

Rob van Hest

arts tbc-bestrijding, GGD Rotterdam-Rijnmond en GGD Groningen

Bert Mulder

arts-microbioloog, Laboratorium voor microbiologie Twente-Achterhoek.

Controversen bij serieel testen met interferon-gamma release assay

De afgelopen jaren is er veel discussie ontstaan over het gebruik van de interferon-gamma release assays (IGRA's) bij de periodieke screening van gezondheidswerkers. De testuitslagen blijken bij serieel testen vaak te zwabberen rond het afkappunt, zonder dat er sprake is van een infectie of een infectiemoment. Auteurs beschreven vorig jaar in het Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie deze controversen (1) en hebben voor Tegen de Tuberculose het artikel samengevat.

Screening op LTBI

Voor screening op latente tuberculose infectie (LTBI) zijn de tuberculine-huidtest (THT) of mantoux-test en meer recent, de interferon-gamma release assays (IGRA's) beschikbaar (2), te weten de Quantiferon®-test, een ELISA, en de T-spot.TB®-test, een ELISPOT.

IGRA-testen hebben het enorme voordeel boven de THT dat zij geen enkele (kruis)reactiviteit vertonen met *Mycobacterium bovis*-BCG of de meeste non-tuberculeuze mycobacteriën, omdat zij zijn gebaseerd op de specifieke antigenen ESAT-6, CFP-10 en TB7.7 van *M. tuberculosis*, met andere woorden de IGRA-test is veel specifiekere dan de THT. Hierbij moet wel worden aangetekend dat de IGRA-antigenen ook voorkomen in enkele non-tuberculeuze mycobacteriumsoorten, met name *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. szulgai* en *M. flavescens*.

Voor een THT zijn een ervaren 'zetter' en 'lezer' nodig (en een tweede bezoek) en er kunnen meetfouten voorkomen. Voor een IGRA is slechts een bezoek voldoende en zijn menselijke leesfouten uitgesloten maar de 'afnemer' dient bekend te zijn met het krachtig schudden van de Quantiferon®-buis, en de testbuis en de twee controlebuizen dienen binnen een bepaalde tijd in het laboratorium te worden verwerkt.

Zowel de THT als de IGRA kan fout-negatief zijn bij mensen met T-cellulaire immuunstoornissen, maar de IGRA, vooral de T-Spot.TB®-test, lijkt hier minder gevoelig voor te zijn, omdat de T-Spot.TB®-test werkt met een gestandaardiseerd aantal T-cellen in de ELISPOT 'wells'.

Bij de periodieke screening met de THT zonder duidelijke risicomomenten voor infectie met *M. tuberculosis* zijn conversies, dat wil zeggen een omslag van negatief naar positief ('boosting') en spontane reversies, dat wil zeggen een omslag van positief naar negatief beschreven. Als ex-vivotest kunnen herhaalde IGRA's elkaar niet boosten maar een THT langer dan zeven dagen voor afname van de IGRA kan dat wel (3). Leyten et al. hebben dit ook in Nederland beschreven en momenteel wordt aanbevolen om de IGRA af te nemen bij het aflezen van een (positieve) THT, omdat dit drie dagen na het 'zetten' gebeurt (4).

Landen hanteren verschillende strategieën voor screening van gezondheidswerkers: in de Verenigde Staten wordt alleen de IGRA geadviseerd terwijl in het Verenigd Koninkrijk, Canada en Nederland een tweetrapsstrategie wordt geadviseerd: eerst een THT en daarna een IGRA ter validatie van positieve THT-uitslagen.

Testvariatie

Meestal worden de THT of IGRA slechts eenmaal gebruikt, bijvoorbeeld bij een contactonderzoek of een immigratiescreening. Bij periodieke screening van gezondheidswerkers worden de testen herhaaldelijk gebruikt en dat stelt extra eisen aan de test, in het bijzonder de mogelijke testvariatie. Hierbij kunnen we onderscheiden:

1. de 'herhaalbaarheid', dat wil zeggen hoe stabiel is de uitslag van een tweede test op hetzelfde monster in hetzelfde laboratorium;
2. de 'reproduceerbaarheid', dat wil zeggen hoe stabiel is de uitslag als hetzelfde monster in een ander laboratorium zou worden getest; en
3. de 'persoonlijke variatie', dat wil zeggen hoe stabiel zijn de uitslagen bij een persoon op verschillende momenten zonder risico voor infectie.

Bij herhalen van de Quantiferon®-test op hetzelfde monster in hetzelfde laboratorium werden onlangs 8 procent discordante uitslagen gevonden, dat wil zeggen van positief naar negatief of omgekeerd, voornamelijk rond het afkappunt van 0,35 interferon eenheden per milliliter (INF IE/ml) (5). Whitworth et al. vonden 7,7 procent discordantie bij hertesten van hetzelfde monster in verschillende laboratoria (6).

Periodieke screening met IGRA

Inmiddels is duidelijk geworden dat ook bij serieel uitvoeren van IGRA-testen interpretatieproblemen kunnen optreden bij uitslagen rond de afkapwaarde. In een grote studie met acht seriële IGRA-testen in minder dan drie maanden, gecombineerd met een THT, beschreven Van Zyl-Smit et al. het fenomeen van 'zwabberen rond het afkappunt'

('wobbling around the cut-off'), dat wil zeggen het optreden van 'spontane' of 'testinherente' conversies en reversies (3). Hierdoor lijkt er een grijs gebied rond het afkappunt te bestaan (de 'borderline'- of 'uncertainty'-zone) waar de spontane variatie de interpretatie van de IGRA-uitslagen bemoeilijkt. Dit grijze gebied wordt vaak gedefinieerd als tussen 0,20 INF IE/ml en 0,70 INF IE/ml (7-9).

De conversies en reversies lijken vaker op te treden bij de IGRA vergeleken met de THT (10). Hiervoor zijn verschillende verklaringen gesuggereerd. Ten eerste zouden de T-'effector'-cellen van de IGRA gevoeliger zijn voor variatie dan de T-'memory'-cellen van de THT. Een tweede verklaring is variatie in laboratorium en testprocedures (bijvoorbeeld tijd tot incubatie). Een derde mogelijkheid is spontane eliminatie van de LTBI en een laatste verklaring is cyclische expressie in tijd van antigenen door *M. tuberculosis* (11).

Interpreteren in grijs gebied

Maar hoe dienen periodieke IGRA-uitslagen dan te worden geïnterpreteerd in dit grijs gebied? Om te beginnen is er de discussie wat een 'LTBI' nu eigenlijk is. Het is op zijn best een blijvende *M. tuberculosis*-immunrespons en niet noodzakelijk een echte latente infectie met levende micro-organismen en het potentiële risico om de ziekte tuberculose te ontwikkelen (8).

Vervolgens komt de vraag wat de definitie van een IGRA-conversie en IGRA-reversie is wanneer herhaalde IGRA-uitslagen instabiel kunnen zijn. Pai et al. beschrijven dat conversie van < 0,20 INF IE/ml naar meer dan 0,50 INF IE/ml het best past bij een 'echte' LTBI (12). Andere auteurs hanteren dezelfde ondergrens maar stellen dan weer dat conversie van

< 0,20 INF IE/ml naar meer 0,70 INF IE/ml het best past bij een 'echte' LTBI bij gezondheidswerkers (13). Ook de ondergrens van de fabrikant wordt beschreven in de literatuur: conversie van < 0,35 INF IE/ml naar meer dan 0,70 INF IE/ml past het best bij een 'echte' LTBI (3,7). Sommige auteurs stellen dat een waarde van meer dan 1,0 INF IE/ml suggestief is voor 'echte' LTBI bij gezondheidswerkers (9). Hoge IGRA-waarden zouden een betere positief voorspellende waarde hebben voor progressie van LTBI naar de ziekte tuberculose (13, 14).

Een recente studie onder 9.153 gezondheidswerkers in de Verenigde Staten liet zien dat het afkappunt van 0,35 INF IE/ml tot een overschatting van het aantal conversies leidt en significant dient te worden opgehoogd, tot wellicht 5,3 INF IE/ml om een vergelijkbare proportie omslagen te krijgen als in het verleden met de THT (15). Dorman et al. vonden onder 2.263 gezondheidswerkers in de Verenigde Staten dat het verhogen van het afkappunt van 0,35 INF IE/ml naar 1,00 INF IE/ml het aantal IGRA-conversies al sterk verlaagde (van 6,1% naar 1,5%), maar dan nog steeds hoger bleef dan THT-omslagen (10).

Het verhogen van het afkappunt zal de sensitiviteit voor de detectie van werkelijk geïnfecteerden verlagen, maar dit moet worden gezien in de context van een kans om ziek te worden na een LTBI van ten hoogste 10 procent bij immunocompetente gezondheidswerkers.

Ten slotte wordt voorgesteld om voor IGRA-uitslagen een risicostratificatie met betrekking tot het afkappunt te gebruiken, in analogie aan de THT waar voor hoog, gemiddeld en laag risico respectievelijk afkappunten van 5 mm, 10 mm en 15 mm werden gehanteerd.


Richtlijnen

Recent is een samenvatting verschenen van een meeting in Atlanta van een groep Amerikaanse experts over de variatie rond het afkappunt bij de toepassing van seriële IGRA-testen (16). Er bestaat grote behoefte aan nationale richtlijnen om de onverschillige grote hoeveelheid positieve IGRA-resultaten bij serieel testen in laagrisicopopulaties goed te begeleiden en effectief te onderscheiden van recent geïnfecteerden. Onlangs zijn in Nederland richtlijnen verschenen met betrekking tot het screenen van ziekenhuismedewerkers en andere contactgroepen (17, 18).

Wel is duidelijk dat de interpretatie van IGRA-uitslagen bij periodieke screening van gezondheidswerkers moet worden voorbehouden aan een (beperkte) groep deskundigen met specifieke expertise met deze materie. Dit geldt overigens ook voor het gebruik van IGRA's bij contactonderzoek bij jonge kinderen (< 5 jaar oud), pre-TNF-alfablokkerende medicatiescreening of pre-organtransplantatiescreening. In deze (klinische) context dient geen 'uncertainty'-zone te worden gehanteerd en wordt 'boosting' soms juist gestimuleerd om tot een maximale sensitiviteit van het onderzoek te komen.

Conclusies

Er bestaan nog steeds controversen bij de screening op LTBI en actieve tuberculose bij gezondheidswerkers. Verder onderzoek naar de betekenis van conversies en reversies van de IGRA's, in het bijzonder testuitslagen rond het afkappunt, is noodzakelijk. In de tussentijd dienen laboratoria een volledige IGRA-uitslag te geven aan de aanvrager, dat wil zeggen de absolute uitslag in INF IE/ml en niet alleen 'positief' of 'negatief', waarbij ook de uitslag van de mitogene buis bijdragend is, zeker in geval van

mogelijke immuunstoornissen. Periodieke uitslagen rond het afkappunt dienen kritisch te worden beoordeeld binnen de (klinische) context. Omdat bij de screening van gezondheidswerkers geen 'boosting' gewenst is, dient de IGRA bij de tweetrapsstrategie op de dag van het aflezen van de positieve THT-reactie te worden afgenomen. 

Literatuur

1. Van Hest R, Mulder B. Controversen bij de screening op tuberculose bij laboratoriumpersoneel en andere werkers in de gezondheidszorg. *Ned Tijdschr Med Microbiol.* 2014;22:48–51.
2. Pai M, Denkinger CM, Kik SV, et al. Gamma interferon release assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Microbiol Rev.* 2014 Jan;27(1):3–20.
3. Van Zyl-Smit RN, Pai M, et al. Within-subject variability and boosting of T-cell interferon-gamma responses after tuberculin skin testing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009 Jul 1;180(1):49–58.
4. Leyten EMS, Prins C, Bossink AWJ, et al. Effect of tuberculin skin testing on a *Mycobacterium tuberculosis*-specific interferon-gamma assay. *Eur Respir J.* 2007 Jun;29(6):1212–6.
5. Metcalfe JZ, Cattamanchi A, McCulloch CE, et al. Test variability of the QuantiFERON-TB gold in-tube assay in clinical practice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013 Jan 15;187(2):206–11.
6. Whitworth WC, Hamilton LR, Goodwin DJ, et al. Within-subject interlaboratory variability of QuantiFERON-TB gold in-tube tests. *PLoS One.* 2012;7(9):e43790.
7. Ringshausen FC, Nienhaus A, Schablon A, et al. Predictors of persistently positive *Mycobacterium tuberculosis*-specific interferon-gamma responses in the serial testing of health care workers. *BMC Infect Dis.* 2010;10:220.
8. Schablon A, Harling M, Diel R, et al. Serial testing with an interferon-release assay in German healthcare workers. *GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär.* 2010;5(2).
9. Fong KS, Tomford JW, Teixeira L, et al. Challenges of interferon-release assay conversions in serial testing of health-care workers in a TB control program. *Chest.* 2012 Jul;142(1):55–62.
10. Dorman SE, Belknap R, Graviss EA, et al. Interferon-release assays and tuberculin skin testing for diagnosis of latent tuberculosis infection in health-care workers in the United States. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014 Jan 1;189(1):77–87.
11. Pai M, O'Brien R. Serial testing for tuberculosis: can we make sense of T cell assay conversions and reversions? *PLoS Med.* 2007 Jun;4(6):e208.
12. Pai M, Joshi R, Dogra S, et al. Serial testing of health care workers for tuberculosis using interferon-gamma assay. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174:349–55.
13. Andersen P, Doherty TM, Pai M, et al. The prognosis of latent tuberculosis: can disease be predicted? *Trends Mol Med.* 2007;13:175–82.
14. Diel R, Loddenkemper R, Meywald-Walter K, et al. Predictive value of a whole blood IFN-gamma assay for the development of active tuberculosis disease after recent infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008 May 15;177(10):1164–70.
15. Slater ML, Welland G, Pai M, et al. Challenges with QuantiFERON-TB Gold assay for large-scale, routine screening of U.S. healthcare workers. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013 Oct 15;188(8):1005–10.
16. Daley CL, Reves RR, Beard MA, et al. A summary of meeting proceedings on addressing variability around the cut point in serial interferon-release assay testing. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013 Jun;34(6):625–30.
17. CPT-richtlijn Tuberculosescreeningsbeleid ziekenhuismedewerkers. Den Haag; 2013.
18. CPT-richtlijn Tuberculosescreeningsbeleid contactgroepen (anders dan ziekenhuismedewerkers). Den Haag; 2014.