

tilfælde. Tuberkuløs perikarditis er en sjælden, men alvorlig komplikation i forbindelse med lunge-tb. Symptomerne er brystmerter, åndenød, hjertebanken og ankelødemer, som kan lindres med drænage af perikardievæsken. Ud over standardmedicinsk behandling anbefales kortikosteroid for at forhindre udvikling af konstriktiv perikarditis [14].

BEHANDLING

Behandling af eptb følger de samme principper som behandling af lunge-tb med enkelte undtagelser. Standardbehandling er en kombination af isoniazid, rifampicin, ethambutol og pyrazinamid i to måneder efterfulgt af isoniazid og rifampicin i fire måneder. Undtagelser er tuberkuløs meningitis, som anbefales behandlet i 9-12 måneder, og tb i knogler og led, hvor behandlingslængden ofte må øges på grund af langsomt respons, men der foreligger ikke gode undersøgelser, som giver et klart svar på behandlingslængden [15]. Systemisk glukokortikoid tillægges firstofs anti-tb-behandling ved tb i perikardiet og i centralnervesystemet for at reducere sequelae. Denne behandling kan også bruges ved miliær tb, hvis der er svær hypoksæmi [14].

KORRESPONDANCE: Niels Seersholm, Lungemedicinsk Afdeling Y, Gentofte Hospital, 2900 Hellerup. E-mail: seersholm@dadlnet.dk

ANTAGET: 8. februar 2011

INTERESSEKONFLIKTER: ingen

LITTERATUR

1. Tuberkulose 2008, del 1. EPI-nyt 2009;50.
2. Farah MG, Meyer HE, Selmer R et al. Long-term risk of tuberculosis among immigrants in Norway. *Int J Epidemiol* 2005;34:1005-11.
3. te Beek LA, van der Werf MJ, Richter C et al. Extrapulmonary tuberculosis by nationality, The Netherlands, 1993-2001. *Emerg Infect Dis* 2006;12:1375-82.
4. Ilgazli A, Boyaci H, Basyigit I et al. Extrapulmonary tuberculosis: clinical and epidemiologic spectrum of 636 cases. *Arch Med Res* 2004;35:435-41.
5. Nisar M, Williams CS, Davies PD. Experience of tuberculosis in immigrants from South East Asia – implications for the imminent lease back of Hong Kong. *Respir Med* 1991;85:219-22.
6. Kempainen R, Nelson K, Williams DN et al. Mycobacterium tuberculosis disease in Somali immigrants in Minnesota. *Chest* 2001;119:176-80.
7. Peto HM, Pratt RH, Harrington TA et al. Epidemiology of extrapulmonary tuberculosis in the United States, 1993-2006. *Clin Infect Dis* 2009;49:1350-7.
8. Golden MP, Vikram HR. Extrapulmonary tuberculosis: an overview. *Am Fam Physician* 2005;72:1761-8.
9. Dixit R, Nuwal P, Arya M. Splenic abscess as a paradoxical response to chemotherapy in tuberculous pleural effusion. *Ann Thorac Med* 2010;5:50-1.
10. Loddenkemper R. Thoracoscopy: results in non cancerous and idiopathic pleural effusions. *Poumon Coeur* 1981;37:261-4.
11. Chakrabarti B, Davies PD. Pleural tuberculosis. *Monaldi Arch Chest Dis* 2006;65:26-33.
12. Jain AK. Tuberculosis of the spine: a fresh look at an old disease. *J Bone Joint Surg Br* 2010;92:905-13.
13. Garg RK. Tuberculous meningitis. *Acta Neurol Scand* 2010;122:75-90.
14. Thwaites GE, Nguyen DB, Nguyen HD et al. Dexamethasone for the treatment of tuberculous meningitis in adolescents and adults. *N Engl J Med* 2004;351:1741-51.
15. Blumberg HM, Burman WJ, Chaisson RE et al. American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America: treatment of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:603-62.

Styrkelse af laboratorier er et nyt element i den globale tuberkulosekontrolstrategi

Vibeke Østergaard Thomsen¹, Didi Bang¹, Zaza Kamper-Jørgensen¹, Julie Prahll¹, Erik Michael Rasmussen¹, Dorte Bek Folkvardsen¹ & Niels Fridomdt-Møller²

Laboratorier er ofte de svage led i tuberkulose (tb)-kontrol-programmer globalt. Blandt de estimerede tilfælde af multiresistent (MDR) *Mycobacterium tuberculosis*, vurderer Verdenssundhedsorganisationen (WHO) at kun ca. 5% får sygdommen påvist ved undersøgelse af prøver fra et relevant sygdomsfocus [1]. Barrierer for laboratoriediagnostik inkluderer vanskelig transport af prøver og patienter, manglende laboratorier eller laboratorier uden relevante resurser såsom kvalitetssikret apparatur og reagenser samt trænet personale. I den globale plan for tb-kontrol i 2011-2015 anbefales nu en væsentlig styrkelse af laboratoriekomponenten i tb-kontrol-programmer og påvisning af tb-tilfælde ved dyrkning i de lande, hvor man har mulighed for det [2].

Trods etablering og udbygning af et netværk af såkaldte *WHO supranational TB reference laboratories*, et *global laboratory initiative*, en *laboratory strengthening task force*, offentliggørelse af *international standards for TB care* [3] og anbefalinger for *modern TB laboratory services* [4] er der stadig lang vej til universel adgang til laboratoriebaseret tb-diagnostik i verden. En blandt flere konsekvenser af dette er, at man i mange lande har ringe kendskab til udbredelsen af resistent *M. tuberculosis*, hvilket medfører øget smittetryk i samfundene med resistent *M. tuberculosis*, da den opstartede behandling ikke nødvendigvis er effektiv.

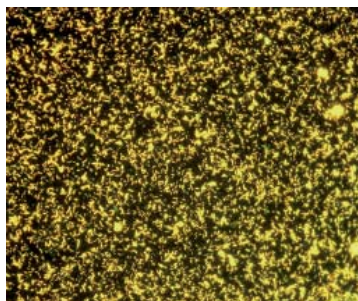
I Danmark giver centraliseret diagnostik med et rimeligt prøveantal mulighed for løbende at evaluere

STATUSARTIKEL

1) Mykobakteriologisk Laboratorium, Statens Serum Institut, og
2) Afdelingen for Mikrobiologisk Overvågning og Forskning, Statens Serum Institut

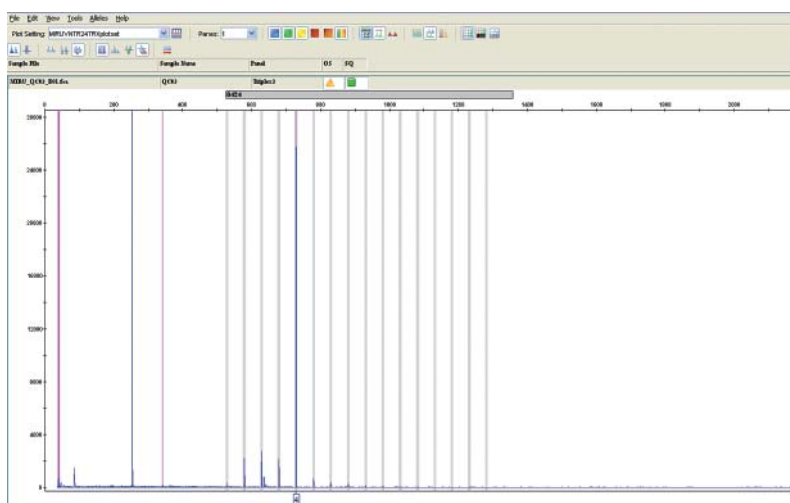
FIGUR 1

Syrefaste stave i ekspektorat, auramin-rhodamin-fluorescensfarvning (Mycobakteriologisk Laboratorium, Statens Serum Institut).



FIGUR 2

Mycobacteria interspersed repetitive units variable number of tandem repeats-analyse. Ud fra størrelsen af specifikke DNA-fragmenter kan antallet af gentagelser vurderes. I dette tilfælde er der fire gentagelser. Se også Tabel 1.



og eventuelt indføre nye metoder, og situationen er dermed ganske forskellig fra den, der kendes fra lavindkomstlande. I mange lande arbejdes der i øjeblikket på at centralisere diagnostikken.

På trods af udviklingen af nye teknikker har gamle metoder fortsat stor betydning i tb-diagnostikken. Med mikroskopi for syrefaste stave, der blev indført for over 100 år siden i Danmark, kan man identificere de patienter, der udskiller flest bakterier og anses for at være smittefarlige, og som derfor bør isoleres (Figur 1). Patienter med smittefarlig lunge-tb har – i forhold til patienter, der udskiller færre bakterier – en øget risiko for, at der udvikles resistens i løbet af behandlingen og/eller for at dø af sygdommen, og behandlingen af disse patienter bør således superiseres tæt.

En anden af de ældre teknikker, dyrkning for *M. tuberculosis* på selektive medier, evt. efter drab af an-

dre mikroorganismer i prøven, er specielt afgørende for diagnostikken ved prøver med få bakterier, som det f.eks. er tilfældet ved ekstrapulmonal tb. Trods løbende metodeforbedringer er diagnostik af pædiatrisk tb, pleuritis og meningitis stadig vanskelig. Dyrkning er fortsat en forudsætning for resistensbestemmelse og for påvisning af levende bakterier i behandlingsforløbet og dermed for vurdering af behandlingseffekt.

Siden slutningen af 1980'erne er der udført talrige evalueringer af nukleinsyreamplifikationsteknikker som f.eks. polymerasekædereaktion (PCR) til initial påvisning af *M. tuberculosis*-kompleks. Ved disse metoder har der generelt været en lavere sensitivitet end ved dyrkning ved den fordeling af prøvemateriale mellem analysen og guldstandard, som man på laboratorierne havde valgt til studierne [5]. Disse teknikker har derfor kun været et supplement til den indledende diagnostik.

I 2010 er der imidlertid blevet publiceret meget lovende resultater af en ny amplifikationsteknik [6]. Analysen har vist høj sensitivitet ved undersøgelse af store prøvolumina og tre konsekutive prøver. Med analysen har man samtidig påvist mutationer, der medfører rifampicinresistens. Selvom disse resultater giver optimisme for fremtiden, skal prøverne fortsat dyrkes, for at man kan udføre resistensbestemmelse for øvrige førstevalgs- og evt. andetvalgsstoffer. Metoden kan – som andre amplifikationsteknikker – ikke anvendes til at monitorere behandling med, idet der ikke skelnes mellem døde og levende bakterier.

WHO igangsatte i 1994 et globalt projekt til overvågning af resistent *M. tuberculosis* [7]. Et væsentligt led i dette projekt var standardisering af metoder og blindtest af fremsendte isolater i laboratorierne. I de efterfølgende år forbedredes laboratoriernes evne til at udføre korrekte resistensbestemmelser for førstevalgsstoffer væsentligt, hvilket har været afgørende for validiteten af den globale overvågning af MDR *M. tuberculosis* (rifampicin- og isoniazidresistent *M. tuberculosis*).

Nu er standardiseringen nået til andetvalgsstoffer, idet WHO har udsendt nye anbefalinger, som man i laboratorierne arbejder på at implementere [8]. Resistensbestemmelse for andetvalgsstoffer er basis for definitionen af ekstensiv resistent *M. tuberculosis*, som nu er defineret som multiresistent *M. tuberculosis* med yderligere resistens for et injicerbart stof (amikacin, kanamycin og/eller capreomycin) samt et fluoroquinolon.

Under tb-kombinationsbehandling kan der ofte opstå mistanke om nonadhærens, resistensudvikling, bivirkninger eller sygdom af anden genese, hvilket kan gøre det vanskeligt at vurdere behandlingseffekten.



TABEL 1

Mycobacteria interspersed repetitive units variable number of tandem repeats-analyse. Når antallet af gentagelser på alle steder er undersøgt, navngives smittekæderne. I dette eksempel har fem patienter tuberkulosesmitte-kæde 1144-17, og to patienter har den nært beslægtede smittekæde 1139-15, der har ændringer i loci nr 17 og 19 (kursiverede tal). Se også Figur 2.

ID	Smittekæde	Undersøgte loci i <i>Mycobacterium tuberculosis</i> -genomet											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
R09-0037	1144-17	2	2	4	2	1	3	1	2	2	4	2	4
R09-0044	1144-17	2	2	4	2	1	3	1	2	2	4	2	4
R09-0065	1139-15	2	2	4	2	1	3	1	2	2	4	2	4
R09-0231	1144-17	2	2	4	2	1	3	1	2	2	4	2	4
R09-0270	1144-17	2	2	4	2	1	3	1	2	2	4	2	4
R09-0282	1144-17	2	2	4	2	1	3	1	2	2	4	2	4
R09-0294	1139-15	2	2	4	2	1	3	1	2	2	4	2	4
		13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
		2401	2461	2531	2687	2996	3007	3171	3192	3690	4052	4156	4348
R09-0037	1144-17	2	2	5	1	4	3	2	3	6	4	2	2
R09-0044	1144-17	2	2	5	1	4	3	2	3	6	4	2	2
R09-0065	1139-15	2	2	5	1	5	3	3	3	6	4	2	2
R09-0231	1144-17	2	2	5	1	4	3	2	3	6	4	2	2
R09-0270	1144-17	2	2	5	1	4	3	2	3	6	4	2	2
R09-0282	1144-17	2	2	5	1	4	3	2	3	6	4	2	2
R09-0294	1139-15	2	2	5	1	5	3	3	3	6	4	2	2

I de seneste fem år er metoder til påvisning af mutationer, der medfører resistens for de vigtigste antituberkulose stoffer – rifampicin og isoniazid – udviklet til brug på fremdyrkede bakterier. På Mykobakteriologisk Laboratorium er flere af disse metoder blevet evalueret, og man har påvist, at metoderne kan anvendes på såvel bakterieisolater som på primære prøver, såfremt der er et tilstrækkeligt antal bakterier i prøven (mikroskopipositiv) [9-11]. WHO er efterfølgende nået til samme konklusion, og metoderne anbefales nu globalt. Metoderne giver mulighed for at opnå resultater på blot to dage (opsættes p.t. ugentligt). I øjeblikket evalueres en tilsvarende analyse til påvisning af mutationer, der koder for etambutol-, fluoroquinolon- og/eller aminoglykocidresistens.

I laboratoriet arbejdes der endvidere på at opsætte en analyse til bestemmelse af plasmakoncentrationerne af førstevalgsstofferne. Denne analyse kan anvendes til dosisindstilling af medicin, og er særligt relevant ved behandlingssvigt, alvorlig komorbiditet som f.eks. hiv eller alvorlige gastrointestinale eller metaboliske abnormaliteter.

Tb-smittekæder blev tidligere kortlagt i Danmark ved den såkaldte *restriction fragment length polymorphism* (RFLP)-metode. Det europæiske center for sygdomsforebyggelse og -kontrol (ECDC) og det tilsvarende amerikanske, Centers for Disease Control and Prevention, anbefaler nu i stedet en PCR-baseret metode *mycobacteria interspersed repetitive units variable number of tandem repeats* (MIRU-VNTR) til overvågning af smittekæder.

Ved MIRU-VNTR-analysen undersøger man antallet af gentagelser af et specifikt DNA-element på 24 loci i *M. tuberculosis*-kompleks-genomet (Figur 2 og Tabel 1). I Danmark anvendes den internationale navngivning, der kombinerer antallet af gentagelser på 15 loci efterfulgt af antallet af gentagelser på de sidste ni loci (f.eks. 1112-15, hvor 1112 koder for de første 15 loci og 15 koder for de sidste ni loci) [12]. Med denne metode har man samme mulighed for at skelne mellem smittekæder som med RFLP.

MIRU har som RFLP en række anvendelsesmuligheder, bl.a. i forbindelse med overvågning. Det tidligere RFLP-smittekæde-cluster 2 navngives ved MIRU-VNTR-analyse som 1112-15. Det er tidligere påvist, at patienterne i denne smittekæde diagnosticeres sent, og der er påvist en stigende andel danskere med denne smittekæde [13]. MIRU-VNTR-analyser for 2006-2010 og tidligere RFLP-analyser viser, at det absolutte antal patienter i denne smittekæde nu er på over 600 i perioden 1992-2010. I 1992 blev der påvist otte patienter, siden 2000 er der årligt påvist 32-54 patienter, der tilhører denne smittekæde.

MIRU anvendes tillige til kvalitetssikring, idet det er velkendt fra Danmark og andre lande, at der som led i prøvehåndteringen kan ske krydskontamination mellem patientprøver [14] eller prøveforbytning i hospitalsregi. Endelig benyttes MIRU-VNTR til europæisk overvågning af MDR *M. tuberculosis*, udredning af arbejdsbetinget eller nosokomial smitte og til vurdering af, om patienter er reinficeret eller har reaktiveret tidligere sygdom.



FAKTABOKS

I mange lande er laboratorier et svagt led i tuberkulose (tb)-kontrollen.

Mikroskopi og dyrkning er fortsat væsentlige analyser ved tb-diagnostik.

Centraliseret laboratediagnostik i Danmark giver mulighed for løbende evaluering af nye analyser:

- interferengammmapåvisning af infektion med *Mycobacterium tuberculosis*
- hurtig påvisning af resistensmutationer over for rifampicin og isoniazid i mikroskopipositive prøver
- bestemmelse af plasmakonzentration af primære antituberkuløse stoffer
- polymerasekædereaktionsbaseret *mycobacteria interspersed repetitive units variable number of tandem repeats*-subtypning af *M. tuberculosis* mhp. at følge smittekæder (anbefales internationalt).

Resultater fra rutinediagnostikken benyttes i tb-overvågningen, og der rapporteres nationalt og internationalt.

Danmark fik nyt nationalt tb-kontrolprogram i 2010.

Som led i de miljøundersøgelser, der udføres ved fund af tb, er der nu flere muligheder for påvisning af smitte. Mantoux' hudtest med tuberkulin kan nu erstattes eller suppleres med interferengammmapåvisning af *M. tuberculosis*-infektion i blodprøver, der stimuleres med *M. tuberculosis*-specifikke antigener. Denne mulighed er specielt relevant i tilfælde, hvor der er tale om tidligere BCG-vaccinerede, da der ikke er krydsreaktion med antigener fra vaccinstammen. Analysen anbefales tillige før opstart af tumornekrosefaktor-alfa-inhibitor-behandling, der medfører stor risiko for progression til aktiv sygdom, hvis patienten er latent inficeret.

I fremtiden er det muligt, at hudtest kan foretages med de *M. tuberculosis*-specifikke antigener rDESAT6 og CFP-10, idet det første sikkerhedsstudie med frivillige forsøgspersoner blev gennemført med gode resultater [15].

Resultater fra rutinediagnostikken anvendes til den nationale og internationale afrapportering til hhv. Epidemiologisk Afdeling, Statens Serum Institut, og ECDC/WHO, idet laboratoriet fremsender kopi-svar vedrørende nye patienter til Epidemiologisk Afdeling og gennemgår resultater for alle anmeldte patienter årligt med henblik på optimal afrapportering.

Denne gennemgang har i de seneste år vist, at et ret stort antal patienter har smittefarlig lunge-tb ved diagnosen – et tegn på sen diagnostik og på, at den generelle opmærksomhed på tb kunne være større.

I 2010 blev et nyt nationalt tb-kontrol-program indført i Danmark. Programmet er udarbejdet i samarbejde mellem de relevante videnskabelige selskaber og Statens Serum Institut og er tilgængeligt på selskabernes og instituttets hjemmeside [16].

KORRESPONDANCE: Vibeke Østergaard Thomsen, Mykobakteriologisk Laboratorium, Statens Serum Institut, Artillerivej 5, 2300 København S. E-mail: vot@ssi.dk

ANTAGET: 11. januar 2011

INTERESSEKONFLIKTER: ingen

LITTERATUR

1. www.who.int/tb (22. nov 2010).
2. www.stopTB.org (22. nov 2010).
3. Tuberculosis Coalition for Technical Assistance. International standards for tuberculosis care (ISTC). The Hague: Tuberculosis Coalition for Technical Assistance, 2006.
4. Drobniewski FA, Hoffner S, Rusch-Gerdes S et al, WHO European Laboratory Strengthening Task Force. Recommended standards for modern tuberculosis laboratory services in Europe. Eur Respir J 2006;28:903-9.
5. Greco S, Girardi E, Navarra A et al. Current evidence on diagnostic accuracy of commercially based nucleic acid amplification tests for diagnosis of pulmonary tuberculosis. Thorax 2006;61:783-90.
6. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. N Engl J Med 2010;363:1005-15.
7. The WHO/IUATLD global project on anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance. Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Geneva: WHO/TB/97.229, 1997.
8. WHO. Policy guidance on drug-susceptibility testing of second-line antituberculosis drugs. Geneva: WHO/HTM/TB/2008.392, 2008.
9. Johansen IS, Lundgren B, Sosnovskaja A et al. Direct detection of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens in low- and high-incidence countries by line probe assay. J Clin Microbiol 2003;41:4454-6.
10. Bang D, Bengård Andersen A, Thomsen VØ. Rapid genotypic detection of rifampin- and isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* directly in clinical specimens. J Clin Microbiol 2006;44:2605-8.
11. Vijdea R, Stegger M, Sosnovskaja A et al. Multidrug-resistant tuberculosis: rapid detection of resistance to rifampin and high or low levels of isoniazid in clinical specimens and isolates. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2008;27:1079-86.
12. www.miru-vnrplus.org/MIRU/index.faces (22. nov 2010).
13. Lillebaek T, Dirksen A, Kok-Jensen A et al. A dominant *Mycobacterium tuberculosis* strain emerging in Denmark. Int J Tuberc Lung Dis 2004;8:1001-6.
14. Bauer J, Thomsen VO, Poulsen S et al. False-positive results from cultures of *Mycobacterium tuberculosis* due to laboratory cross-contamination confirmed by restriction fragment length polymorphism. J Clin Microbiol 1997;35:988-91.
15. Bergstedt W, Tingskov PN, Thierry-Carstensen B et al. First-in-man open clinical trial of a combined rDESAT-6 and rCFP-10 tuberculosis specific skin test reagent. PLoS One 2010;5:e11277.
16. www.ssi.dk (22. nov 2010).