 8 (200-349 CD4-Zellen/ μ l) und 10 (> 350 CD4-Zellen/ μ l) Spots/Well.

Es fällt sogar auf, dass der Median der Spot-Anzahl in der Gruppen mit wenig CD4-Zellen größer ist, als in Gruppen mit besserem Immunstatus. Auf der anderen Seite ist der Anteil von Null-Spot-Ergebnissen in der Gruppe mit < 100 CD4-Zellen/ μ l am größten.

4.6. Ergebnisse des Tuberkulin-Hauttests

4.6.1. Positive THT-Ergebnisse

Ein Ergebnis des THT lag für 119 von 192 Patienten (62 %) vor (siehe Tabelle 6). Für vergleichende Betrachtungen zwischen der THT- und der T-SPOT-Gruppe wurden die Patienten mit einem ungültigen oder indeterminanten T-SPOT-Ergebnis entfernt. In diesem Fall verbleiben 112 Patienten (Abbildung 6 bis 8; Tabelle 7). Die Gesamtzahl der Patienten ist jeweils angegeben.

Betrachtet man die Patienten mit Ergebnissen in beiden Tests hatten 13 von 112 Patienten (11,6 %) ein positives THT-Ergebnis. In dieser Gruppe betrug der Anteil positiver T-SPOT-Ergebnisse 23,2 % (26 von 112 Patienten).

4.6.2. Prädiktoren eines positiven THT-Ergebnisses

Analog zu den T-SPOT-Ergebnissen wurde auch beim Hauttest eine Analyse nach Prädiktoren eines positiven Ergebnisses durchgeführt. Tabelle 6 stellt die getesteten Einflussfaktoren dar.

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen einem der geprüften Faktoren und einem positiven THT-Ergebnis bestand nicht. Deutliche Unterschiede ließen sich jedoch für die folgenden Aspekte ablesen: Patienten aus einem TB-Hochprävalenzland haben mehr positive THT-Ergebnisse (OR 2,64; KI 0,81-8,63, $p = 0,177$), Patienten im Stadium AIDS haben weniger positive THT-Ergebnisse (OR 0,32; KI 0,10-1,06, $p = 0,110$) und der Median der CD4-Zellen ist bei den THT-Positiven höher, als bei den THT-Negativen ($p = 0,126$).

Abbildung 6 verdeutlicht die positiven THT- und T-SPOT-Ergebnisse nach Herkunft der Patienten. 8 von 46 Patienten (17,4 %) aus TB-Hochprävalenzländern waren THT-positiv, während in den TB-Niedrigprävalenzländern nur 5 von 66 Patienten (7,6 %) ein positives Ergebnis hatten.

Tabelle 6: Prädiktoren eines positiven THT-Ergebnisses (n = 119)

	THT negativ (n = 106)	THT positiv (n = 13)	OR (95% Konfidenz- intervall)	p-Wert
Alter; Jahre: Mittelwert (Interquartilsbereich IQR)	41 (34-47)	43 (35-45)		p = 0,915 ²
Geschlecht männlich (%)	74 (69,8)	7 (53,8)	0,505 (0,157-1,620)	p = 0,395 ¹
Herkunft aus TB-Hochprävalenzland (%)	40 (37,7)	8 (61,5)	2,64 (0,808-8,629)	p = 0,177 ¹
Immunkompromittierende Faktoren				
Diabetes mellitus (%)	6 (5,7)	1 (7,7)	1,361 (0,151-12,287)	p = 1,0 ¹
Alkoholabusus (%)	8 (7,5)	0		p = 0,645 ¹
Intravenöser Drogenabusus (%)	16 (15,1)	2 (15,4)	1,156 (0,231-5,774)	p = 1,0 ¹
Steroid-Therapie (%)	3 (2,8)	0		p = 1,0 ¹
Maligne Erkrankung (%)	7 (6,6)	1 (7,7)	1,179 (0,133-10,418)	p = 1,0 ¹
HIV-Infektion				
HI-Viruslast Median (IQR)	219,5 (0-37425)	744 (0-18700)		p = 0,925 ²
HI-Viruslast ≤ 50 RNA-Kopien/ml (%)	40 (37,7)	5 (38,5)		p = 0,280 ³
Hi-Viruslast 51-49999 RNA-Kopien/ml (%)	30 (28,3)	7 (53,8)		
HI-Viruslast ≥ 50000 RNA-Kopien/ml (%)	22 (20,8)	1 (7,7)		
aktuell AIDS-definierende Erkrankung (%)	14 (13,2)	0		p = 0,348 ¹
Stadium AIDS (%)	84 (79,2)	6 (46,2)	0,323 (0,099-1,057)	p = 0,110 ¹
CD4-Zellzahl				
CD4-Zellzahl Median (IQR)	296,5 (176-484)	365 (277-786)		p = 0,126 ²
CD4-Zellzahl 0-99 (%)	13 (12,3)	0		p = 0,536 ³
CD4-Zellzahl 100-199 (%)	20 (18,9)	2 (15,4)		
CD4-Zellzahl 200-349 (%)	30 (28,3)	4 (30,8)		
CD4-Zellzahl ≥ 350 (%)	43 (40,6)	7 (53,8)		

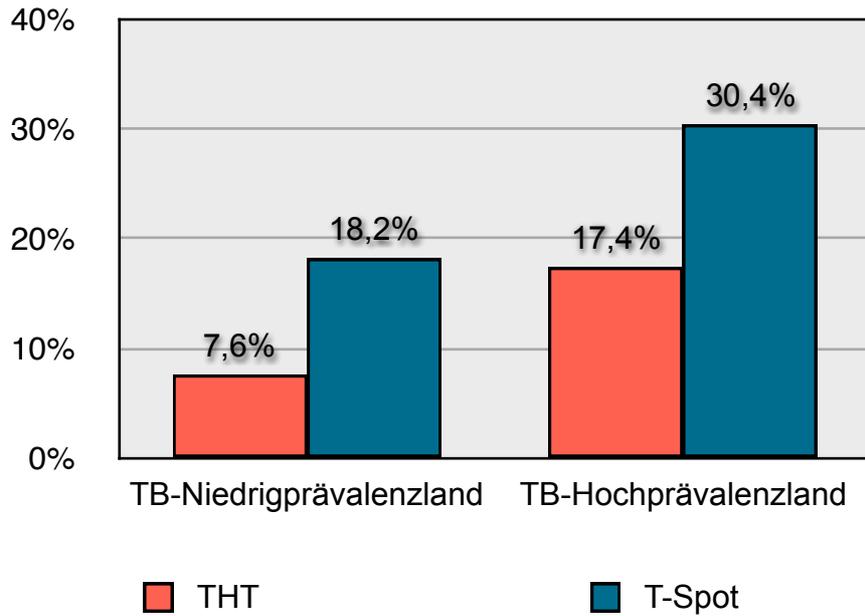
¹ - berechnet mit Fisher-Exact-Test

² - berechnet mit Mann-Whitney-U-Wilcoxon-Test

³ - berechnet mit Chi-Quadrat-Test

* signifikantes Ergebnis p ≤ 0,05

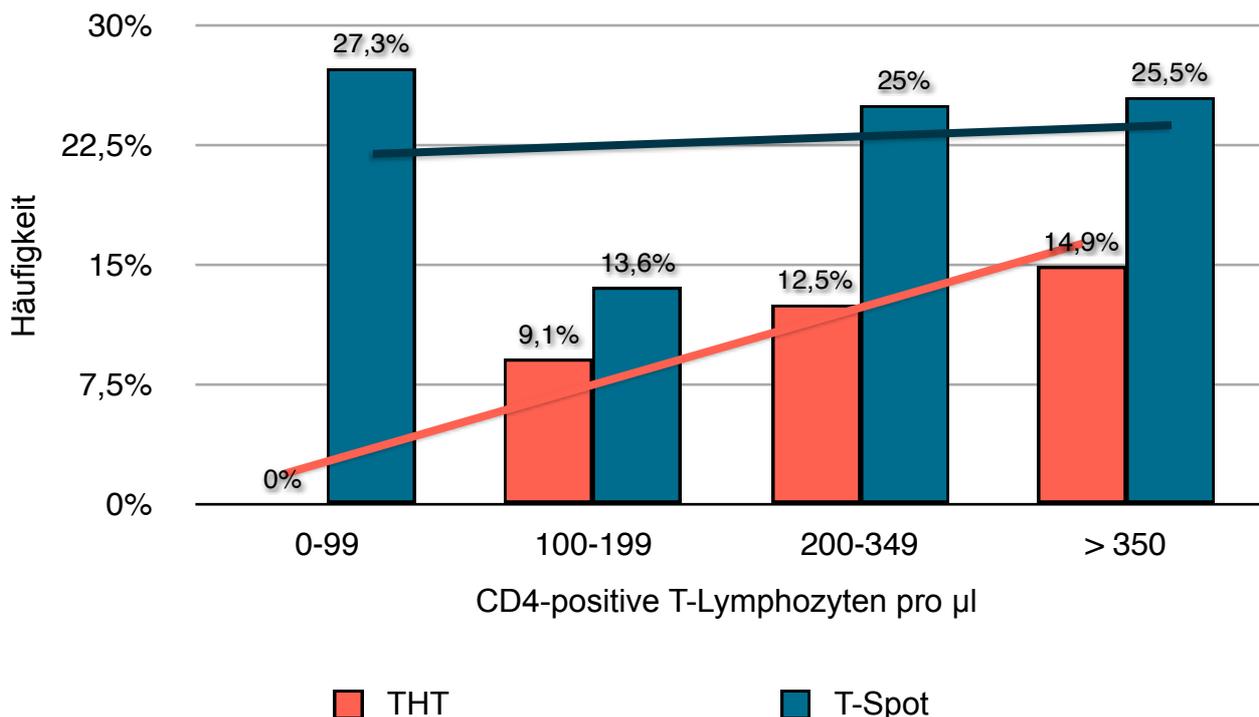
Abbildung 6: TST- und T-SPOT-Ergebnisse und Herkunft (n=112)



Bezüglich der CD4-Zellen lässt sich anhand von Abbildung 7 ablesen, dass in der schwer immunsupprimierten Gruppe mit 0-99 CD4-Zellen/µl kein Patient positiv im THT reagierte und die Anzahl der THT-Positiven in jeder höheren CD4-Gruppe zunimmt (0/11 Patienten, 2/22 Patienten, 4/32 Patienten, 7/47 Patienten).

Vergleichend dazu sieht man bei den T-SPOT-Ergebnissen keine Abhängigkeit zur CD4-Zellzahl, sondern sogar in der Gruppe mit weniger als 100 CD4-Zellen anteilig die meisten positiven Ergebnisse (3/11 Patienten, 3/22 Patienten, 8/32 Patienten, 12/47 Patienten).

Abbildung 7: TST- und T-SPOT-Ergebnisse und CD4-Zellzahl (n=112)



4.7. Konkordanz beider Tests

Von 112 Patienten, bei denen ein THT-Ergebnis vorliegt und der T-SPOT gültig und determinant war, hatten 7 Patienten (6,3 %) in beiden Tests positive Ergebnisse und 80 Patienten (71,4 %) waren in beiden Tests negativ. Hieraus ergibt sich eine allgemeine Konkordanz von 77,7 %, der Kappa-Wert beträgt 0,21 und zeigt nach Altman⁶⁸ eine leichte Übereinstimmung.

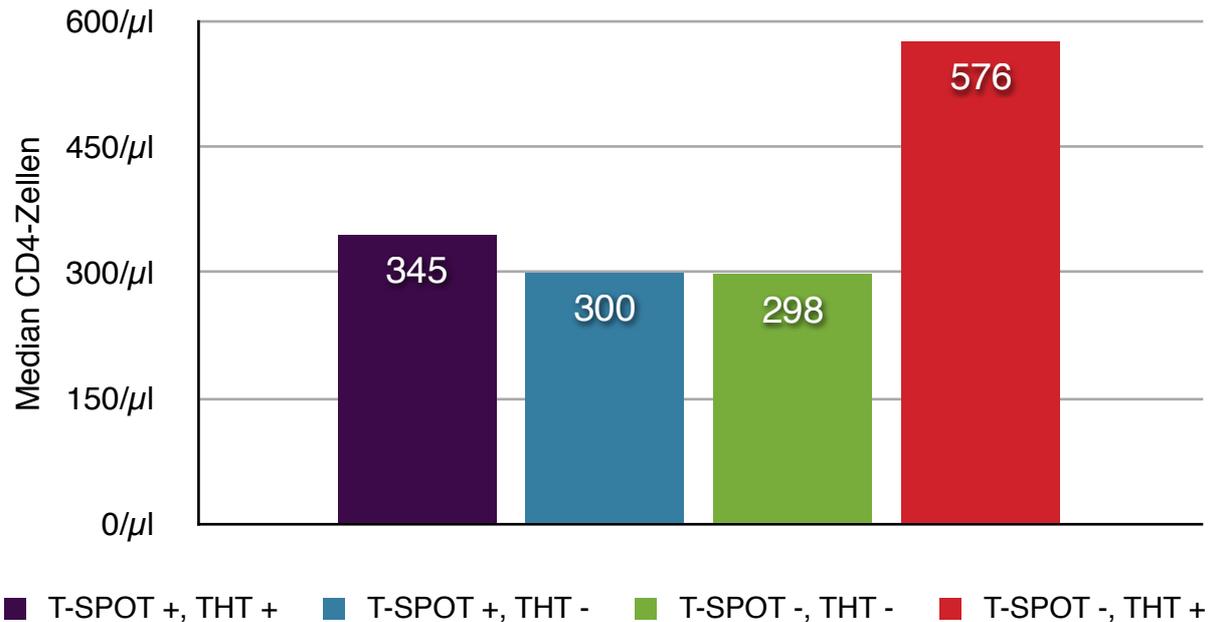
Von den Patienten mit nicht übereinstimmenden Ergebnissen hatten 19 Patienten ein positives T-SPOT- und ein negatives THT-Ergebnis und 6 waren nur im Hauttest positiv. Tabelle 7 stellt die Verteilung der (dis-)konkordanten Ergebnisse dar.

Tabelle 7: Übereinstimmende Testergebnisse im THT und T-SPOT (n = 112)

	T-SPOT positiv	T-SPOT negativ	gesamt
THT positiv	7 (6,3 %)	6 (5,4 %)	13
THT negativ	19 (17 %)	80 (71,4 %)	99
gesamt	26	86	112

In den einzelnen Gruppen bestand bezüglich der CD4-Zellzahl und der HI-Viruslast kein signifikanter Zusammenhang ($p = 0,370$ bzw. $p = 0,561$). Stellt man jedoch die Mediane der CD4-Zellzahlen dar (siehe Abbildung 8) fällt in der Gruppe der T-SPOT negativen, aber THT-positiven Patienten ein deutlich höherer Median auf (576 CD4-Zellen/ μ l gegenüber 345, 300 oder 298 CD4-Zellen/ μ l).

Abbildung 8: Median der CD4-Zellzahl und (dis-)konkordante Ergebnisse (n=112)



4.8. Nachbeobachtung

Im Dezember 2010, knapp sechs Jahre nach Einschluss der ersten Patienten, wurden die klinischen Daten der Studienpatienten aus dem medizinischen Informationssystem der HIV-Tagesklinik noch einmal betrachtet.

Der Median des Nachbeobachtungszeitraums betrug knapp vier Jahre (47 Monate, Spanne von 0-66 Monaten). 132 Patienten (71,4 %) hatten eine Nachbeobachtung von ≥ 12 Monaten und 85 Patienten (45,9 %) hatten eine Nachbeobachtung von ≥ 48 Monaten. Bei 22 von 185 Patienten (11,9 %) lag die Nachbeobachtungszeit unter einem Monat. Dabei handelte es sich u.a. um vier T-SPOT positive Patienten, einen indeterminanten Patienten, zwei THT positive Patienten (beide im T-SPOT negativ) und sechs Patienten mit unter 100 CD4-Zellen/ μ l. Die Nachbeobachtungszeiten der 185 untersuchten Patienten sind in Abbildung 9 dargestellt.

In der Gruppe der Patienten mit einem positiven Ergebnis im T-SPOT oder THT (n = 43) war die Nachbeobachtungszeit vergleichbar mit der Gesamtgruppe (siehe Abbildung 10). Der Median beträgt für diese Patienten 47,6 Monate (Spanne von 0 bis 63,1 Monate).

Abbildung 9: Nachbeobachtungszeit von 185 Patienten mit determinantem T-SPOT-Ergebnis

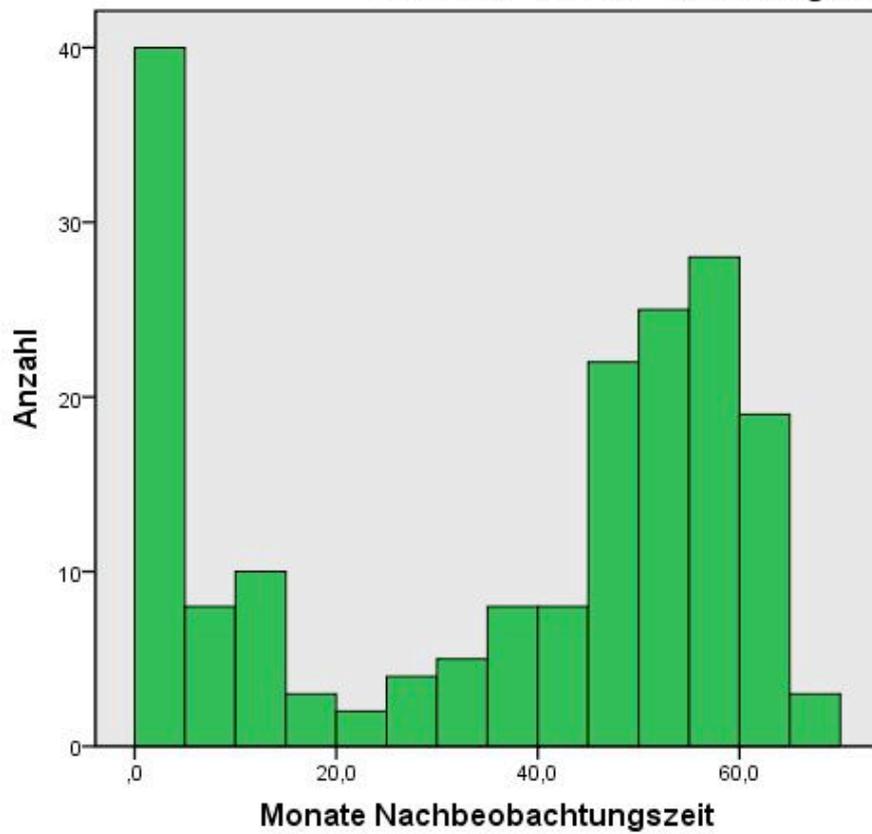
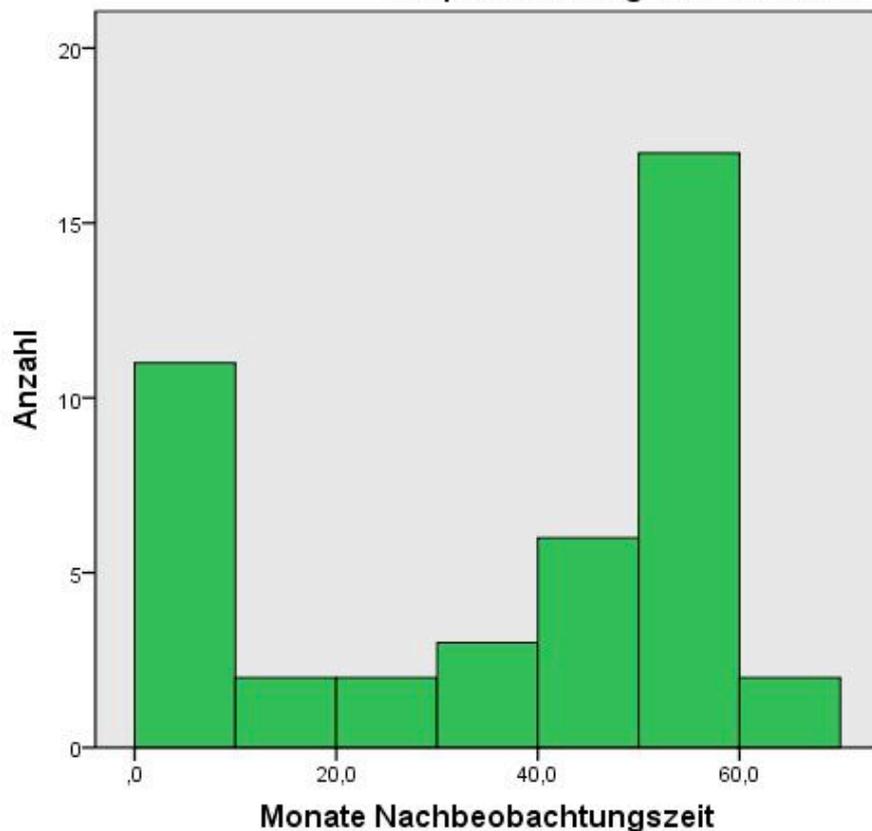


Abbildung 10: Nachbeobachtungszeit von 43 Patienten mit positivem Ergebnis in T-SPOT und/ oder TST



4.8.1. Verlauf von HI-Viruslast und CD4-Zellen in der Nachbeobachtung

Für die Berechnungen wurden nur die 142 Patienten mit einer Nachbeobachtungszeit von mindestens sechs Monaten berücksichtigt (siehe Tabelle 8). Da die Patienten alle unterschiedliche lange Beobachtungszeiträume hatten, wurden die Berechnungen für den Verlauf der Viruslast und CD4-Zellen getrennt nach Länge der Beobachtungszeit analysiert. Es wurden zwei Gruppen je nach Länge des Beobachtungszeitraums gebildet: 6 - 48 Monate (n = 63) und 49 - 66 Monate (n = 79).

In beiden Gruppen war das Absinken der HI-Viruslast deutlich, in der Gruppe mit 49 - 66 Monaten sogar signifikant (Gruppe 6 - 48 Monate: Median von 179 Kopien/ml auf Median 0 Kopien/ml, $p = 0,081$, Gruppe 49 - 66 Monate: Median von 180 Kopien/ml auf Median 0 Kopien/ml, $p < 0,0001$).

Die CD4-Zellzahlen stiegen in beiden Gruppen von einem Median von 293/ μ l auf 390/ μ l in der Gruppe mit 6 - 48 Monaten ($p = 0,003$) und von einem Median von 306/ μ l auf 462/ μ l in der Gruppe mit 49 - 66 Monaten ($p < 0,0001$). Das Patientenkollektiv war zum Testzeitpunkt somit schwerer immunsupprimiert, als bei der Nachbeobachtung.

Die Analyse wurde ebenfalls nach T-SPOT-Ergebnis stratifiziert. Für Patienten mit einer Nachbeobachtung von \geq sechs Monaten und determinanten Ergebnissen, d.h. T-SPOT positive und T-SPOT negative Patienten (n = 138), bestand eine signifikant erhöhte CD4-Zellzahl in der Nachbeobachtung (insgesamt Median von 307/ μ l auf 433/ μ l, $p < 0,0001$, in der Gruppe 6 - 48 Monate Median von 303/ μ l auf 407/ μ l, $p = 0,003$, in der Gruppe 49 - 66 Monate Median von 308/ μ l auf 453/ μ l, $p < 0,0001$).

Bei den indeterminanten Ergebnissen liess sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang berechnen - von den insgesamt sechs indeterminanten Patienten war allerdings auch nur bei vier Patienten eine Nachbeobachtung \geq sechs Monate möglich.

Für T-SPOT-Negative mit Verlaufsmessung der Viruslast \geq sechs Monate (n = 109) war das Absinken der HI-Viruslast über den Nachbeobachtungszeitraum signifikant (insgesamt Abfall des Medians von 139 Kopien/ml auf 0 Kopien/ml; $p = < 0,0001$). In der Gruppe 6 - 48 Monate war der Abfall des Medians von 139 Kopien/ml auf 0 Kopien/ml vergleichbar, verfehlte jedoch eine klare Signifikanz ($p = 0,088$). In der Gruppe 49 - 66 Monate fiel der Median der Viruslast signifikant von 157,5 Kopien/ml auf 1 Kopie/ml ($p < 0,0001$).

Für die T-SPOT-Positiven mit Verlaufsmessung der Viruslast \geq sechs Monate (n = 29) war das Absinken deutlich (Median 476 Kopien/ml auf 0 Kopien/ml), verfehlte jedoch aufgrund der wenigen Patienten in dieser Gruppe eine Signifikanz ($p = 0,092$).

Wie auch bei der CD4-Zellzahl bestand bei den T-SPOT-Indeterminanten keine signifikante Veränderung der HI-Viruslast bei jedoch geringer Fallzahl von $n = 4$ (Median von 50000,5 Kopien auf 417 Kopien/ml, $p = 0,317$).

**Tabelle 8: Viruslast und CD4-Zellen in der Nachbeobachtung
(142 Patienten mit Nachbeobachtung \geq sechs Monate)**

142 Pat. mit Nachbeobachtung	Viruslast Beginn (Median in Kopien/ml)	Viruslast Verlauf (Median in Kopien/ml)	
insgesamt	179,5	0	p < 0,0001*
6 - 48 Monate (n = 63)	179	0	p = 0,081
49 - 66 Monate (n = 79)	180	0	p < 0,0001*
142 Pat. mit Nachbeobachtung	CD4-Zellen Beginn (Median in Zellen/ μ l)	CD4-Zellen Verlauf (Median in Zellen/ μ l)	
insgesamt	304	433	p < 0,0001*
6 - 48 Monate (n = 63)	293	390	p = 0,003*
49 - 66 Monate (n = 79)	306	462	p < 0,0001*
109 Pat. mit negativem T-SPOT-Ergebnis	Viruslast Beginn (Median in Kopien/ml)	Viruslast Verlauf (Median in Kopien/ml)	
insgesamt	139	0	p < 0,0001*
6 - 48 Monate (n = 47)	139	0	p = 0,088
49 - 66 Monate (n = 62)	157,5	1	p < 0,0001*
109 Pat. mit negativem T-SPOT-Ergebnis	CD4-Zellen Beginn (Median in Zellen/ μ l)	CD4-Zellen Verlauf (Median in Zellen/ μ l)	
insgesamt	305	422	p < 0,0001*
6 - 48 Monate (n = 47)	286	407	p = 0,003*
49 - 66 Monate (n = 62)	308	435	p = 0,005*
29 Pat. mit positivem T-SPOT-Ergebnis	Viruslast Beginn (Median in Kopien/ml)	Viruslast Verlauf (Median in Kopien/ml)	
insgesamt	476	0	p = 0,092
6 - 48 Monate (n = 14)	461	74	p = 0,646
49 - 66 Monate (n = 15)	476	1	p = 0,075
29 Pat. mit positivem T-SPOT-Ergebnis	CD4-Zellen Beginn (Median in Zellen/ μ l)	CD4-Zellen Verlauf (Median in Zellen/ μ l)	
insgesamt	353	465	p = 0,016*
6 - 48 Monate (n = 14)	408	370	p = 0,331
49 - 66 Monate (n = 15)	300	520	p = 0,027*
4 Pat. mit indeterminantem T-SPOT-Ergebnis	Viruslast Beginn (Median in Kopien/ml)	Viruslast Verlauf (Median in Kopien/ml)	
	50000,5	417	p = 0,317
	CD4-Zellen Beginn (Median in Zellen/ μ l)	CD4-Zellen Verlauf (Median in Zellen/ μ l)	
	64,5	269	p = 0,465

* signifikantes Ergebnis p \leq 0,05

4.8.2. Auftreten von aktiver Tuberkulose

Keiner der 185 Patienten mit validem Ergebnis entwickelte eine aktive Tuberkuloseerkrankung über den Nachbeobachtungszeitraum. Somit liegt das maximale Erkrankungsrisiko bei der Gesamtkohorte (n = 185) im Nachbeobachtungszeitraum (Median 50 Monate, entspricht 4,2 Jahre) < 0,6 %. Werden nur die Patienten mit einer Nachbeobachtung \geq sechs Monate betrachtet (n = 142) liegt das maximale Erkrankungsrisiko < 0,7 %, bei den davon T-SPOT-Positiven (n = 29) < 3,5 %, bei den THT-Positiven (n = 11) < 9,1 % und bei den THT- bzw. T-SPOT-Positiven (n = 33) < 3,1 %. Acht Patienten erhielten im Beobachtungszeitraum eine Chemoprävention bei Verdacht auf LTB. Schließt man diese acht Patienten von der Nachbeobachtungskohorte aus, ergibt sich für die verbleibenden Patienten (n = 177) ein maximales Erkrankungsrisiko von < 0,6 %, für die über sechs Monate nachbeobachtete Kohorte (n = 136) von < 0,8 %, für die mindestens sechs Monate nachbeobachteten T-SPOT-Positiven (n = 24) von < 4,2 %, für die THT-Positiven (n = 7) von < 14,3 % und für die T-SPOT- bzw. THT-Positiven (n = 27) von < 3,8 %.

4.8.3. Präventive Therapie

Von den 43 Patienten der Gesamtkohorte (n = 185), die entweder im T-SPOT oder im THT positiv reagierten, erhielten nur sieben Patienten (16,3 %) eine präventive Isoniazid-Behandlung. Vier davon hatten einen positiven T-SPOT, fünf einen positiven THT, drei einen positiven T-SPOT und positiven THT, zwei Patienten ausschließlich einen positiven T-SPOT, zwei Patienten ausschließlich einen positiven THT.

Da für zehn Patienten mit positivem T-SPOT oder THT keine Verlaufskontrolle möglich war, ergibt sich eine realistische Chemopräventions-Rate von 21,2 %. Ein weiterer Patient (ID 342) erhielt bei negativem Testergebnis für T-SPOT und THT unter dem klinischen Verdacht einer TB eine antituberkulöse Kombinationstherapie. Retrospektiv lag hier jedoch am ehesten eine Pneumonie mit *Staphylococcus aureus* vor.

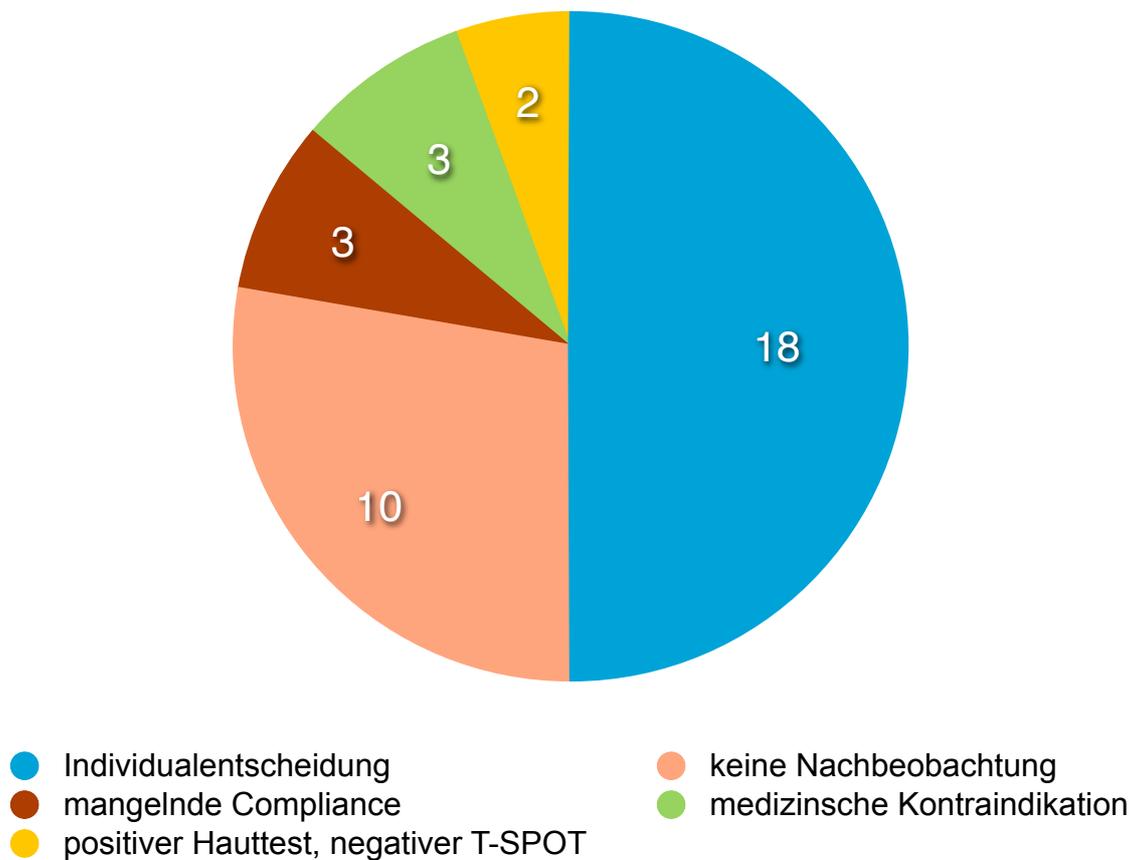
Betrachtet man nur diejenigen Patienten, die im T-SPOT positiv reagierten, erhielten lediglich 5 von 37 Patienten (13,5 %) eine Isoniazid-Prävention. Von den 13 Patienten mit positivem THT erhielten ebenfalls 5 Patienten (38,5 %) Isoniazid.

Warum 36 Patienten mit positivem Ergebnis für einen der beiden Tests keine präventive Therapie erhielten, wurde im Einzelnen recherchiert (siehe Abbildung 11).

Für zehn Patienten liegen keine Nachbeobachtungsdaten vor. Bei drei Patienten wurde die Prävention wegen mangelnder Compliance nicht durchgeführt. Für drei weitere Patienten sprachen medizinische Kontraindikationen, wie eine schwerwiegende Nieren-

insuffizienz oder eine aktive Hepatitis-C-Infektion dagegen. Zwei Patienten hatten zwar einen positiven Hauttest, jedoch einen negativen T-SPOT, welcher als Ausschluss einer LTB und fehlende Indikation zur Prävention gewertet wurde. 18 Patienten haben schließlich trotz positivem Test und ohne wesentliche Kontraindikationen keine präventive Isoniazid-Therapie erhalten. Die Prävention wurde aus dem klinischen Ermessen des behandelnden Arztes heraus nicht verordnet.

Abbildung 11: Ursachen für das Unterlassen der Isoniazid-Prävention



5. Diskussion

Personen mit einer asymptomatischen MTB Infektion (i.S. einer LTB) können im Laufe ihres Lebens zu jedem Zeitpunkt eine symptomatische Postprimärtuberkulose entwickeln. Das Risiko einer solchen Reaktivierung wird durch jede Form der Immunsuppression erhöht und im Falle einer HIV-Infektion steigt das relative TB-Risiko um das 50- bis 100-fache. Aufgrund ihrer höheren Spezifität und Sensitivität können IGRAs Patienten mit einer möglichen LTB zuverlässiger identifizieren als der THT. Dies gilt besonders für Immunsupprimierte und speziell auch für HIV-infizierte Menschen. Bisher liegt jedoch nur eine kleine Zahl publizierter Studien vor, welche mittels IGRAs die mutmaßliche LTB-Prävalenz innerhalb von HIV-Kohorten in Niedrigprävalenzländern bestimmt haben (siehe Tabelle 8), und in keiner dieser Studien erfolgte eine prospektive Bestimmung des Progressionsrisikos mittels längerfristiger Nachuntersuchungen.

Ziel der hier vorgestellten Studie war es, die wahrscheinliche Prävalenz einer LTB in einem Berliner HIV-Kollektiv mittels T-SPOT zu bestimmen und zusätzlich durch zeitlich versetzte Nachuntersuchungen (follow up) das prospektive Risiko zur Entwicklung einer aktiven TB zu erfassen.

Zu diesem Zweck wurden zwischen 2005 und 2007 in der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Infektiologie und Pneumologie der Medizinischen Fakultät Charité Berlin (Standort Charité Mitte und Virchow-Klinikum) 192 HIV-positive Patienten mittels IGRA (speziell T-SPOT) auf das Vorliegen einer T-Zell-spezifischen Sensibilisierung gegenüber MTB-Antigenen (ESAT-6 und CFP-10) untersucht, detailliert bzgl. ihrer epidemiologischen und medizinischen TB-Risikofaktoren evaluiert und anschließend bis Dezember 2010 nachbeobachtet. Diese Studie ist damit die größte IGRA Studie, bei der eine ausreichende Nachbeobachtung der untersuchten HIV Patienten realisiert wurde.

Zusätzlich wurden im Gegensatz zu den meisten vergleichbaren Studien auch hospitalisierte, d.h. schwer kranke Patienten eingeschlossen (unter anderem mit akuten AIDS-definierenden Erkrankungen und Patienten von Intensivstationen). Dadurch weist die hier vorliegende HIV-Studienkohorte einen über-durchschnittlich hohen Anteil schwer immunsupprimierter Patienten auf.

Da positive IGRA-Ergebnisse auch bei aktiver TB, beziehungsweise auch noch Jahre nach erfolgreich behandelter TB, erhoben werden können, wurden alle Patienten vor Einschluss auf das Vorliegen einer aktiven TB untersucht und bezüglich einer in der Vergangenheit bereits therapierten TB befragt. Im Gegensatz zu den meisten

vergleichbaren Studien (Tabelle 9) wurden in der hier durchgeführten Studie Patienten mit klinischem oder radiologischem Verdacht auf aktive TB, Patienten mit bestätigter aktiver TB und Patienten mit Zustand nach bereits behandelter TB strikt ausgeschlossen.

5.1. Demographische Daten

5.1.1. Allgemein

Zum Zeitpunkt der IGRA-Untersuchung (2005-2007) lebten in Berlin entsprechend dem Robert-Koch-Institut ca. 10400 HIV-infizierte Menschen. Dabei betrug der Anteil an Männern 91 % (davon 84 % homosexuell), an i.v. Drogenabhängigen 12 % und an Personen aus TB-Hochprävalenzländern 4 %.⁶⁹ Somit unterscheidet sich die hier untersuchte Studienkohorte von der Berliner Gesamtkohorte in Bezug auf den Männeranteil (70 % gegenüber 91 %) und in Bezug auf den Anteil an Personen aus TB-Hochprävalenzländern (35 % gegenüber 4 %).

Der geringere Männeranteil in der Studienkohorte wird durch zwei Faktoren bedingt. Zum einen werden in Berlin homosexuelle HIV-positive Männer schwerpunktmäßig von extrauniversitären HIV-Zentren betreut, was den Männeranteil im universitären Zentrum reduziert. Zum anderen existiert eine enge Kooperation zwischen der Medizinischen Klinik für Infektiologie/Pneumologie und dem pädiatrischen HIV-Zentrum am Virchow-Klinikum, was den Frauenanteil und den Anteil an Migrantinnen in dieser Kohorte anhebt.

Die Differenz in der Geschlechterverteilung erklärt sich aus dem höheren Anteil an Personen aus TB-Hochprävalenzländern, da aufgrund der dort überwiegend heterosexuellen HIV-Übertragung der Frauenanteil erwartungsgemäß höher ausfällt. In dieser Kohorte betrug der Frauenanteil bei Patienten aus TB-Hochprävalenzländern 60 %. Dies entspricht dem Frauenanteil bei Patienten aus TB-Hochprävalenzländern in der gesamtdeutschen HIV-Kohorte (55 - 60 %).⁷⁰ Der Anteil an i.v. Drogenabhängigen ist in der Studienpopulation identisch mit dem Anteil an Drogenabhängigen in der Berliner Gesamtkohorte (12 %).

Somit sind die vorliegenden epidemiologischen Ergebnisse der Studienpopulation in sich plausibel.

5.1.2. Immunkompromittierende Faktoren

Bei der Analyse der immunkompromittierenden Faktoren fällt auf, dass der Anteil an Patienten mit Alkoholabusus mit elf Patienten (6 %) relativ gering ausfällt. In den bisher veröffentlichten Untersuchungen wird in der Mehrzahl der Studien der Alkoholabusus nicht angegeben (Brock et al. 11 %).⁷¹ Hier kann von einer hohen Dunkelziffer ausgegangen werden, da die anamnestischen Angaben der Patienten bezüglich ihres Alkoholkonsums nicht immer reliabel sind. Alkoholsucht wird oft, auch dem behandelnden Arzt gegenüber, verschwiegen, wogegen der Gebrauch intravenöser Drogen meist offensichtlicher ist.

Der Anteil intravenös drogenabhängiger Patienten ist mit 12,4 % (23 Patienten) vergleichbar mit dem anderer Studien (Brock et al. 12 %⁷¹, Stephan et al. 11,9 %⁷², Aichelburg et al. 19,3 %¹⁸, Talati et al. 19 %⁷³). Der Anteil lag bei Jones et al. mit 54,7 %¹⁵ und Luetkemeyer et al. mit 37 %¹⁶ von Patienten mit jemals Erfahrung mit intravenösen Drogen jedoch deutlich höher.

Diabetes mellitus als immunkompromittierende Erkrankung wird in den meisten Studien nicht erfasst. Bei Brock et al. beträgt der Anteil 3 %⁷¹, bei Talati et al. 6,9 %⁷³ und in dieser Studie 6,5 %.

Die Therapie mit Steroiden wurde in keiner der bisher veröffentlichten Untersuchungen als Risikofaktor untersucht. Bei Jones et al. wurden Patienten mit Steroiden oder anderer immunsupprimierender Therapie sogar explizit ausgeschlossen.¹⁵ In dieser Studie erhielten 13 Patienten (7 %) eine in der Regel hochdosierte Steroid-Therapie (meist im Rahmen einer PjP).

Zum Testzeitpunkt litten 34 % (63 Patienten) an einer schweren Begleiterkrankung (46 Patienten an einer akuten Infektionskrankheit und 15 Patienten an einer malignen Begleiterkrankung). In den meisten vergleichbaren Studien wurden entweder nur ambulante und somit relativ beschwerdefreie HIV-Patienten eingeschlossen (Jones et al.¹⁵, Luetkemeyer et al.¹⁶, Brock et al.⁷¹ Stephan et al.⁷²), oder HIV-Patienten mit zusätzlichen schweren oder malignen Grunderkrankungen dezidiert ausgeschlossen (Stephan et al.⁷²) bzw. nicht genauer benannt (Talati et al.⁷³).

5.1.3. HIV-Status

Über die bereits genannten Gründen hinaus (34 % litten zum Testzeitpunkt an einer schweren Begleiterkrankung) war die hier untersuchte Kohorte aufgrund der HIV-assoziierten Immunschwäche (u.a. niedriger CD4-Median und hoher Viruslast-Median) zusätzlich deutlich immunsupprimierter als dies in den meisten anderen bereits publizierten HIV-Studien zum selben Thema der Fall war (siehe Tabelle 8).

So lag der Median der CD4-Zellzahl in dieser Studie mit nur 275/ μ l am niedrigsten (in den bisherigen Studien zwischen 334 und 523/ μ l), der Anteil der Patienten mit weniger als 100 CD4-Zellen/ μ l bei 10 % (in den oben genannten Studien zwischen 3 und 11 %), der Anteil der Patienten mit weniger als 200 CD4-Zellen/ μ l bei 36 % (in den bisherigen Studien zwischen 9 und 30 %), der Anteil der Patienten im Stadium AIDS bei 78 % (in den bisherigen Studien zwischen 20 bis 60 %), der Viruslast-Median bei 2,6 log/ml bzw. 363 Kopien/ml (in den bisherigen Studien zwischen 1,7 log und 2,6 log/ml), der Anteil mit kontrollierter HIV-Infektion mit Viruslast unter der Nachweisgrenze bei 34 % (in den bisherigen Studien zwischen 45 und 74 %).

Tabelle 9: Übersicht über das Ausmaß der Immunsuppression bei ausgewählten Studien

	Jones	Luetskemeyer	Brock	Aichelburg	Talati	Stephan	Ziemann
Studienort	New York, USA	San Francisco, USA	Hvidovre, Dänemark	Wien, Österreich	Atlanta, USA	Frankfurt, Deutschland	Berlin, Deutschland
Einrichtung	Ambulanz	Hospital und Ambulanz	Ambulanz	Ambulanz	Hospital und Ambulanz	Ambulanz	Hospital und Ambulanz
IGRA	QFT	QFT	QFT	QFT	QFT T-SPOT	QFT T-SPOT	T-SPOT
Zahl der Patienten	201	294	590	830	336	286 ^a	185
Komorbidität (%)	*	*	*	*	Diabetes (7) NINS (4) Malignome (4)	Ausschlusskriterium	siehe Tabelle 4
Sonstige Immunsuppression (%)	Ausschlusskriterium	*	.	.	.	Ausschlusskriterium	Steroide (7) Chemoth. (8)
aktive TB (%)	0	0	0	8 (1)	0	0	0
Z.n. behandelter TB (%)	8 (4)	4 (1)	31 (5)	29 (4)	0	29 (10)	0
Herkunft aus TB-Hochprävalenzland (%)	84 (42)	13 (4)	122 (21)	194 (23)	29 (9)	62 (22)	64 (35)
Stadium AIDS (%)	*	*	118 (20)	191 (23)	202 (60)	88 (31)	145 (78)
CD4-Zellzahl, Median	452	363	523	393	334	408	275
CD4-Zellzahl < 100/µl (%)	19 (9)	31 (11)	17 (3)	*	*	*	19 (10)
CD4-Zellzahl < 200/µl (%)	43 (21)	142 (48) ^b	54 (9)	136 (16)	101 (30)	42 (15)	66 (36)
Viruslast, Median log	*	2,4	*	1,7	2,6	1,6	2,6
Viruslast < 50 Kopien/ml (%)	*	131 (45) ^c	439 (74) ^d	439 (53)	*	182 (64)	63 (34)
Viruslast > 50000 cop./ml (%)	*	*	56 (9)	*	*	*	36 (20)
Viruslast > 100000 cop./ml (%)	*	*	*	97 (12)	*	*	27 (15)
IGRA positiv (%)	11 (6)	25 (9)	27 (5)	44 (5)	QFT 9 (3) T-SPOT 14 (4)	QFT 52 (19) T-SPOT 66 (24)	37 (20)
Indeterminante Ergebnisse (%)	10 (5)	15 (5)	20 (3)	47 (6)	QFT 6 (2) T-SPOT 47 (14)	QFT 1 (0,4) T-SPOT 8 (3)	6 (3)
Nachbeobachtung, Monate	0	0	12	19 ^e		12	47 ^e
TB im Verlauf			2	3		0	0

* nicht angegeben; NINS = Niereninsuffizienz; Chemoth. = Chemotherapie

^a 286 eingeschlossene Patienten, von 275 Patienten Ergebnisse für THT oder IGRA

^b 100-350 CD4/µl

^c < 75 Kopien/ml

^d < 500 Kopien/ml

^e Median

5.2. Valide und determinante Ergebnisse

5.2.1. Prävalenz positiver T-SPOT-Ergebnisse

Während die aktive TB in der Regel durch mikrobiologische oder histopathologische Analyse von Sputum, Bronchiallavage, Magensaft, Pleuraerguss oder Biopsien bestätigt werden kann, fehlen diese Möglichkeiten in der Diagnose der LTB.

Historisch wurden bisher der THT und die radiologische Verfahren zur Diagnostik der LTB verwendet. Der Hauttest ist jedoch durch seine mangelnde Spezifität (u.a. durch Kreuzreaktionen mit BCG- und vielen NTM-Stämmen) und die mangelnde Sensitivität bei immunsupprimierten Patienten als Goldstandard in der LTB-Diagnostik nicht geeignet. Die Röntgenuntersuchung bzw. die Computertomographie der Lungen dient bei der LTB zur Suche nach postspezifischen Residuen und ist ebenfalls durch ihre geringe Sensitivität und Spezifität begrenzt verwertbar.

Zur Bewertung der IGRAs in der Diagnostik der LTB liegt eine umfangreiche Studienlage vor. Diese muss jedoch differenziert betrachtet werden. Dabei unterscheiden sich die IGRA-LTB-Studien wesentlich je nach untersuchtem Patientenkollektiv (gesunde Personen, immunsupprimierte Patienten ohne Exposition, HIV-Patienten, Mitarbeiter im Gesundheitssystem, etc.), dem epidemiologischen Hintergrund (Hoch- oder Niedrigendemiegebiet) und dem Setting der Untersuchung (Umgebungsuntersuchung nach TB-Exposition, Screening vor oder während Immunsuppression, Einstellungsuntersuchungen). Prospektive IGRA-LTB-Studien mit einem längeren Nachbeobachtungszeitraum sowie Studien mit schwer immunsupprimierten HIV-Patienten liegen insgesamt nur wenige vor. Somit stellt die hier vorliegende Untersuchung eine wichtige Ergänzung der bisherigen Studienlage dar.

Belastbare IGRA-Daten zur geschätzten Prävalenz der LTB in der deutschen Normalbevölkerung liegen nicht vor. Einige Untersuchungen nutzten jedoch IGRAs als Screening-Methode bei Ärzten und anderen Mitarbeitern im Gesundheitssystem. Barsegian et al. ermittelten dadurch eine Prävalenz der LTB von einem Prozent bei deutschen Radiologen.⁷⁴ In einem Review mittelte Nienhaus et al. 2009 die mit dem QFT gemessene Prävalenz bei Mitarbeitern im deutschen Gesundheitswesen auf 10,5 %⁷⁵, bei Beschäftigten in der Geriatrie betrug die Prävalenz 19 %.⁷⁶ Als vor Jahren die Diagnose der LTB noch allein auf dem Ergebnis des THT beruhte, maßen Kraljn et al. eine Prävalenz von 40 % bei Beschäftigten im deutschen Gesundheitsdienst.⁷⁷

Die meisten Studien, die IGRAs zur Diagnose der LTB bei HIV-Patienten in Niedrigprävalenzländern einsetzten (siehe Tabelle 8), kommen auf relativ niedrige Prävalenzen

zwischen 2,7 und 8,5 % (Atlanta, New York, San Fransisco, Dänemark, Wien). Eine Ausnahme stellte bisher die Studie von Stephan et al. aus Frankfurt am Main dar, wo in der dortigen HIV-Kohorte eine überraschend hohe Prävalenz von 18,2 % (mittels QFT) bzw. 23,1 % (mittels T-SPOT) bestimmt wurde. Konkordant mit den Ergebnissen von Stephan et al. beträgt die Prävalenz einer mutmasslichen LTB, gemessen mit einem positiven T-SPOT-Ergebnis, in der hier untersuchten Berliner Kohorte 20,7 %.

Somit könnte angenommen werden, dass in Frankfurt am Main und Berlin eine höhere LTB-Prävalenz vorliegt, als in Atlanta, New York, San Fransisco, Dänemark oder Wien. Diese Vermutung lässt sich jedoch zumindest nicht durch die entsprechenden TB-Inzidenzzahlen (aktive TB) von Wien, Frankfurt am Main und Berlin Mitte untermauern. In allen drei Großstädten war die TB-Indzidenz 2006 nicht wesentlich different (Wien: 17,3/100.000, Frankfurt am Main 14,3/100.000, Berlin Mitte 17,2/100.000).^{78,79}

Der hohe Anteil schwer immunsupprimierter Patienten in der Berliner Kohorte (CD4-Zellzahl Median 275/ μ l) führte im Vergleich zu den weniger immunsupprimierten Kohorten aus Wien und Frankfurt (CD4-Zellzahl Median 393/ μ l und 408/ μ l) bemerkenswerter Weise zu keiner niedrigeren Rate an positiven T-SPOT-Ergebnissen. Dies kann als Indiz für die Stabilität des Testsystems in Bezug auf die CD4-Zellzahl und die Komorbiditäten gewertet werden.

5.2.2. Prädiktoren eines positiven T-SPOT-Ergebnisses

Alter, Geschlecht, Diabetes, Alkoholabusus, intravenöser Drogenabusus, Steroidtherapie, maligne Begleiterkrankungen erwiesen sich nicht als Prädiktoren für ein positives oder negatives T-SPOT-Testergebnis (siehe Tabelle 2).

5.2.2.1. Herkunft aus einem TB-Hoch- oder Niedrigprävalenzland

Der Unterschied in der Häufigkeit positiver T-SPOT-Ergebnisse bzgl. der Herkunft (TB-Niedrigprävalenzland 17,1 % versus Hochprävalenzland 27,4 %) war zwar ersichtlich (Abbildung 2 und Tabelle 2), erreichte aber als Risikofaktor für einen positiven T-SPOT in der Berliner Kohorte keine statistische Signifikanz ($p = 0,122$). Die OR lag bei 1,832 (CI 0,877-3,828).

Von den vergleichbaren Studien (Tabelle 9) konnten bisher nur Luetkemeyer et al. (USA, $n = 294$) und Brock et al. (Dänemark, $n = 590$) die Herkunft als generellen Risikofaktor für einen positiven IGRA bestätigen, und Aichelburg et al. (Wien, $n = 830$) fand nur für afrikanische Patienten bzw. für Patienten aus Gebieten mit einer TB-Inzidenz von mehr als 199/100.000 eine signifikante Prädisposition.

Die Studie von Stephan et al. (Frankfurt, n = 286) und die hier vorliegende Berliner Studie konnte die Herkunft nicht als Risikofaktor für positive IGRA-Ergebnisse verifizieren. Eine eventuell zu geringe Fallzahl kann die Diskrepanz zwischen den beiden deutschen und den nicht-deutschen Studien nur unzureichend erklären.

Vielmehr fand sich in der Berliner wie auch in der Frankfurter Kohorte von Stephan et al. ein ungewöhnlich hoher Anteil positiver IGRAs bei Patienten aus Niedrigendemiegebieten (T-SPOT Berlin: 17,1 %; T-SPOT Frankfurt 20,5 %; QFT Frankfurt 16,5 %). Dieser Anteil lag in den anderen Studien deutlich niedriger (USA QFT 7,8 %, QFT Dänemark 2,6 %; QFT Wien 3,9 %).

Die Prävalenz einer LTB wird für die deutsche Normalbevölkerung im Durchschnitt auf 1 % geschätzt.⁸⁰ LTB-Prävalenzstudien, die nicht im Rahmen von Umgebungsuntersuchungen durchgeführt wurden, liegen für Deutschland nur für MitarbeiterInnen im Gesundheitswesen vor. In dieser Gruppe liegt die Rate an positiven IGRAs bei explizit deutschen MitarbeiterInnen nur bei 8,2 %⁷⁵ und bei deutschen Radiologen (bei denen keine relevante berufliche TB-Exposition angenommen wird) nur bei 1 %.⁷⁴

Somit stellt sich die Frage, warum die Rate an mutmasslicher LTB in Berlin und Frankfurt bei HIV-Patienten aus Niedrigendemiegebieten (Altersmedian 44 Jahre, überwiegend deutsche Männer, die meisten davon homosexuell) deutlich erhöht ist. Denkbar wäre eine überdurchschnittlich hohe TB-Exposition im Rahmen der homosexuellen Szene (räumlich beengte Lokale, Kontakt mit Prostituierten aus TB-Hochendemiegebieten, u.v.m.). Zur Klärung dieser Frage, wären weiterführende epidemiologische Untersuchungen notwendig.

5.2.2.2. Viruslast

Da Patienten mit hoher Viruslast in der Regel schwerer immunsupprimiert sind als Patienten mit geringer Viruslast, wäre bei einem immunologischen Testsystem wie dem T-SPOT zu erwarten, dass bei hoher Viruslast weniger Patienten einen positiven IGRA aufweisen (steigende Zahl falsch negativer Ergebnisse bei schwerer Immunsuppression).

Dies war in der vorliegenden Untersuchung nicht der Fall. Überraschenderweise war der Viruslast-Median in der Gruppe mit negativen T-SPOT-Ergebnissen sogar niedriger als in der Gruppe mit positiven T-SPOT-Ergebnissen (295 Kopien/ml im Vergleich zu 3020 Kopien/ml).

Wie bei Brock et al. hatte die Höhe der Viruslast aber keinen signifikanten Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit positiver T-SPOT Resultate ($p = 0,180$). Auch in der stratifizierten Analyse nach verschiedenen Viruslastgruppen (≤ 50 Kopien/ml versus 51-49999 Kopien/ml

versus ≥ 50000 Kopien/ml) war der Anteil positiver Ergebnisse in den Gruppen vergleichbar hoch ($p = 0,179$).

Dies bestärkt die Annahme, dass der T-SPOT selbst bei schwerer Immunsuppression LTB-spezifische Immunreaktionen nachweisen kann.

5.2.2.3. CD4-Zellzahl

Wie auch bei Stephan et al. und Talati et al., welche ebenfalls als IGRA den T-SPOT nutzten, fand sich in der aktuell durchgeführten Studie kein signifikanter Zusammenhang zwischen der CD4-Zellzahl und positiven bzw. negativen T-SPOT-Ergebnissen ($p = 0,491$). Dieses Ergebnis bestätigt die relative Stabilität des Testsystems bei schwerer Immunsuppression im Rahmen der HIV-Infektion (siehe auch 4.2.2.2.). Auch in der stratifizierten Analyse war der Anteil positiver Ergebnisse in den Gruppen mit unterschiedlich hohen CD4-Zellzahlen vergleichbar und nicht signifikant unterschiedlich ($p = 0,468$). Somit fand sich in allen bisherigen T-SPOT-Untersuchungen (Stephan et al., Talati et al. und Ziemann) keine CD4-Abhängigkeit.

Im Vergleich dazu ist die Studienlage für den QFT uneinheitlich. Brock et al. und Talati et al. fanden keine CD4-Abhängigkeit positiver oder negativer QFT-Resultate, Stephan et al. beschreibt dagegen eine statistisch signifikante Differenz im QFT-Arm seiner Studie.

5.3. Indeterminante Ergebnisse

Trotz des hohen Anteils an schwer immunsupprimierten Patienten betrug der Anteil indeterminanter Ergebnisse in dieser Studie nur 3,2 %. Alle Patienten mit indeterminantem Ergebnis hatten eine HIV-Infektion im Stadium AIDS.

Bei den bisherigen T-SPOT-Studien lag der Anteil indeterminanter Ergebnisse bei 2,9 % bzw. 14,0 % und bei den QFT-Studien zwischen 0,4 % und 5,7 % (siehe Tabelle 9). Wie in den vorangegangenen Studien bereits beschrieben (einzige Ausnahme der QFT-Arm in der Studie von Talati et al.), wurde auch hier eine signifikante Abhängigkeit zur CD4-Zellzahl gemessen (CD4-Median von determinanten und indeterminanten Ergebnissen: 354 CD4-Zellen/ μ l im Vergleich zu 74 CD4-Zellen/ μ l, $p = 0,003$).

Besonders häufig traten indeterminate Resultate in der Patientengruppe mit < 100 CD4-Zellen/ μ l auf. Der Anteil betrug hier 14,2 %, während er in allen anderen CD4-Gruppen bei nur 1-2 % lag. Umgekehrt betrachtet hatten fünf der sechs Patienten mit indeterminantem Ergebnis weniger als 100 CD4-Zellen/ μ l.

Somit ergibt sich bei unserer T-SPOT-Untersuchung ab einem Schwellenwert von < 100 CD4-Zellen/ μ l eine OR für indeterminantes Ergebnis von 24,8. Dies deckt sich gut mit den

bisherigen Studien, wo sich diese Schwelle zwischen 100 CD4-Zellen/ μ l (Luetkemeyer et al. für den QFT) und 200 CD4-Zellen/ μ l (Talati et al. für den T-SPOT) befand.

Die Häufung indeterminanter IGRA-Ergebnisse im Stadium AIDS lässt sich zunächst durch zwei Umstände erklären. Das mittels IGRA nachweisbare IFN-gamma wird überwiegend von CD4-Zellen produziert. Je niedriger die CD4-Zellzahl eines Patienten, desto geringer auch die Menge an nachweisbarem IFN-gamma bzw. desto geringer die Zahl nachweisbarer Spots im ELISPOT nach Stimulation mit PHA. Im Extremfall, bei Patienten mit Null CD4-Zellen, ist keine IFN-gamma Produktion nach PHA-Stimulation mehr zu erwarten und kein IFN-gamma mittels IGRA mehr nachweisbar.

Neben diesem rein numerischen Aspekt ist bei den noch vorhandenen CD4-Zellen die Fähigkeit zur Proteinbiosynthese nach PHA-Stimulation womöglich deutlich reduziert. Die intrazelluläre HIV-Replikation schränkt die physiologische Reaktionsfähigkeit der CD4-Zellen ein (Störung der intrazellulären Signaltransduktion, Transkription, Translation), was letztendlich zu einer deutlich reduzierten Syntheseleistung der CD4-Zellen führt. Dementsprechend hatten Patienten mit indeterminanten Ergebnissen in der Tat auch eine sehr hohe Viruslast (Median der Viruslast bei determinanten Ergebnissen 395 Kopien/ml im Vergleich zu 50250 Kopien/ml bei indeterminanten Ergebnissen, $p = 0,345$).

Bei Patienten mit weniger als 100 CD4-Zellen/ μ l ist darüber hinaus das HIV-Wastingsyndrom ein zusätzlicher, signifikanter Risikofaktor für indeterminate Ergebnisse. In unserer Untersuchung lag ein Wastingsyndrom bei 3 von 6 Patienten (50 %) mit indeterminantem Ergebnis, jedoch nur bei 10 von 179 Patienten (5,6 %) mit determinantem Ergebnis vor ($p = 0,005$). Bei schweren Koinfektionen fand sich in unserer Kohorte dagegen kein Hinweis für ein gesteigertes Risiko für indeterminate Ergebnisse in der Gruppe unter 100 CD4-Zellen/ μ l.

Wasting steigert bekanntlich das Risiko für opportunistische Infektionen wie auch die TB und stellt einen unabhängigen Mortalitätsfaktor für HIV-Patienten dar.^{81,82} Trotz HAART ist das Mortalitätsrisiko von Wasting-Patienten im Vergleich zu Patienten mit stabilem Gewicht um das 4-6-fache signifikant erhöht.⁸³ In diesem Sinne muss die durch Malnutrition bedingte Immunschwäche (nutritional-acquired immune deficiency syndrome, NAIDS) unabhängig von der HIV-assoziierten Immunschwäche betrachtet werden. Malnutrition führt u.a. über einen Mangel an wichtigen Proteinen, essentiellen Fettsäuren (z.B. Omega-3-Fettsäuren), Mineralien (z.B. Zink) und Vitaminen zu einer verminderten Zytokin-Synthese inklusive reduzierter Interferon-Produktion, was Lymphozyten- und Makrophagenfunktionsstörungen zur Folge hat.⁸⁴

In diesem Sinne scheint die hier beobachtete Häufung indeterminanter Ergebnisse bei einer Vielzahl von Wasting-Patienten gut erklärbar, wurde bisher in der Literatur aber nur im Rahmen von LTB-Untersuchungen bei unterernährten HIV-negativen Patienten und nur für den QFT beschrieben.^{85,86}

5.4. Produktion von Interferon-gamma

Im Gegensatz zu den indeterminanten Ergebnissen konnte zwar ein leichter Trend (Abbildungen 4 und 5) aber kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe der CD4-Zellzahl und der Anzahl der produzierten Spots nach PHA- oder ESAT-6/CFP-10-Stimulation nachgewiesen werden. Dies stimmt mit den bisherigen T-SPOT-Studien von Talati et al. und Stephan et al. überein. Im Gegensatz dazu war die Menge an nachweisbarem IFN-gamma nach PHA- oder ESAT-6/CFP-10-Stimulation in den meisten QFT-Studien signifikant von der CD4-Zellzahl abhängig. So fanden Luetkemeyer, Brock und Talati et al. einen signifikanten Abfall der PHA-induzierten IFN-gamma Antwort bei reduzierter CD4-Zellzahl und Luetkemeyer und Stephan beschreiben einen signifikanten Abfall der ESAT-6/CFP-10-induzierten IFN-gamma Produktion in Abhängigkeit der CD4-Zellzahl. Einzig im QFT-Arm der Studie von Talati et al. fand sich bzgl. der ESAT-6/CFP-10-induzierten IFN-gamma Produktion keine CD4-Abhängigkeit.

Insgesamt besteht somit der Eindruck, dass der IFN-gamma Nachweis mittels QFT stärker von der CD4-Zellzahl abhängig ist, als dies für den T-SPOT der Fall ist.

5.5. Schwer immunsupprimierte Patienten mit < 100 CD4-Zellen/ μ l

Detaillierte Untersuchungen zur Wertigkeit der LTB-IGRA-Diagnostik bei HIV-Patienten mit weniger als 200 oder 100 CD4-Zellen/ μ l lagen bisher kaum vor. Die Besonderheit der hier vorliegenden Studie ist daher auch der hohe Anteil an besonders schwer immunsupprimierten HIV-Patienten. Im Vergleich zu den bisherigen LTB-IGRA-Studien weist diese Kohorte mit 36 % den größten Anteil an Patienten mit weniger als 200 CD4-Zellen/ μ l, mit 275 CD4-Zellen/ μ l den niedrigsten CD4-Median, mit 78 % den größten Anteil an Patienten im Stadium AIDS, mit 34 % den größten Anteil an akuten Begleiterkrankungen, mit 2,6 log/ml den höchsten Viruslast-Median (nur die Studie von Talati et al. erreichte auch 2,6 log/ml) und mit 34 % den geringsten Anteil an kontrollierten HIV-Infektionen mit Viruslast unter der Nachweisgrenze auf (Details siehe auch Tabelle 9 und Abschnitt 5.1.3.).

Diese überdurchschnittlich immunsupprimierte Studienkohorte ergab sich aus der Tatsache, dass (im Gegensatz zu den meisten anderen LTB-IGRA-Studien) die hier

untersuchten HIV-Patienten nicht nur im Rahmen von ambulanten Kontrollterminen eingeschlossen wurden. In der Regel leiden ambulant geführte HIV-Patienten weniger häufig an aktiven opportunistischen Infektionen, liegen mit ihren CD4-Zellen meist über 200 CD4-Zellen/ μ l oder werden bereits mit einer HAART behandelt. In dieser Untersuchung wurden 46 der 185 HIV-Patienten (25 %) während einer stationären Behandlung im Krankenhaus eingeschlossen. Bei diesen hospitalisierten Patienten wurde die HIV-Infektion oft erst kürzlich diagnostiziert und sie befanden sich wegen schweren opportunistischen Infektionen in Behandlung.

Aufgrund der unzureichenden Datenlage in Bezug auf die Performance der IGRAs bei schwer immunsupprimierten HIV-Patienten erfolgte eine gesonderte Betrachtung der T-SPOT Ergebnisse für Patienten mit weniger als 100 CD4-Zellen/ μ l (siehe Tabelle 4). Diese Subgruppe (35 von 185 Patienten) wurde hinsichtlich der bestehenden Komorbiditäten zunächst detailliert beschrieben. 31 dieser 35 Patienten litten an einer vital bedrohlichen Koinfektion oder an einer malignen Grunderkrankung (siehe Tabelle 4). In der Analyse zeigte sich, dass in dieser Gruppe (< 100 CD4-Zellen/ μ l) signifikant mehr indeterminate Ergebnisse auftraten ($p = 0,001$, OR 25) und das sich bei < 100 CD4-Zellen/ μ l insgesamt auch weniger Spots nach PHA-Stimulation nachweisen lassen (siehe Abbildung 4). Eine systemische Steroidtherapie oder schwere Infektion führte dagegen zu keiner Häufung indeterminanter Ergebnisse bei dieser Patientengruppe. Wasting stellt dagegen einen Risikofaktor für indeterminate Ergebnisse dar.

Bei den 30 von 35 Patienten (86 %) mit einem determinanten Ergebnis lässt sich zwar ein höherer Anteil an Patienten mit Null Spots erkennen, jedoch lag der Median der Spot-Anzahl in der Gruppe mit unter 100 CD4/ μ l höher als bei allen anderen Gruppen und der Anteil von positiven T-SPOT Ergebnissen unterschied sich nicht zwischen den unterschiedlichen CD4-Gruppen ($p = 0,468$, siehe Tabelle 2).

Somit kann man zusammenfassen, dass bei einer CD4-Zellzahl unter 100/ μ l zwar häufiger indeterminate Ergebnisse zu erwarten sind, die determinanten Ergebnisse an sich und im Vergleich mit den Ergebnissen in anderen CD4-Gruppen jedoch plausibel erscheinen.

5.6. Ergebnisse des Tuberkulin-Hauttests

Für insgesamt 119 von 185 Patienten (62 %) lag ein THT-Ergebnis vor. Die relativ niedrige Rate an THT-Ergebnissen ist in erster Linie durch die mangelnde Compliance der Patienten bedingt, ein zweites Mal zum Abmessen der Induration zum Arzt zu kommen. Dieser Nachteil des THT ist bekannt und konnte auch in unserer Untersuchung nicht vollständig kompensiert werden. Elzi et al. veröffentlichen eine multizentrische Studie

Schweizer HIV-Patienten und beschrieben in den einzelnen Standorten Ableseraten des THT zwischen 32,5 % und 87,8 %.⁵⁴ In diesem Sinne scheint die in unserer Studie erreichte Ableserate von 62% realistisch.

Das Niveau der Immunsuppression der 112 Patienten lag auf ähnlichem Niveau, wie das der gesamten Studienkohorte, tendenziell sogar etwas höher. So betrug der Median der CD4-Zellen 307/ μ l im Vergleich zu 275/ μ l, es hatten 12,5 % im Vergleich zu 18,4 % der Patienten zum Testzeitpunkt eine AIDS-definierende Erkrankung und 9,8 % im Vergleich zu 18,9 % der Patienten hatten weniger als 100 CD4-Zellen/ μ l.

Von den 112 Patienten mit THT-Ergebnis und determinantem T-SPOT-Ergebnis hatten 13 Patienten (11,6 %) ein positives THT-Ergebnis. Dies sind nur halb so viele positive Ergebnisse wie im gleichen Patientekollektiv mit dem T-SPOT ermittelt werden konnten (26 Patienten, 23,2 %).

5.6.1. Prädiktoren eines positiven Tuberkulin-Hauttest-Ergebnisses

Analog zu den Einflussfaktoren auf ein positives T-SPOT-Ergebnis wurden die gleichen Prädiktoren auch hinsichtlich eines positiven THT geprüft. Obwohl zu keinem Faktor eine signifikante Abhängigkeit bewiesen werden konnte sind die häufigeren positiven Ergebnisse bei Patienten aus TB-Hochprävalenzländern und die sinkende Häufigkeit positiver Ergebnisse mit abnehmendem Immunstatus deutlich erkennbar. Dass hier eine Signifikanz verfehlt wurde liegt wahrscheinlich in den niedrigen Patientenzahlen pro Gruppe begründet, die durch die Stratifizierung der 13 bzw. 26 Patienten entstanden sind.

5.7. Konkordanz beider Tests

Die Konkordanz zwischen T-SPOT und THT ist mit einem Kappa-Koeffizienten von $\kappa = 0,21$ nur leicht ausgeprägt. Dies findet sich in ähnlicher Form bei Stephan et al. mit $\kappa = 0,20$, bei Luetkemeyer et al. mit dem QFT-Test mit einem $\kappa = 0,37$ und Jones et al. mit QFT mit einem $\kappa = 0,38$.

22,3 % der Patienten hatten diskordante Ergebnisse bezüglich der beiden Testverfahren. Zur Klärung der Frage, welche der diskordanten Ergebnisse falsch negativ und welche falsch positiv waren, fehlt ein Goldstandard zur Diagnostik der LTB, der eine definitive Aussage zulässt.

Bezüglich der CD4-Zellzahl und HI-Viruslast bestanden zwar keine signifikanten Unterschiede in den Patientengruppen mit den unterschiedlichen Ergebnissen, jedoch fällt auf, dass die Patienten mit einem positiven THT und negativem T-SPOT im Median deutlich höhere CD4-Zellen hatten. In Anbetracht der Kombination aus Patienten mit relativ guter Immunität (CD4-Zell-Median 576/ μ l) und der bereits berichteten geringen Spezifität des THT durch die BCG-Impfung sowie atypische Mykobakterien ist hier ein falsch positiver THT wahrscheinlicher als ein falsch negativer T-SPOT.

5.8. Nachbeobachtung

Ein Defizit aller bisher mit HIV-Patienten durchgeführten LTB-IGRA-Studien besteht in der fehlenden oder nur sehr kurzen Nachbeobachtung der untersuchten Patienten. Nachbeobachtungszeiten wurden letztendlich nur von Stephan et al. (12 Monate), Brock et al. (12 Monate) und von Aichelburg et al. (Median 19 Monate) angegeben. Ob anhand eines positiven oder negativen IGRA-Ergebnisses eine verlässliche Aussage über das Risiko einer späteren TB-Reaktivierung getroffen und somit als Entscheidungshilfe für eine Chemoprävention herangezogen werden kann, ist jedoch nur durch längere Nachbeobachtung beurteilbar. Studien mit einer ausreichenden Nachbeobachtung von mindestens 2-3 Jahren liegen von Umgebungsuntersuchungen nach TB-Exposition von HIV-negativen Kontaktpersonen vor und ergaben eine Progressionsrate bei positivem IGRA und fehlender Chemoprävention von bis zu 12,9 %.^{87,88,89} Bei randomisiert untersuchten Mitarbeitern im Gesundheitswesen liegt die Progressionsrate bei IGRA-positiven Personen in der Regel unter 1 %.⁹⁰

Im Dezember 2010, fünf Jahre und neun Monate nach Einschluss der ersten Patienten in die Untersuchung, wurden von den 185 Patienten mit validen T-SPOT-Ergebnissen die klinischen Akten und Laborwerte reevaluiert. Dadurch wurde eine mediane Nachbeobachtungszeit von knapp vier Jahren (47 Monate, Spanne von 0 - 66 Monaten)

erreicht und die Nachbeobachtungszeiten der oben genannten HIV-LTB-IGRA-Studien konnten bei Weitem überschritten werden. Dabei konnten 71,4 % der Patienten über 12 Monaten nachbeobachtet werden (siehe auch Abbildungen 9 und 10). Dies entspricht auch der Erfahrung von Aichelburg et al., wo ebenfalls 74,1 % der Kohorte über 12 Monate nachbeobachtet werden konnten. Die daraus resultierende „drop out“ Rate innerhalb des ersten Jahres ergibt sich meist aus einem Wechsel des HIV-Behandlungszentrums oder fehlender Adhärenz bzw. Compliance in der Nachsorge.

Im Verlauf der Nachbeobachtung zeigt sich ein deutlicher und in den meisten Fällen hochsignifikanter Anstieg der CD4-Zellzahl bei gleichzeitigem Sinken der Viruslast (siehe Tabelle 7). Diese deutliche Verbesserung der immunologischen Situation über den Beobachtungszeitraum erklärt sich durch die bei den meisten Patienten im Verlauf eingeleitete HAART.

5.8.1. Prophylaktische Therapie

Entsprechend den aktuellen deutschen Empfehlungen sollten HIV-positive Personen mit einer LTB eine Chemoprävention erhalten.¹⁹ Hierfür stehen prinzipiell drei verschiedene Therapieschemata zur Verfügung. Am häufigsten wird in der klinischen Praxis Isoniazid über neun Monate verordnet. Für Rifampicin besteht aufgrund des hohen Interaktionspotentials mit NNRTIs und Proteaseinhibitoren eine relative Kontraindikation. Alternativ kann Rifabutin über vier Monate erwogen werden. In jedem Fall ist bei HIV-Patienten mit einer überdurchschnittlichen Nebenwirkungsrate zu rechnen. Daher sollte eine LTB-Chemoprävention bei HIV-Patienten nur von qualifizierten Zentren durchgeführt werden.

Vorteil einer präventiven Therapie bei HIV-Patienten ist die Verhinderung einer aktiven TB und die damit verbundene hohe Morbidität und Mortalität. Auch als Kostenfaktor ist die Komorbidität einer aktiven TB und HIV-Infektion immens. Schließlich besteht bei jedem Patienten mit aktiver TB die Möglichkeit einer Ansteckung von Kontaktpersonen und damit die weitere Verbreitung der TB.

Bis heute liegen jedoch keine ausreichenden Daten vor, wie viele HIV-Patienten latent mit MTB infiziert sind, wie viele davon ein tatsächliches Reaktivierungsrisiko in sich tragen und wie der zeitliche Verlauf der Entwicklung einer aktiven TB ist. Die Berichte über die Entwicklung einer aktiven TB auf der Basis einer LTB mit und ohne präventive Therapie lassen daher noch großen Raum zur Diskussion.⁸³ Dementsprechend sind auch die Leitlinien zur Therapie der LTB international nicht einheitlich. In Deutschland und den in den Vereinigten Staaten von Amerika wird eine präventive Therapie für alle HIV-Patienten

empfohlen, die keinen Hinweis auf akute Tuberkuloseerkrankungen haben und auf die eines der folgenden Kriterien zutrifft: ein positives IGRA-Ergebnis, Kontakt zu einem mit infektiöser pulmonaler TB Erkranktem oder in der Vergangenheit eine nicht oder inadäquat behandelte TB.^{19,23}

In Großbritannien wird die Indikation zur präventiven Therapie zurückhaltender und differenzierter gestellt. Die British HIV Association beschreibt in ihren Leitlinien zur Behandlung der HIV-TB-Koinfektion 2011, dass das Risiko, als HIV-Patient an einer TB zu erkranken, durch HAART um 80 % reduziert wird. Die britischen Kollegen machen die Empfehlung zur Chemoprävention daher nicht ausschließlich vom IGRA-Ergebnis, sondern auch von der Herkunft des Patienten (TB Hoch- oder Niedrigendemiegebiet), dem CD4-Zell-Status und der bisherigen Dauer der HAART abhängig. Erhält ein aus Afrika stammender IGRA-positiver Patient seit über zwei Jahren eine HAART, wird generell keine Chemoprävention mehr empfohlen. Bei IGRA-positiven, in Großbritannien geborenen Patienten, wird eine Chemoprävention nur empfohlen, wenn die bisherige Dauer der HAART unter sechs Monate beträgt und gleichzeitig weniger als 350 CD4/ μ l vorliegen.⁹¹

In dieser Studie reagierten 43 Patienten der Gesamtkohorte (n = 185) entweder im T-SPOT oder im THT positiv. Davon erhielten jedoch nur 7 Patienten (16,3 %) eine präventive Isoniazid-Behandlung. Warum die übrigen 36 mutmasslich latent MTB-infizierten Patienten entgegen den deutschen Leitlinien keine präventive Therapie erhielten, wurde im Einzelnen recherchiert (siehe Abbildung 11). Neben medizinischen Kontraindikationen für eine solche Prävention erhielten 18 der genannten 36 Patienten (50 %) aufgrund einer Individualentscheidung des behandelnden Arztes keine präventive Therapie, obwohl keine medizinische Kontraindikationen für eine INH-Chemoprävention vorlagen. Bei den Ärzten handelte es sich im Einzelnen um erfahrene HIV-Therapeuten. In den drei anderen LTB-HIV-Studien mit erfolgter Nachbeobachtung (Aichelburg et al., Stephan et al. und Brock et al.) wurden keine Angaben zur Chemopräventionsrate gemacht. Es kann vermutet werden, dass auch in diesen Kohorten nur sehr wenige IGRA- positive Patienten eine Chemoprävention erhielten. Hier verdeutlicht sich eine Diskrepanz zwischen den deutschen bzw. amerikanischen Empfehlung gegenüber der klinischen Praxis der behandelnden HIV-Ärzte, welche womöglich den britischen Empfehlungen näher kommt.

5.8.2. Auftreten von aktiver Tuberkulose

Entsprechend den Beobachtungsstudien von Grant et al.⁹² (27868 britische HIV-Patienten) und Elzi et al.⁵⁴ (6160 HIV-Patienten aus der Schweiz) ist das Risiko, im Verlauf der HIV-Erkrankung eine aktive TB zu entwickeln, besonders hoch bei Patienten aus Afrika (adjustierte Risiko-Rate 2,93), bei Patienten aus Sub-Sahara Afrika (hazard ratio 5,8), bei einer CD4-Zellzahl unter 200/ μ l (adjustierte Risiko-Rate 3,4) und bei unzureichender virologischer Kontrolle bzw. fehlender HAART. Diese genannten Risikofaktoren lagen in unserem Untersuchungskollektiv in deutlich höherer Ausprägung vor, als in den Studien von Aichelburg, Brock und Stephan et al. (siehe auch Tabelle 8): 36 % der hier untersuchten Patienten hatten initial eine CD4-Zellzahl unter 200/ μ l, 35 % stammten aus TB-Hochendemiegebieten und 66 % hatten keine ausreichende virologische Kontrolle (das heißt eine Viruslast > 50 Kopien/ml). Somit ist das TB-Risiko in dieser Kohorte deutlich höher einzuschätzen als in den eben genannten Studien aus Wien, Frankfurt und Dänemark.

Trotzdem entwickelte keiner der untersuchten 185 Patienten während des Beobachtungszeitraums eine aktive TB. Hier bestand kein Unterschied zwischen den Patienten mit negativem, positivem oder indeterminantem T-SPOT- oder Hauttest-Ergebnis. Bei Aichelburg et al. erkrankten innerhalb des ersten Jahres nach IGRA-Testung 3 von 830 Patienten an einer TB, bei Brock et al. 2 von 590 Patienten und bei Stephan et al. keiner von 286 Patienten.

Die ausgebliebenen aktiven TB-Fälle in unserem Kollektiv lassen sich zum einen durch die, im Vergleich zu den Studien von Aichelburg und Brock, geringere Fallzahl erklären. Zusätzlich erhielten 8 Patienten eine effektive präventive Therapie (siehe 4.8.3). Es verbleiben jedoch 36 Patienten mit positivem IGRA oder THT ohne INH-Prävention, die im Verlauf keine aktive TB entwickelten.

Ein wesentlicher Faktor zur Verhinderung einer aktiven TB ist die rasche und effektive Einleitung einer HAART. Entsprechend den Ergebnissen von Elzi et al. und Grant et al. reduziert der Beginn einer HAART das TB-Risiko um ca. 50 %. Dieser protektive Faktor spielte im aktuellen Studienkollektiv sicherlich auch eine wesentliche Rolle zur Vermeidung von aktiven TB-Erkrankungen. Fast alle der initial schwer immunsupprimierten Patienten (siehe 3.1.2 und 3.4) erhielten eine HAART und im Nachbeobachtungszeitraum kam es zu einem hochsignifikanten Anstieg der CD4-Zellzahl und einem ebenfalls signifikanten Abfall der medianen Viruslast ($p = 0,0001$; siehe 4.8.1).

Verbindet man die Ergebnisse dieser Studie mit den Resultaten von Aichelburg, Brock, und Stephan et al. entwickelten von 1891 mit IGRAs untersuchten HIV-Patienten nur 5 IGRA positive Patienten innerhalb eines Jahres eine TB.

Prinzipiell erscheint ein LTB-Screening und eine präventive INH-Therapie sinnvoll. In Anlehnung an die Empfehlungen des British HIV Association stellt sich jedoch die Frage, ob in Anbetracht der nicht unwesentlichen INH-Hepatotoxizität und multipler Compliance-Probleme wirklich jeder HIV-Patient ein IGRA-Screening erhalten sollte. In der Tat decken sich die Erfahrungen von Aichelburg et al. mit den retrospektiven Daten von Elzi et al. und Grant et al., dass vor allem Patienten mit einer CD4-Zellzahl unter 350/ μ l von einem IGRA-Screening profitieren könnten. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass bei Patienten mit weniger als 200 CD4/ μ l beim QFT mit einer höheren Rate an falsch negativen Ergebnissen zu rechnen ist und basierend auf unserer Untersuchung der ELISPOT in dieser Situation und vor allem bei komorbiden HIV-Patienten Vorteile bietet (siehe 5.2.2.3). Alternativ könnte der QFT primär zum LTB-Screening bei Patienten mit < 200 CD4/ μ l verwendet werden, wobei negative oder indeterminate QFT-Ergebnisse durch einen T-SPOT in einem zweiten Schritt überprüft werden sollten.

Letztendlich besteht Bedarf an weiteren, großen, prospektiven IGRA-Studien in HIV-Kollektiven mit ausreichender Nachbeobachtungszeit, um Klarheit über den Stellenwert der IGRAs in der TB-Prävention in Niedrigprävalenzländern zu schaffen.

5.9. Schlussfolgerung

In der hier vorgestellten Studie wurde ein schwer immunsupprimiertes HIV-Kollektiv aus Berlin Mitte mit dem T-SPOT als IGRA untersucht. Betrachtet man die positiven T-SPOT-Ergebnisse besteht bei diesen HIV-Patienten eine hohe LTB-Prävalenz von 20,7 %. Bei Berliner Patienten aus TB-Hochprävalenzländern lag die Prävalenz bei 27,4 %. Erwartungsgemäß etwas niedriger, jedoch trotzdem mit 17,1 % überraschend hoch war die Rate positiver T-SPOT-Ergebnisse bei HIV-Patienten aus TB-Niedrigprävalenzländern. Bei der Stratifizierung nach der CD4-Zellzahl (ergo nach dem Schweregrad der Immunsuppression) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Rate positiver und negativer Ergebnisse. Auch in der PHA-Positivkontrolle und bezüglich der Spot-Anzahl nach ESAT-6/CFP-10-Stimulation fand sich keine Abhängigkeit von der CD4-Zellzahl. Somit konnte gezeigt werden, dass der T-SPOT aus immunologischer Sicht auch bei HIV-Patienten mit schwerer Immunsuppression eingesetzt werden kann und determinante Ergebnisse unabhängig von der CD4-Zellzahl reliabel erscheinen. Der Anteil indeterminanter Ergebnisse war erst ab einer CD4-Zellzahl unterhalb von 100/ μ l deutlich

erhöht.

Für den THT konnte eine deutliche Abhängigkeit zur Zellzahl CD4-positiver T-Lymphozyten gezeigt werden, sodass dessen Einsatz bei schwer immunsupprimierten HIV-Patienten infrage gestellt werden muss.

Obwohl nur 8 von 185 Patienten mit validen Testergebnissen eine präventive Therapie erhielten, entwickelte keiner der 185 Patienten innerhalb der Nachbeobachtungszeit von fünfeinhalb Jahren eine aktive TB. Somit konnte auch kein negativ oder positiv prädiktiver Wert für die Entwicklung einer aktiven TB bestimmt werden.

Entsprechend den aktuellen Empfehlungen des Deutschen Zentralkomitees zur Bekämpfung der TB sollte jeder HIV-Patient auf das Vorliegen einer LTb mittels IGRA getestet und im Falle eines positiven Ergebnisses präventiv behandelt werden. Die Studienergebnisse von Aichelburg et al. und Brock et al. unterstützen diese Empfehlung.

In Anbetracht der relevanten INH-Hepatotoxizität, möglicher Medikamenteninteraktionen, häufigen Compliance-Problemen und der ausgeprägten TB-präventiven Wirkung der HAART stellt sich jedoch die Frage, ob der Fokus der IGRA-LTB-Diagnostik nicht vielmehr auf TB-Hochrisikopatienten (Patienten aus Hochendemiegebieten bzw. Patienten mit schlechter Immunität ohne HAART) gerichtet werden sollte. Des Weiteren ist zu diskutieren, zu welchem Zeitpunkt ein solches IGRA-Screening durchgeführt werden und wann die Präventivtherapie optimalerweise erfolgen sollte.

Die hier erhobenen Daten unterstützen die Auffassung, dass HAART und die dadurch bedingte rasche Verbesserung der immunologischen Situation wesentliche Bestandteile der TB-Prophylaxe sind. Ob eine frühzeitige und effektive HAART das TB-Reaktivierungsrisiko allein ausreichend reduziert und die Notwendigkeit der LTb-Diagnostik partiell (z.B. bei Patienten aus Niedrigendemieländern mit HAART und CD4-Zellzahl über 350/ μ l) in Frage stellt, kann nur durch große und prospektive Studien mit ausreichender Nachbeobachtungszeit beurteilt werden.

6. Anhang

6.1. Abkürzungen

AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
AIM-V	Serum-freies Medium
BCG	Bacillus-Calmette-Guérin
CCR5	CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5
CXCR4	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4
CD4-Zellen	CD4-positive T-Lymphozyten
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CFP-10	Culture filtrate protein
Chemoth.	Chemotherapie
CMV	Cytomegalie-Virus
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ELISPOT	Enzyme-linked Immunospot
ESAT-6	Early secretory antigenic target-6
HAART	highly active antiretroviral therapy
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
IFN-gamma	Interferon-Gamma
IGRA	Interferon-Gamma Release Assay
INH	Isoniazid
IRIS	Immune reconstitution inflammatory syndrome
KI	Konfidenzintervall
log	Logarithmus
LTB	latente Tuberkulose-Infektion
MAI	Mycobacterium avium intracellulare
MTB	Mycobacterium tuberculosis
Nierenins.	Niereninsuffizienz
NHL	Non Hodgkin Lymphom
NPL	Niedrigprävalenzland
NPV	negative predicitive value; negativ prädiktiver Wert
NNRTI	Nichtnukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitoren
NTM	Nichttuberkulöse Mykobakterien
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells
PBS	Phosphate buffered saline
PJP	Pneumocystis jirovecii Pneumonie
PHA	Phytohaemagglutinin
PJ	Personenjahre
PML	Progressive multifokale Leukenzephalopathie
PPD	Purified protein derivate

PPV	Positiv prädiktiver Wert (positive predicitive value)
QFT	QuantiFERON-TB Gold®
RD1, RD11	Region of difference
RNA	Ribonukleinsäure
RPMI	Roswell Park Memorial Institute, Zellkulturmedium für Leukozyten
spp.	Subspezies
TB	Tuberkulose
T-SPOT	T-SPOT.TB®
THT	Tuberkulin-Hauttest
VL	Viruslast
ZNS	Zentralnervensystem
WHO	World Health Organisation; Weltgesundheitsorganisation

6.2. Literatur

- ¹ Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), World AIDS day report 2011, Geneva, 2011
- ² Global Tuberculosis Control 2011. World Health Organization, Geneva, 2011
- ³ Meinlschmidt G, Senatsverwaltung für Gesundheit, Umwelt und Verbraucherschutz (Hrsg.): Gesundheitsberichterstattung Berlin, Spezialbericht: Sozialstrukturatlas Berlin 2008. Berlin, 2009.
- ⁴ Bericht zur Epidemiologie der Tuberkulose in Deutschland für 2009, Robert Koch-Institut, Berlin, 2011
- ⁵ Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Reported HIV status of tuberculosis patients - United States, 1993-2005. *Morb Mortal Wkly Rep* 2007;56:1103-6
- ⁶ Decludt B, Campese C. Les cas de tuberculose déclarés en France 2000. *Bull Epidemiol Hebd* 2002;16:68-70.
- ⁷ Diel R, Schneider S, Meywald-Walter K, et al. Epidemiology of Tuberculosis in Hamburg, Germany: Long Term Population Based Analysis Applying Classical and Molecular Epidemiological Techniques. *J Clin Microbiol* 2002;40:532-539.
- ⁸ Sester M, Sotgiu G, Lange C, et al. Interferon- γ release assays for the diagnosis of active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir Journal*. 2011;37:100-111.
- ⁹ Liebeschuetz S, Bamber S, Ewer K, et al. Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T-cell-based assay: a prospective cohort study. *Lancet* 2004; 364:2196-203.
- ¹⁰ Pollock JM, Andersen P. The potential of the *esat-6* antigen secreted by virulent mycobacteria for specific diagnosis of tuberculosis. *J Infect Dis* 1997;175:1251-1254.
- ¹¹ Diel R, Goletti D, Ferrara G, et al. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J*. 2011;37:88-99.
- ¹² Fisk TL, Hon HM, Lennox JL, et al. Detection of latent tuberculosis among HIV-infected patients after initiation of highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2003;17:1102-1104.
- ¹³ Chapman AL, Munkanta M, Wilkinson KA, et al. Rapid detection of active and latent tuberculosis infection in HIV-positive individuals by enumeration of Mycobacterium tuberculosis-specific T cells. *AIDS* 2002;16:2285-2293.
- ¹⁴ Rangaka MX, Wilkinson KA, Seldon R, et al. Effect of HIV-1 infection on T-Cell-based and skin test detection of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:514-20.
- ¹⁵ Jones S, de Gijzel D, Wallach FR, et al. Utility of QuantiFERON-TB Gold in-tube testing for latent TB infection in HIV-infected individuals. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007;11:1190-1195.
- ¹⁶ Luetkemeyer AF, Charlebois ED, Flores LL, et al. Comparison of an interferon gamma release assay to tuberculin skin testing in HIV-infected individuals. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:737-742.
- ¹⁷ Leidl L, Mayanja-Kizza H, Sotgiu G, et al. Relationship of immunodiagnostic assays for tuberculosis and numbers of circulating CD4+ T-cells in HIV infection. *Eur Respir J* 2010;35:619-26.
- ¹⁸ Aichelburg MC, Rieger A, Breitenecker F, et al. Detection and prediction of active tuberculosis disease by a whole-blood interferon-gamma release assay in HIV-1-infected individuals. *Clin Infect Dis*. 2009;48:954-962.
- ¹⁹ Schaberg T, Bauer T, Castell S, et al. Empfehlungen zur Therapie, Chemoprävention und Chemoprophylaxe der Tuberkulose im Erwachsenen- und Kindesalter, *Pneumologie* 2012;66:133-171.
- ²⁰ Egger M (2007). Outcomes of ART in Resource-limited and Industrialized Countries. 14th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections February 25-28, 2007. Abstract 62. Los Angeles, CA.
- ²¹ Ackah AN, Coulibaly D, Digbeu H, et al. Response to treatment, mortality and CD4 lymphocyte counts in HIV-infected persons with tuberculosis in Abidjan, Côte d'Ivoire. *Lancet* 1995;345:607-10.

- ²² Barnes PF, Bloch AB, Davidson PT, Snider DE. Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1991;324:1644.
- ²³ American Thoracic Society. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:221-247.
- ²⁴ Markowitz N, Hansen NI, Hopewell PC, et al. Incidence of tuberculosis in the United States among HIV-infected persons. *Ann Intern Med* 1997;126:123-132.
- ²⁵ Ferebee SH. Controlled chemoprophylaxis trials in tuberculosis: a general review. *Adv Tuberc Res* 1970;17:28-106.
- ²⁶ Cohn DL, El-Sadr WM. Treatment of latent tuberculosis infection. In: Reichman LB, Hershfield E, eds. *Tuberculosis: a comprehensive international approach*. 2nd ed. New York, USA: Marcel Dekker, 2000:471-502.
- ²⁷ Selwyn PA, Sckell BM, Alcabes P, Friedland GH, Klein RS, Schoenbaum EE. High risk of active tuberculosis in HIV infected drug users with cutaneous anergy. *JAMA* 1992;268:504-509.
- ²⁸ Selwyn PA, Hartel D, Lewis VA, et al. A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1989;320:545-550.
- ²⁹ Pablos-Mendez A, Blustein J, Knirsch CA. The role of diabetes mellitus in the higher prevalence of tuberculosis among Hispanics. *Am J Public Health* 1997;87:574-9.
- ³⁰ Geng E, Kreiswirth B, Driver C, et al. Changes in the transmission of tuberculosis in New York city from 1990 to 1999. *N Engl J Med* 2002;346:1453-1458.
- ³¹ Nienhaus A. Tuberkulose im Gesundheitswesen. *Pneumologie* 2009;63:23-30.
- ³² Marchal G. Pathophysiology and immunology of tuberculosis. *Rev Mal Respir* 1997;14:19-26.
- ³³ Havlir DV, Barnes PT. Current concepts: Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1999;340:367-373.
- ³⁴ Selwyn PA, Hartel D, Lewis VA, et al. A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1989;320:545-550.
- ³⁵ Sonnenberg P, Glynn JR, Fielding K, Murray J, Godfrey-Faussett P, Shearer S. How soon after infection with HIV does the risk of tuberculosis start to increase? A retrospective cohort study in South African gold miners. *J Infect Dis* 2005;191:150-8.
- ³⁶ Corbett EL, Charalambous S, Moloji VM, et al. Human immunodeficiency virus and the prevalence of undiagnosed tuberculosis in African gold miners. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:673-9.
- ³⁷ Daley CL, Small PM, Schechter GF, et al. An outbreak of tuberculosis with accelerated progression among persons infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1992;326:231-235.
- ³⁸ Gandhi NR, Moll A, Sturm AW, et al. Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa. *Lancet* 2006;368:1575-80.
- ³⁹ López-Gatell H, Cole SR, Hessel NA, et al. Effect of tuberculosis on the survival of women infected with human immunodeficiency virus. *Am J Epidemiol* 2007;165:1134-1142.
- ⁴⁰ Badri M, Ehrlich R, Wood R, Pulerwitz T, Maartens G. Association between tuberculosis and HIV disease progression in a high tuberculosis prevalence area. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001 Mar;5:225-32.
- ⁴¹ Toossi Z, Mayanja-Kizza H, Hirsch CS, et al. Impact of tuberculosis on HIV-1 activity in dually infected patients. *Clin Exp Immunol* 2001;123:233-238.
- ⁴² Vanham G, Edmonds K, Qing L, et al. Generalized immune activation in pulmonary tuberculosis: co-activation with HIV infection. *Clin Exp Immunol* 1996;103:30.
- ⁴³ Wolday D, Tegbaru B, Kassu A, et al. Expression of chemokine receptors CCR5 and CXCR4 on CD4+ T cells and plasma chemokine levels during treatment of active tuberculosis in HIV-1-coinfected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;39:265.

- ⁴⁴ Garrait V, Cadranel J, Esvant H, et al. Tuberculosis generates a microenvironment enhancing the productive infection of local lymphocytes by HIV. *J Immunol* 1997;159:2824-2830.
- ⁴⁵ Whalen C, Horsburgh R, Hom D, Lahart C, Simberkoff M, Ellner JJ. Accelerated course of human immunodeficiency virus infection after tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;151:129-135.
- ⁴⁶ Smith RL, Yew K, Berkowitz KA, Aranda CP. Factors affecting the yield of acid-fast sputum smears in patients with HIV and tuberculosis. *Chest* 1994;106:684-686.
- ⁴⁷ Jones BE, Young SM, Antoniskis D, et al. Relationship of the manifestations of tuberculosis to CD4 cell counts in patients with human immunodeficiency virus infection. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:1292-1297.
- ⁴⁸ Perronne C, Zahraoui M, Leport C, et al. Tuberculosis in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Presse Med* 1988;17:1479-1483.
- ⁴⁹ Palomino JC, Leão SC, Ritacco V, et al. Tuberculosis 2007. From basic science to patient care. Online Textbook verfügbar unter: <http://www.freebooks4doctors.com/pdf/tuberculosis2007.pdf> zuletzt am 01.11.2012.
- ⁵⁰ Aaron L, Saadoun D, Calatroni I, et al. Tuberculosis in HIV-infected patients: a comprehensive review. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:388-398.
- ⁵¹ Perlman DC, El-Sadr WM, Nelson ET, et al. Variation of chest radiographic patterns in pulmonary tuberculosis by degree of human immunodeficiency virus-related immunosuppression. *Clin Infect Dis* 1997;25:242-246.
- ⁵² Bouza E, Dí-L MD, Moreno S, Bernaldo de Quirós JC, Vicente T, Berenguer J. Mycobacterium tuberculosis bacteremia in patients with and without human immunodeficiency virus infection. *Arch Intern Med* 1993;153:496-500.
- ⁵³ Shafer RW, Goldberg R, Sierra M, Glatt AE. Frequency of Mycobacterium tuberculosis bacteremia in patients with tuberculosis in area endemic for AIDS. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:1611-1613.
- ⁵⁴ Elzi L, Schlegel M, Weber R, et al. Reducing Tuberculosis Incidence by Tuberculin Skin Testing, Preventive Treatment and Antiretroviral Therapy in an Area of Low Tuberculosis Transmission. *Clin Infect Dis* 2007;44:94-102.
- ⁵⁵ Girardi E, Palmieri F, Cingolani A, et al. Changing clinical presentation and survival in HIV-associated tuberculosis after highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;26:326-31.
- ⁵⁶ Girardi E, Sabin CA, d'Arminio Monforte A, et al. Incidence of tuberculosis among HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy in Europe and North America. *Clin Infect Dis* 2005;41:1772-82.
- ⁵⁷ Nahid P, Gonzalez LC, Rudoy I, et al. Treatment outcomes of patients with HIV and tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:1199-206.
- ⁵⁸ Severe P, Leger P, Charles M, et al. Antiretroviral therapy in a thousand patients with AIDS in Haiti. *N Engl J Med* 2005;353:2325-33.
- ⁵⁹ Leonard MK, Larsen N, Drechsler H, et al. Increased survival of persons with tuberculosis and human immunodeficiency virus infection, 1991–2000. *Clin Infect Dis* 2002;34:1002–1007.
- ⁶⁰ Lawn SD, Badri M, Wood R. Tuberculosis among HIV-infected patients receiving HAART: long term incidence and risk factors in a South African cohort. *AIDS*. 2005 Dec 2;19:2109-16.
- ⁶¹ Lawn SD, Bekker LG, Wood R. How effectively does HAART restore immune responses to Mycobacterium tuberculosis? Implications for tuberculosis control. *AIDS* 2005;19:1113–1124.
- ⁶² Michailidis C, Pozniak AL, Mandalia S, et al. Clinical characteristics of IRIS syndrome in patients with HIV and tuberculosis. *Antivir Ther* 2005;10:417-22.
- ⁶³ Hopewell PC, Pai M, Maher D, Uplekar M, Ravigliione MC. International standards for tuberculosis care. *Lancet Infect Dis* 2006;6:710-725.

- ⁶⁴ Dowdy DW, Chaisson RE, Moulton LH, Dorman SE. The potential impact of enhanced diagnostic techniques for tuberculosis driven by HIV: a mathematical model. *AIDS* 2006;20:751-762.
- ⁶⁵ Chaisson RE, Martinson NA. Tuberculosis in Africa – Combating an HIV-Driven Crisis. *New Eng J Med* 2008;358:1089-1092.
- ⁶⁶ American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America: Controlling Tuberculosis in the United States. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;17:1169-1227.
- ⁶⁷ Centers for Disease Control and Prevention. Revised classification system for HIV infection and an expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR Recomm Rep* 1993;41:1-19.
- ⁶⁸ Altman DG. *Practical Statistics for Medical Research*. London, England: Chapman & Hall/CRC;1991.
- ⁶⁹ HIV/AIDS in Berlin - Eckdaten. Epidemiologische Kurzinformation des Robert-Koch-Instituts Stand: Ende 2007. Robert-Koch-Institut, Berlin, 2007
- ⁷⁰ Epidemiologisches Bulletin. HIV Infektion und AIDS-Erkrankungen in Deutschland. Halbjahresbericht I/ 2007 Sonderausgabe B. Berlin, Deutschland: Robert Koch Institut 2007.
- ⁷¹ Brock I, Ruhwald M, Lundgren B, Westh H, Mathiesen LR, Ravn P. Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the M. Tuberculosis specific interferon-gamma test. *Respir Res* 2006;7:56-64.
- ⁷² Stephan C, Wolf T, Goetsch U, 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;22:2471–2479.
- ⁷³ Talati NJ, Seybold U, Humphrey B, et al. Poor concordance between interferon-gamma release assays and tuberculin skin tests in diagnosis of latent tuberculosis infection among HIV-infected individuals. *BMC Infect Dis* 2009;9:15.
- ⁷⁴ Barsegian V, Mathias KD, Wrighton-Smith P, Grosse-Wilde H, Lindemann M. Prevalence of latent tuberculosis infection in German radiologists. *J Hosp Infect* 2008;69, 69-76.
- ⁷⁵ Nienhaus A. Tuberculosis in Healthcare Workers. *Pneumologie* 2009;63:23-30.
- ⁷⁶ Nienhaus A, Schablon A, Loddenkemper R, Hauer B, Wolf N, Diel R. Prevalence of Latent Tuberculosis Infection in Healthcare Workers in Geriatric Care. *Pneumologie* 2007;61;613–617.
- ⁷⁷ Kralj N, Hofmann F, Michaelis M. Zur Methodik der Tuberkulosefrüherkennung bei arbeitsmedizinischen Vorsorgeuntersuchungen im Gesundheitsdienst. *Arbeitsmed Sozialmed Umweltmed* 1997;32:50–54.
- ⁷⁸ Jahresbericht 2006 der Nationalen Referenzzentrale für Tuberkulose. Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit. Wien, Österreich: 2006.
- ⁷⁹ Bericht zur Epidemiologie der Tuberkulose in Deutschland für 2006, Robert Koch-Institut, Berlin, 2008
- ⁸⁰ Schaberg T, Hauer B, Haas WH, et al. Latente tuberkulöse Infektion: Empfehlungen zur präventiven Therapie bei Erwachsenen in Deutschland. *Pneumologie* 2004;58:255-270.
- ⁸¹ Hanrahan CF, Golub JE, Mohapi L, et al. Body mass index and risk of tuberculosis and death. *AIDS* 2010 Jun 19;24:1501-8.
- ⁸² Dworkin MS, Williamson JM. AIDS wasting syndrome: trends, influence on opportunistic infections, and survival. *J AIDS* 2003;33:267-73.
- ⁸³ Tang AM, Forrester J, Spiegelman D, et al. Weight loss and survival in HIV-positive patients in the era of highlyactive antiretroviral therapy. *J AIDS* 2002;31:230-6.
- ⁸⁴ Duggal MS, Chugh TD, Duggal AK. HIV and malnutrition: effects on immune system. *Clin Dev Immunol* 2012;2012, Article ID 784740.
- ⁸⁵ Thomas TA, Mondal D, Noor Z, et al. Malnutrition and helminth infection affect performance of an interferon gamma-release assay. *Pediatrics*. 2010;126:e1522-e1529.

⁸⁶ Shu CC, Wu VC, Yang FJ, et al. Predictors and prevalence of latent tuberculosis infection in patients receiving long-term hemodialysis and peritoneal dialysis. *PLoS ONE* 7: e42592

⁸⁷ Diel R, Loddenkemper R, Niemann S, Meywald-Walter K, Nienhaus A. Negative and Positive Predictive Value of a Whole-Blood Interferon- γ Release Assay for Developing Active Tuberculosis: An Update *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011;183:88-95.

⁸⁸ Kik SV, Franken WPJ, Mensen M, et al. Predictive value for progression to tuberculosis by IGRA and TST in immigrant contacts. *Eur Respir J* 2010;35:1346–1353.

⁸⁹ Yoshiyama T, Harada N, Higuchi K, Sekiya Y, Uchimura K. Use of the QuantiFERON®-TB Gold test for screening tuberculosis contacts and predicting active disease. *Int J Tuberc Lung Dis* 14:819–827.

⁹⁰ Nienhaus A, Schablon A, Tripodi D, Torres Costa J. Prävalenz der latenten Tuberkulose-Infektion bei Beschäftigten im Gesundheitswesen - Ein Dreiländervergleich. *Pneumologie* 2011;65:726-729.

⁹¹ Pozniak AL, Coyne KM, Miller RF, et al. British HIV Association guidelines for the treatment of TB/HIV coinfection 2011. *HIV Med.* 2011 Oct;12:517-24.

⁹² Grant AD, Bansi L, Ainsworth J, et al. Tuberculosis among people with HIV infection in the United Kingdom: opportunities for prevention? *AIDS.* 2009 Nov 27;23:2507-15.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Katrin Ziemann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Einsatz eines Interferon-Gamma-Release-Assays in der Diagnostik der latenten Tuberkulose bei schwer immunsupprimierten HIV-Patienten selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum
11.12.2013

Unterschrift

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Norbert Suttorp gilt mein herzlicher Dank für die fachliche Betreuung der Arbeit.

Ganz besonders möchte ich mich bei Dr. Holger Flick für die so ausdauernde, engagierte und freundschaftliche Unterstützung als Betreuer meiner Doktorarbeit bedanken. Ohne seine Impulse und Anregungen, tatkräftige Arbeit und fachliche Expertise, nicht selten an langen und späten Abenden, wäre diese Arbeit nie entstanden und sicherlich niemals fertig geworden.

Frau Ute Gläser und Cüneyt Acar aus dem infektiologischen Labor möchte ich für die stets herzliche Hilfe bei der Laborarbeit danken.

Die Ärztinnen und Ärzte der Klinik für Infektiologie haben mit Ihrem Engagement die Bedingungen für diese Arbeit geschaffen, insbesondere gilt hier mein Dank Frau Dr. Simone Rosseau, Dr. Frank Bergmann, Frau Dr. Sandra Frisch, Hans Wesselmann und Dr. Dirk Schürmann.

Frau Dr. Stephanie Roll und Herr PD Dr. Thomas Keil aus dem Institut für Sozialmedizin, Epidemiologie und Gesundheitsökonomie möchte ich für die geduldige und wiederholte Beratung hinsichtlich des Studiendesigns und statistischer Fragen danken.

Herzlicher Dank gebührt auch Frau Dr. Eva Lett als Lektorin dieser Arbeit.

Meinen Eltern gebührt der Dank für die Ermöglichung eines sorgenfreien Studiums. Ganz besonders herzlicher Dank gilt meinem Mann Tobias, dessen Liebe und Unterstützung über so viele Jahre diese Arbeit erst möglich gemacht haben.