

Nya diagnostiska metoder vid befarad tuberkulosmitta



CARL-AXEL KARLSSON, överläkare, lung- och allergikliniken, Akademiska sjukhuset, Uppsala
karl.axel.karlsson@akademiska.se

CHRISTER JANSON, docent, överläkare, institutionen för medicinska vetenskaper, lungmedicin och allergologi, Uppsala universitet

GUNNAR BOMAN, professor emeritus, institutionen för medicinska vetenskaper, lungmedicin och allergologi, Uppsala universitet

MARIA WIDFELDT, leg BMA, Klinisk immunologi, Smittskyddsinstitutet, Solna
HANS GAINES, docent, sektionschef, Klinisk immunologi, Smittskyddsinstitutet, Solna

Tuberkulos är även under det nya millenniet ett påtagligt problem i Sverige. Längre har det årliga antalet nydiagnostiserade fall gradvis minskat. Från 2000 och framåt har det skett en avplaning eller till och med en liten ökning. Den exakta siffran för 2006 var 498 nya fall av tbc [1].

Tuberkulinprovets nackdelar och fördelar

En av hörnpelarna i diagnostiken av tuberkulos har sedan hundra år varit tuberkulinprovet (Tuberculin PPD RT 23 SSI). Vid tuberkulosinfektion utan kliniskt manifest sjukdom (latent tuberkulos) har det varit det enda diagnostiska hjälpmedlet. Testet har flera nackdelar:

- Förutom ett immunsvar på *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) kan positiv reaktion även bero på BCG-vaccination (man vaccineras ju med en släkting till MTB) eller ett immunsvar på andra mykobakterier, traditionellt kallade atypiska.
- Testet kräver två besök och avläses efter tre dygn.
- Avläsningen av resultatet kräver en van bedömare.
- Risken för falskt negativa resultat, beroende på att den undersöktes immunitet är hämmad, exempelvis på grund av immunsuppressiv behandling eller sjukdom. Vid aktiv tuberkulos kan tuberkulintestet vara negativt i uppemot 25 procent av fallen [2].

Fördelarna är bl a låg kostnad och att avancerad teknisk utrustning inte krävs.

Den traditionella metodiken att undersöka kontakter till smittsamma tuberkulosfall har byggt på anamnes, tuberkulinprov (PPD) och lungröntgen. Positivt PPD, negativ lungröntgen och symtomfrihet från andra organsystem ger diagnosen latent tuberkulos. Gränsen för positivt PPD är ≥ 10 mm [3]. Nedjustering av den positiva gränsen till ≥ 6 mm görs vid HIV-infektion eller andra tillstånd med nedsatt immunförsvar. Risken att latent tuberkulos någon gång under livstiden går över i aktiv sjukdom har bedömts vara 10 procent. Hälften av de som någonsin insjuknar gör det inom två år från smittillfället [4].

Behandling mot latent tuberkulos är i första hand aktuell för barn och ungdomar samt individer med bristfälligt immunförsvar. Standardregimen är en daglig dos av isoniazid (300 mg för vuxna) i nio månader. Konsekvent genomförd behandling uppskattas vara effektiv till 90 procent. Över 35 års ålder har problematiken med leverpåverkan av isoniazid ansetts överflygla

nyttan av behandlingen. Ett annat problem är att den överdiagnostik av latent tuberkulos som tuberkulinprovets bristfälliga specificitet ger också medför risk för överbehandling.

Interferon-gamma-test introduceras

Under 1990-talet identifierades och renframställdes två antigener från MTB som saknas i BCG-bakterien och endast i några enstaka fall förekommer hos andra mykobakterier. Antigenerna benämns ESAT-6 och CFP-10 [5]. Under senare år har kommersiella test tagits fram: QuantiFERON-TB Gold (Cellestis) och T-SPOT.TB (Oxford Immunotec). De baseras på de specifika antigenerna och tas som blodprov (Fakta 1).

Interferon-gamma-testen (interferon gamma release assays, IGRA) har världen över redan värderats i en mängd studier men hittills inte i Sverige [6]. Många vetenskapliga rapporter föreligger redan och har gett en god bild av den diagnostiska träffsäkerheten, åtminstone för i övrigt friska vuxna. Eftersom latent tuberkulos saknar entydiga diagnoskriterier kan specificitet och sensitivitet inte exakt bedömas, men däremot finns uppgifter om diagnostisk tillförlitlighet vid aktiv tuberkulos.

För både QuantiFERON och T-SPOT.TB har regelmässigt påvisats specificitet på 95–100 procent, nivåer som i bästa fall också kan erhållas med tuberkulinprovet, dock inte vid undersökningar av BCG-vaccinerade, där PPD kan bli falskt positivt och resultatet svårbedömt [6–8]. Vid aktiv sjukdom har tuberkulinprovet en sensitivitet på 70–90 procent. IGRA-testen har brukat hamna på åtminstone den nivån, med en fördel för T-SPOT.TB [6, 7, 9, 10].

Falskt negativt PPD vid aktiv tuberkulos är som redan nämnts inte ovanligt. Även med IGRA (i första hand med QuantiFERON) finns risk att få icke-bedömbare resultat, vanligtvis när man har för lågt värde i den interna positiva kontrollen. Fördelen gentemot tuberkulinprovet är att man får åskådliggjort den bristfälliga immunologiska reaktiviteten. Hos friska brukar dock inte problemet vara så stort. Syftet med denna undersökning var att studera användbarheten av IGRA vid

SAMMANFATTAT

Vid konstaterad tuberkulos undersöks kontakter till den sjuke för att bedöma om smittspridning inträffat. Smittade men ej sjuka benämns ha latent tuberkulos.

Det hundraåriga tuberkulintestet med sina starka och svaga sidor har varit hörnpelaren i diagnostiken av latent tuberkulos.

På senare tid har immunologiska test tagits fram, QuantiFERON-TB Gold (Cellestis) och T-SPOT.TB (Oxford Immunotec), som utlovats ge mer spe-

cifik diagnostik.

Ett hundra tuberkulosexponerade sjukvårdsanställda testades med QuantiFERON-TB Gold (Cellestis) för att bedöma eventuell smittöverspridning. Av de testade var fyra positiva. I två av fallen var innebörden av det positiva utfallet svårvärderad. Inget av de positiva testen kunde säkert härledas till aktuell smitta.

Mycket talar för att de nya testen blir ett värdefullt tillskott för kontaktundersökningar vid tuberkulos.

FAKTA 1

Hos individer som infekterats med tuberkulos uppstår minnesceller i immunsystemet riktade mot bl a ESAT-6 och CFP-10.

Med testet QuantiFERON-TB Gold (Cellestis) används helblod som inkuberas över natten med nämnda antigener.

- Nästa dag kan det specifika immunsvaret mot dessa antigener mätas som mängden interferon-gamma i plasman.
- Kvantifieringen sker med en ELISA och lämpar sig väl för storskaligt bruk.
- I testet ingår en positiv kontroll med ett mitogen och en negativ kontroll.

Testet T-SPOT.TB (Oxford Immunotec) är ett mer arbetskrävande ELISPOT-test, där lymfocyterna först separeras

från blodet innan inkubering med specifika antigener görs.

- Inkubationen sker i brunnar med membran i botten. På membranet sitter antikroppar mot interferon-gamma.
- Om specifika T-lymfocyter mot de tillsatta antigenerna finns producerar de interferon-gamma, som binds till membranet.
- Efter några detektionssteg ser man dagen efter antalet interferon-gamma producerande celler som synliga fläckar på membranet. Detta ger ett mått på förekomsten av M tuberculosis-känsliga celler.

Kostnaden för QuantiFERON-TB Gold är 530 kr och för T-SPOT.TB 1 392 kr (dec 2007).

smittspårning av sjukvårdsanställda som blivit exponerade för tuberkulos i arbetet.

METODER

Fyra personalgrupper på totalt 110 personer som varit i kontakt med tre olika tuberkulospatienter undersöktes.

Grupp 1 utgjordes av 14 personer som arbetade på en endokrinologisk avdelning.

En 34-årig man med thailändskt ursprung vårdades under fyra veckor med nydebuterad diabetes. Vid inläggningen gjordes lungröntgen, som visade ett lunginfiltrat. Detta tolkades som en pneumoni, och antibiotika gavs. Vid kontrollröntgen tre veckor efter utskrivningen konstaterades att infiltratet progredierat med tillkomst av mindre kaviteter. Tuberkulos kunde bekräftas: Direktmikroskopi på sputum och bronklavage visade rikligt med syrafasta stavar. Man påvisade även positiv PCR för tuberkulos i bronklavaget. Odling visade tuberkulobakterier med full känslighet för standardläkemedlen vid tuberkulosbehandling. Patientens smittsamhet bedömdes som hög. Sannolikt hade han en hög grad av smittsamhet även under vårdtiden på endokrinologisk avdelning. Personalgruppen undersöktes på traditionellt sätt med tuberkulinprov och lungröntgen tre månader efter exposition. QuantiFERON-testet utfördes ytterligare ett år senare.

Grupp 2 bestod av 41 personer från en invärtesmedicinsk avdelning.

En 76-årig kvinna svårt sjuk i lymfom hade vårdats under en vecka med torrhosta, feber och lungförändringar på misstanke om pneumoni. Hon var född i Finland, och fadern hade haft lungtuberkulos. Bronkoskopi med lavage gjordes, med sparsam förekomst av syrafasta stavar. PCR var negativ för tuberkulos. Efter mikroskopisvar satte man in behandling med tre preparat aktiva mot tuberkulos (Rimactan, Myambutol och Ciproxin) men egentligen riktade mot atypiska mykobakterier. Kombinationen med mikroskopipositivitet och negativ PCR för tuberkulos talade starkt för infektion med atypiska myko-

bakterier. Efter hand erhöles emellertid positiv odling för MTB. Resistensbestämningen visade fullt känsliga bakterier. Vattendelaren mellan hög och låg smittsamhet vid tuberkulos är förekomst av syrafasta stavar vid direktmikroskopi. De sparsamma mikroskopifynden och patientens improduktiva hosta gör att hon inte passade riktigt bra i någondera kategorin. Sannolikt hade hon enbart låg smittsamhet. Personalgruppen undersöktes på likartat sätt som grupp 1.

Grupp 3 och 4 utgjordes av personal från lung- (grupp 3) och infektionsklinik (grupp 4) och bestod av 31 respektive 24 personer. Uppgift om eventuell BCG-vaccination saknas i flertalet fall i de här två grupperna.

En 86-årig man hade vårdats en knapp vecka på infektionskliniken och två veckor på lungkliniken med diagnosen pneumoni och lungfibros. Mannen är född i Sverige och har bott i landet hela livet. Vid ny inläggning ytterligare ett par veckor senare konstaterades lungtuberkulos med rikligt fynd av syrafasta stavar vid direktmikroskopi av sputum och bronklavage. Hade alltså hög smittsamhet, vilket säkert var fallet även under de föregående veckornas vårdkontakter. Bakterierna hade normalt resistensmönster. Grupperna 3 och 4 undersöktes enbart med QuantiFERON, 10 respektive 14 veckor efter exposition.

För grupp 1 och 2 (»endokrin« och »invärtesmedicin«) gjordes smittspårningen initialt på traditionellt sätt. Med ett eller annat undantag var samtliga i dessa två grupper BCG-vaccinerade. I ett senare skede när IGRA fanns tillgängliga beslutades att genomföra uppföljande undersökning med QuantiFERON. Intervallet mellan primär undersökning och uppföljning blev av olika skäl så långt som ett år.

I USA har QuantiFERON godkänts av Food and Drug Administration (FDA) för klinisk användning, och Centers for Disease Control and Prevention (CDC) har rekommenderat att testen kan användas i stället för tuberkulintest i alla kliniska situationer där tuberkulinprov vanligen används, med reservation för testning av barn och immundefekta, där erfarenheten ännu är begränsad [11]. Med stöd av bl a den amerikanska rekommendationen beslöts att hos grupp 3 och 4 göra primär smittspårning enbart med QuantiFERON. Från vetenskaplig synpunkt hade komplettering med tuberkulinprov varit önskvärd, men i den kliniska situationen övervägde önskemålet att göra utredningen så enkel som möjligt.

RESULTAT

Av de 110 personer som testades hade fyra positivt test och två bedömdes som sant positiva (Tabell I).

Analys av positiva QuantiFERON-resultat

- Medelålders kvinna med omfattande tbc-exponering under uppväxten. Anamnestic uppgift om att tuberkulinprov tidigare gett kraftigt positiv reaktion.
- Nattarbetande kvinna i yngre medelåldern, ingen klarlagd tidigare tbc-exponering. Nytt QuantiFERON-prov togs, som också var positivt. Tuberkulinprov ej utfört.
- Kvinna i 50-årsåldern, född i Turkiet. QuantiFERON svagt positivt, ett tuberkulinprov två år tidigare gav en reaktion på 4 mm. Kompletterande utredning med T-SPOT.TB gav negativt resultat. Med tanke på ringa grad av exponering blev bedömningen att latent tuberkulos var mindre sannolik.
- Man, drygt 50 år gammal, negativt tuberkulinprov och normal lungröntgen, helt frisk. Hög bakgrundsaktivitet av interferon-gamma i den negativa kontrollen. Kontroll med T-SPOT.TB gav negativt utfall. Även här olika utfall med de två olika metoderna. Slutsatsen är densamma som i närmast föregående fall: sannolikt inte latent tuberkulos.

TABELL I. Resultat av tuberkulinprov och QuantiFERON-test på sjukhuspersonal från olika avdelningar.

	Antal	PPD ≥ 10 mm	Patologisk lungröntgen	Positivt QuantiFERON
Endokrinologisk avdelning	14	4	0	0
Invärtesmedicinsk avdelning	41	9	0	1 ¹
Lungavdelning	31	–	–	2 ²
Infektionsavdelning	24	–	–	1 ¹

¹ Tolkades som falskt positivt, kontroll med T-SPOT.TB gav negativt resultat.

² Båda bedömda som smittade vid tidigare tillfälle.

Icke-bedömbart resultat av QuantiFERON sågs bara i ett fall. Personen i fråga har en inflammatorisk tarmsjukdom. Hon undersöktes med lungröntgen, som var normal. Tuberkulinprov med PPD 2 TU utfördes på personal från de endokrinologiska och invärtesmedicinska avdelningarna. Av 44 undersökta med korrekt dokumentation av tuberkulinreaktionen hade 13 personer PPD ≥ 10 mm. Ingen av de 13 PPD-positiva hade ett positivt QuantiFERON-test.

DISKUSSION

Undersökningen med QuantiFERON-testet gav bara ett fåtal positiva utfall och av dem enbart två som bedömdes ha säker latent tuberkulos. Av de två säkert positiva fanns i det ena fallet en klar anamnes på tbc-exponering under uppväxten. I det andra fallet har det inte gått att härleda orsaken till det positiva resultatet, men den ringa exponeringen för tuberkulos talar emot aktuell smitta. De två med klart positivt QuantiFERON-test fick profylaktisk tuberkulosbehandling, vilket var något oortodoxt sett till att de var medelålders. Sannolikt hade alltså ingen av de undersökta drabbats av smitta från de aktuella patienterna.

BCG-vaccination och tolkning av positiv reaktion

Tuberkulos är en smittsam sjukdom men för att bli infekterad krävs i regel nära och långvarig kontakt. Det innebär i praktiken oftast att man lever under samma tak. Kontakter inom sjukvården är sällan av den här karaktären, varför våra resultat inte är förvånande. Den sparsamma incidensen av tuberkulos i Sverige innebär också att antalet som är bärare av latent infektion är lågt.

I lågdemiska områden för tbc (som Sverige är) får tidigare BCG-vaccination en mycket större inverkan på tolkningen av positiva tuberkulinreaktioner än i exempelvis länder som Indien eller Sydafrika.

I de två grupper som även undersöktes med PPD hade åtskilliga personer (ca 30 procent) reaktioner av en storlek som kunde inge misstanke om latent tuberkulos och kvalificera för profylaktisk tuberkulosbehandling. Samtliga som hade signifikant PPD-reaktion var BCG-vaccinerade. Den sannolika orsaken till tuberkulinreaktion bedömdes vara tidigare vaccination, och profylaktisk medicinering mot tuberkulos ansågs inte motiverad. De negativa QuantiFERON-testen som senare erhöles för de PPD-positiva gav starkt stöd för den tidigare bedömningen – att latent tuberkulos var mindre sannolik.

I undersökningar från två andra länder (Schweiz och Danmark) [12, 13] med huvudsakligen vårdpersonal involverad har man också positiva PPD-resultat i samma storleksordning (30–40 procent). Man bedömer i båda artiklarna att tidigare vaccination mot tuberkulos är vanligaste orsak till positiv PPD-reaktion. Här kan man jämföra med en annan rapport [14], där 349 elever i en japansk skola hade exponerats för en elev med smittsam tuberkulos. Efter tuberkulinundersökning

hade 95 elever så stora reaktioner att man kunde misstänka latent tuberkulos, och profylaktisk tbc-behandling var att rekommendera. Japan har haft mycket frikostig vaccination med BCG, vilket lett till hög frekvens av kraftiga tuberkulinreaktioner. Vid undersökning med QuantiFERON var bara fyra positiva, och enbart dessa gavs profylax. Övriga tuberkulinpositiva har därefter följts under mer än tre år utan att utveckla aktiv tuberkulos, vilket ger stöd för att ha positivt QuantiFERON-test som måttstock för latent tuberkulos.

Motsatt kan man säga att i västvärlden (liksom i Japan) utgör positivt tuberkulinprov hos en BCG-vaccinerad person ett mycket osäkert underlag för att ställa diagnosen latent tuberkulos. Innan behandling mot en förmodad latent tuberkulos startas verkar det rimligt att även genomföra ett IGRA-test.

Fortfarande saknas säker kunskap om hur tidigt efter smitta som IGRA-testen kan användas. I vår undersökning hade grupp 3 och 4 (»lung« och »infektion«) undersökts 10 respektive 14 veckor efter senaste exponering. Under den här tidrymden brukar ett positivt tuberkulinsvar hinna utvecklas.

En italiensk studie [15] gjordes när en nyförlöst mor kort efter vårdtiden på en BB-avdelning fick diagnos på smittsam, multiresistent lungtuberkulos. De som hade vistats samtidigt på BB-avdelningen som den tuberkulossjuka undersöktes med T-SPOT.TB 11 veckor efter exponeringen. Man fick en betydande andel positiva reaktioner, som tolkades bero på aktuell smitta. Detta indikerar att QuantiFERON bör kunna vara tillförlitligt vid de tidpunkter efter exponering som var aktuella i vår undersökning.

IGRA-test har en plats i diagnostiken

För svenska förhållanden har Socialstyrelsen bedömt att de nya testen är av värde, speciellt vid undersökning av populationer där infektion med miljömykobakterier eller upprepad BCG-vaccination är vanlig. Man betonar, liksom amerikanska CDC gör, att ytterligare studier är nödvändiga för att bestämma värdet av IGRA-test på barn och personer med immunsuppression. I de brittiska riktlinjerna för tuberkulos ligger tonvikten på att IGRA-testen behöver utvärderas mer innan deras roll kan definieras tydligt [16].

Intensiva utvärderingar av de nya IGRA-testen pågår i många länder. Det gäller också i Sverige, där Smittskyddsinstitutet (SMI) satt upp såväl de kommersiella testen QuantiFERON och T-SPOT.TB som SMIs eget ackrediterade FASCIA-test för cellförmeddad immunitet för ESAT-6- och CFP-10-diagnostik. Studier av de nya testen pågår i stor skala.

Betydligt mer detaljerad kunskap om de nya testens användbarhet kommer att ha erhållits inom några få år, men samtidigt är det redan i dag klart att testen kan ge värdefull kunskap för klinisk handläggning i speciella situationer, t ex när PPD-undersökning ger svårbedömd information. SMI tillhandahåller därför, efter förfrågan från läkare med erfarenhet av tuberkulosfrågeställningar, QuantiFERON- och T-SPOT.TB-analys

av kliniska prov men betonar att resultaten ska ses som komplement till övrig diagnostisk information, såsom tuberkulinprov, eventuell röntgen och epidemiologisk information, samt

hänvisar till Socialstyrelsens rekommendationer för preventiva åtgärder mot tuberkulos [3].

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

REFERENSER

1. Statistik för tuberkulos 2006. Stockholm: Smittskyddsinstitutet; 2006. www.smittskyddsinstitutet.se/statistik/tuberkulos
2. Nash DR, Douglass JE. Anergy in active pulmonary tuberculosis. A comparison between positive and negative reactors and an evaluation of 5 TU and 250 TU skin test doses. *Chest*. 1980;77(1):32-7.
3. Rekommendationer för preventiva åtgärder mot tuberkulos. Stockholm: Socialstyrelsen; 2007. Rapport 2007-130-1. www.socialstyrelsen.se
4. Styblo K. Recent advances in epidemiological research in tuberculosis. *Adv Tuberc Res*. 1980;20:1-63.
5. Andersen P, Munk ME, Pollock JM, Doherty TM. Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet*. 2000;356(9235):1099-104.
6. Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Ann Intern Med*. 2007;146:340-54.
7. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170:59-64.
8. Lalvani A, Pathan AA, McShane H, Wilkinson RJ, Latif M, Conlon CP, et al. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:824-8.
9. Tsiouris S, Coetzee D, Toro P, Austin J, Stein Z, El-Sadr W. Sensitivity analysis and potential uses of a novel gamma interferon release assay for diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol*. 2006;44:2844-50.
10. Meier T, Eulenbruch HP, Wrighton-Smith P, Enders G, Regnath T. Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T-SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005;24:529-36.
11. Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, Iademarco MF, Metchock B, Vernon A. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United States. *MMWR Recomm Rep*. 2005;54:49-55.
12. Tissot F, Zanetti G, Francioli P, Zellweger JP, Zysset F. Influence of bacille Calmette-Guérin vaccination on size of tuberculin skin test reaction: to what size? *Clin Infect Dis*. 2005;40(2):211-7.
13. Soborg B, Andersen AB, Larsen HK, Welding K, Andersen P, Kofoed K, et al. Detecting a low prevalence of latent tuberculosis among health care workers in Denmark detected by M. tuberculosis specific IFN-gamma whole-blood test. *Scand J Infect Dis*. 2007;39(6-7):554-9.
14. Higuchi K, Harada N, Mori T, Sekiya Y. Use of QuantiFERON®-TB Gold to investigate tuberculosis contacts in a high school. *Respirology*. 2007;12(1):88-92.
15. Richeldi L, Ewer K, Losi M, Bergamini BM, Roversi P, Deeks J, et al. T cell-based tracking of multidrug resistant tuberculosis infection after brief exposure. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170:288-95.
16. <http://www.nice.org.uk/guidance>