
Immunologi og tuberkulosekontroll

KRONIKK

MORTEN HARBOE

Email: morten.harboe@labmed.uio.no
Immunologisk institutt
Rikshospitalet
0027 Oslo

Artikkelen er basert på 25th Kellersberger memorial lecture The contribution of immunology to tuberculosis control, Addis Abeba, Etiopia, 26.5. 2000

Tuberkulose er et av verdens største helseproblemer, og det er et akutt behov for nye metoder for tuberkulosekontroll i u-land. BCG-vaksinasjon beskytter mot sykdom etter primærinfeksjon, noe som først ble vist hos voksne av Heimbeck i klassiske studier ved Ullevål sykehus. Tidlig BCG-vaksinasjon beskytter imidlertid ikke mot reaktivering og utvikling av lungetuberkulose, som er det viktigste infeksjonsreservoaret. Latens er av fundamental betydning etter infeksjon med *Mycobacterium tuberculosis*. Ved latens har vi nylig påvist M tuberculosis-DNA i forskjellige celler i lungevev uten andre histologiske tegn til tuberkuløs infeksjon med in situ-polymerasekjedereaksjon (PCR).

Immunologien kan bidra til bedre tuberkulosekontroll ved utvikling av nye tuberkuliner og prosedyrer som tillater prediksjon av forløpet etter infeksjon, utvikling av strimmelprøver for å påvise antistoffer karakteristiske for tuberkulose, og påvisning av metabolske produkter fra M tuberculosis i urin med teknikker som kan brukes under feltforhold. Potensial og vanskeligheter ved utvikling av nye vaksiner mot tuberkulose blir diskutert. Utvikling av egnede eksperimentelle modeller er nødvendig for å vise at de nye vaksinene kan hindre etablering av latens eller reaktivering etter etablert latens.

I Norge er tuberkulosen under god kontroll. For at det skal forbli slik, må vi fortsatt være årvåkne og drive aktivt forebyggende arbeid (1, 2). Globalt sett er denne sykdommen et uhyggelig problem, og vi regner med at *Mycobacterium tuberculosis* i dag dreper flere voksne enn noen andre humane patogener (3).

Omtrent en tredel av verdens befolkning er smittet med M tuberculosis (4). 16 millioner mennesker har aktiv tuberkulose, og det er åtte millioner nye tilfeller og to millioner dødsfall av tuberkulose hvert år (5). De aller fleste dødsfall skjer i utviklingsland, hvor kombinert infeksjon med HIV og M tuberculosis er blitt særlig alvorlig i de senere år (1, 6). Effekten av "Directly Observed Therapy, Short course" (DOTS), som WHO har satsset stort på (7), er ofte meget god. Men under de rådende økonomiske og samfunnsmessige betingelser, med økende prevalens av medikamentresistent tuberkulose (8 – 10) og manglende utvikling av nye medikamenter de siste 30 år, har også WHO erkjent at dette ikke kan løse tuberkuloseproblemet i u-land på lengre sikt (5).

Det er derfor et akutt behov for nye metoder i tuberkulosekontrollen.

BCG-vaksinen

Selv om BCG er den vaksinen som er mest brukt i verden, er den kontroversiell (11). Det sies ofte at den er lite effektiv, men det er riktigere å si at den virker godt mot noe, ikke mot noe annet, og at virkningen varierer fra land til land.

BCG-vaksinasjon beskytter mot utvikling av alvorlig sykdom etter primærinfeksjon med M tuberculosis.

I Frankrike ble dette opprinnelig vist av Calmette hos barn, mens Johannes Heimbeck (1892 – 1976) var den første som viste det i store undersøkelser hos voksne (12).

Etter å ha blitt "satt på" til det av overlege Olaf Scheel (1875 – 1942), klarla Heimbeck først ved omfattende tuberkulinundersøkelser ved Ullevål sykehus at halvparten av elevene var pirquetnegative når de begynte på sykepleierskolen. Mange av dem var kommet inn til Oslo fra landet, og den gang, i 1920-årene, var dette et helt uventet funn. Alle var blitt pirquetpositive, som tegn på at de var smittet, når de gikk ut av sykepleierskolen tre år senere. Det var nesten bare blant de opprinnelig pirquetnegative at noen ble syke, ca. 30 % når man regnet med knuterosen, hilusadenitt, lungeinfiltrater, plevritt og alvorlig lungetuberkulose. Det var altså meget farlig for tuberkulinnegative, tidligere usmittede unge kvinner å arbeide på tuberkulosepostene ved sykehuset. De tuberkulinpositive som hadde vært smittet tidligere uten å bli syke, ble heller ikke syke nå, men hadde en relativ immunitet (12).

På grunnlag av disse observasjonene startet Heimbeck så å BCG-vaksinere de tuberkulinnegative sykepleierelevne før de begynte å arbeide på tuberkulosepostene. Tallene hans (13, 14) viser at BCG-vaksinasjonen gav over 80 % beskyttelse mot utvikling av tuberkuløs sykdom etter infeksjon under disse betingelsene. Funnene ble også publisert internasjonalt (15), men er lite kjent ute i verden og er ikke sitert i store metaundersøkelser om effekten av BCG-vaksinasjon (16, 17). Heimbecks studier er senere kritisert fra et epidemiologisk synspunkt (18), men god beskyttelse etter BCG-vaksinasjon er også bekreftet i senere norske undersøkelser (19, 20).

I samfunn med mye tuberkulose er beskyttelse mot sykdom etter primærinfeksjon særlig aktuelt hos barn. Flere studier har vist at BCG-vaksinasjon beskytter godt mot tuberkuløs meningitt og miliartuberkulose (21), og dette ble bekreftet ved en stor metaanalyse av proteksjon etter BCG-vaksinasjon hos nyfødte og barn (22). Det er usikkert hvor lenge beskyttelsen varer etter tidlig vaksinasjon (19, 23), og tidlig BCG-vaksinasjon beskytter ikke mot reaktivering etter infeksjon, med utvikling av kavernøs lungetuberkulose hos voksne (24), som er det viktigste infeksjonsreservoaret på befolkningsnivå. Dessuten varierer effekten av BCG-vaksinasjon meget i forskjellige land (24), stort sett er effekten minst i tropiske u-land, der den trengs mest.

Særtrekk ved tuberkulose

Immunologisk sett viser tuberkulosen flere spesielle trekk: M tuberculosis er for det meste en intracellulær parasitt, og T-cellemedierte cellulære immunreaksjoner er derfor helt avgjørende for utvikling av protektiv immunitet (25). Antistoffer kan imidlertid også beskytte mot flere intracellulære patogener (26), og det er etter hvert blitt helt klart at antistoffer også kan påvirke forløpet etter infeksjon med M tuberculosis (27 – 29).

Mekanismene for hvordan T-cellereaksjoner hemmer veksten av tuberkelbasillene, eller dreper dem, er bare delvis kjent (30). Det er klart at T-cellereaksjoner også er ansvarlige for utvikling av vevsskade og kaverner i lungene. Robert Koch (1843 – 1910) fant at subkutan injeksjon av M tuberculosis, eller løselige antigener fra basillene, på tuberkuløse marsvin førte til nekrose både lokalt i huden og i den opprinnelige tuberkuløse lesjonen. Dette Koch-fenomenet er det klassiske eksemplet på hvordan forsinket hypersensitivitet fremkaller vevsskade etter infeksjon og illustrerer denne fundamentale dikotomien (31).

Det kliniske forløpet etter infeksjon og påvirkningen på verten bestemmes for en stor del av de biologiske egenskapene og særtrekkene ved M tuberculosis. Kort etter primærinfeksjonen utvikler noen personer klinisk sykdom, men hos de fleste ser infeksjonen ut til å hele. Hos mange av dem er ”latens” et karakteristisk trekk. I mange år, og sannsynligvis hele livet, kan basillene leve i vevene, hvor de deler seg langsomt eller ikke i det hele tatt. Denne tilstanden med latent infeksjon (32, 33) er meget viktig, fordi de fleste tilfellene av kavernøs lungetuberkulose i land med lav frekvens av infeksjon skyldes reaktivering av en slik latent infeksjon (34 – 36). Denne prosessen er derfor av fundamental betydning for å forstå forløpet etter infeksjon med M tuberculosis og patogenesen av klinisk sykdom, men den er dårlig kjent.

Under latens er infeksjonen sannsynligvis kontrollert av immunsystemet, siden immunsvikt som er fremkalt av HIV-infeksjon eller høy alder, kan føre til reaktivering av infeksjonen. I de fleste tilfellene er årsaken til reaktivering av infeksjonen ukjent (37), og immunsvikt er sannsynligvis ikke årsaken, siden reaktivering ofte fører til åpen lungetuberkulose med kaverner. Disse pasientene har samtidig kraftig forsinket hypersensitivitet overfor antigener fra M tuberculosis (38).

Lokalisasjonen av *M tuberculosis* under latens har vært påfallende lite kjent (33). Opie & Aronson (39) og Griffith (40) overførte homogenater av lungevev fra personer som døde uten kliniske tegn på tuberkulose til marsvin og viste oppvekst av tuberkelbasiller fra makroskopisk normalt lungevev i 25 – 30 % av homogenatene, men disse observasjonene ser stort sett ut til å ha blitt helt glemte. Vi har nylig påvist *M tuberculosis*-DNA ved *in situ*-polymerasekjedereaksjon (PCR) i lungevev hos over 30 % av friske etiopere som døde plutselig og meksikanere som døde av andre grunner enn tuberkulose, som bevis for latens i disse befolkningene, der det er høy prevalens av tuberkuløs infeksjon (41). Funnene viser at *M tuberculosis* har trengt inn i og persistert intracellulært i makrofager og i andre ikke-profesjonelle fagocytter i lungevev uten at det er andre histologiske tegn til tuberkuløs sykdom. Observasjonene tyder videre på at både makrofager, pneumocytter av type II, endotelceller og fibroblaster kan være tilholdssted for *M tuberculosis*. Opphold i forskjellige celletyper taler for at latensen er en langt mer dynamisk prosess enn tidligere antatt.

Immunologiens videre bidrag til dette feltet gjelder særlig bedring av diagnostikk og utvikling av nye vaksiner mot tuberkulose.

Diagnostikk

Diagnose av infeksjon med *M tuberculosis* er ofte basert på tuberkulintesting med omslag fra negativ til positiv reaksjon, men tolkingen av reaksjonene er vanskeligere etter BCG-vaksinasjon, som fremkaller en svakere positiv reaksjon. I Norge får vi fortsatt viktig informasjon med signifikante forskjeller mellom effekt av BCG-vaksinasjon og infeksjon. I Afrika er forskjellene i reaksjonsstyrke mindre på befolkningsnivå, med nedsatt diagnostisk informasjon (42). Økt forekomst av andre mykobakterier i miljøet er sannsynlig årsak til dette.

Videre utvikling her vil omfatte fremstilling av ”nye tuberkuliner” basert på bruk av en definert blanding av rensede, utvalgte proteiner fra *M tuberculosis*. Valget blir gjort ut fra identifikasjon av individuelle T-celleimmunogene proteiner som finnes i ”*M tuberculosis*-komplekset” og mangler i andre mykobakterier (43). Proteiner som ESAT-6-antigenet (44 – 46) og MPT64 (47) er primære kandidater for dette formålet.

Prediksjon av forløp etter infeksjon ville også være viktig. Studier av familiekontakter til pasienter med smitteførende lungetuberkulose ved Armauer Hansen-instituttet i Etiopia er av spesiell interesse her. Produksjon og frigjøring av interferon-gamma (INF- γ) fra mononukleære celler fra perifert blod (PBMC) etter stimulering med rensed ESAT-6-antigen fra *M tuberculosis* var signifikant høyere hos kontakter som utviklet klinisk tuberkulose under en observasjonsperiode på seks måneder enn hos dem som fortsatt var friske (Mark Doherty, Abebech Demissie, personlig meddelelse). Dette indikerer en prediktiv verdi av slike undersøkelser.

Å kunne skille mellom infeksjon og sykdom og effekter av vaksinasjon er sentralt. For å påvise sykdom er standarden kliniske funn, påvisning av syrefaste staver i spytt ved direkte mikroskopi eller kultur og røntgenundersøkelse. Det er vanskeligere ved immunologisk teknikk, men her kan vi regne med en videre teknisk utvikling.

Sykdom er kjennetegnet ved økt antall basiller i vevene, det vil si økt mengde mykobakterieantigener. En ventet konsekvens er stimulering av immunsystemet, med produksjon av tilsvarende antistoffer.

Påvisning av antistoffer er av sentral betydning for diagnostikk av en rekke infeksjonssykdommer, men ved tuberkulose har forsøk på dette ofte gitt dårlige resultater, med for lav spesifisitet pga. omfattende kryssreaksjoner (48). Fremstilling av M tuberculosis-antigener ved rekombinant DNA-teknologi gir nå helt nye muligheter, og karakterisering av spesifisiteten av de antistoffene som forekommer oftest ved tuberkulose er igjen et aktivt forskningsfelt (49, 50). Etterfølgende utvikling av strimmelprøver (dip stick assays) for hurtig og enkel påvisning av slike antistoffer under feltbetingelser vil sannsynligvis komme.

Ved lepra er dette allerede en realitet. Antistoffer mot fenoglykolipid 1 (PGL-1) fra *Mycobacterium leprae* kan påvises i fullblod ved en enkel strimmelprøve, og slike antistoffer viser høy spesifisitet for infeksjon med M leprae (51).

En annen mulighet er påvisning av metabolske produkter av M tuberculosis. Vi har arbeidet med påvisning av lipoarabinomannan (LAM) (52) i urinen ved hurtige immunologiske teknikker basert på reaksjon med antistoffer.

Prinsippene for hvordan dette skal gjøres er klare, og hos 81 % av etiopere med sputumpositiv lungetuberkulose er LAM påvist i urinen ved slik teknikk (B. Bjorvatn, T. Tadesse, G.A. Bjune, S. Svensson, upubliserte data). Problemet er å oppnå tilstrekkelig sensitivitet ved sputumnegativ tuberkulose og å forenkle teknikken så den kan brukes under feltforhold. Tester av denne typen skulle også være velegnet for rask påvisning av ekstrapulmonal tuberkulose under kombinert infeksjon med HIV.

Vaksineutvikling

Omfattende bruk av effektiv vaksine er det mest kostnadseffektive prinsipp for kontroll av smittsomme sykdommer. Vi har mange eksempler, og det mest dramatiske er kopper. Denne meget alvorlige og hyppige sykdommen ble eliminert fra verden ved effektive vaksinasjonskampanjer, og det siste tilfellet ble sett i Somalia i 1977.

Utvikling av en effektiv vaksine mot tuberkulose er en stor utfordring for immunologien, og studeres nå aktivt i en rekke laboratorier.

Det er et realistisk mål, men det blir vanskelig på grunn av dikotomien som er beskrevet ovenfor. Vi må med tilstrekkelig sikkerhet stimulere beskyttende celledmedierte immunreaksjoner samtidig som det er liten risiko for vevsskade.

I utgangspunktet er det fire hovedprinsipper man har søkt å utnytte: attenuert M tuberculosis, endret BCG, subenhetsvaksiner og DNA-vaksinasjon (25).

”Attenuert M tuberculosis” er genetisk endrede basiller som inneholder antigener av særlig betydning for utvikling av protektiv immunitet, mens man har fjernet komponenter av betydning for virulens. Teknikker for dette er etablert, men vi vet ennå for lite om hvilke komponenter som er av særlig betydning for proteksjon og for virulens.

”Endret BCG” innebærer bruk av basiller som produserer økt mengde av proteiner som er av særlig betydning for proteksjon eller cytokiner som fremmer slike reaksjoner, f.eks. interleukin 12. Det samme prinsippet kan også brukes med andre mikrober som bærere.

En ”subenhetsvaksine” vil inneholde en blanding av utvalgte proteinkomponenter fra M tuberculosis med et egnet adjuvans som stimulerer protektiv immunitet. Dette prinsippet virker meget godt i eksperimentelle modeller hos mus (53).

Muligheten for ”DNA-vaksinasjon” er særlig interessant i dagens vaksineutvikling. Det kom som en stor overraskelse at intramuskulær injeksjon av nakent DNA i form av rensede plasmider med nye gener som koder for protektive antigener, gav beskyttelse i forskjellige eksperimentelle modeller for infeksjon. Det er for eksempel vist at DNA-vaksinasjon med forskjellige gener fra M tuberculosis gir like god eller bedre beskyttelse mot utvikling av tuberkulose hos mus enn BCG-vaksinasjon (54). Som modellsystem valgte de antigener i 85-komplekset, som blir aktivt utskilt fra M tuberculosis både ved dyrking in vitro (55) og in vivo (56).

Hvilket prinsipp man må satse på, er fortsatt åpent, men de to første mulighetene er blitt mindre aktuelle pga. økt forekomst av kombinert infeksjon med HIV og M tuberculosis. Dette gjør at man vil unngå bruk av levende vaksine.

Mulighetene for å bruke en subenhetsvaksine avhenger helt av at man kan velge riktige komponenter. Dessuten forutsetter det utvikling av adjuvans som stimulerer protektive reaksjoner med liten risiko for vevsskade og tilstrekkelig langvarig effekt.

DNA-vaksinasjon beskytter godt mot mange eksperimentelle infeksjoner hos mus, mens responsen er mye svakere hos større dyr og primater. Her trengs det ny teknologi. Elektrisk stimulering av tverrstripet muskulatur i tilslutning til injeksjonen av DNA er en interessant mulighet. Det gir bedre elektroporering med økt opptak av DNA (57, 58) og klart økt respons etter immunisering med mykobakterieantigener (S. Tollefsen, J. Schneider, M. Harboe, I. Mathiesen, upubliserte observasjoner). Mye arbeid gjenstår også for å klarlegge risikoen for komplikasjoner ved DNA vaksinasjon.

Etter erkjennelsen av at latens er så viktig etter infeksjon med M tuberculosis, blir det også et helt sentralt mål å utnytte og utvikle egnede eksperimentelle modeller for latens (59, 60) videre. Vi må kunne vise at vaksinasjonen enten forhindrer etablering av latens eller reaktivering etter etablering av latens.

Konklusjon

Etter et livs arbeid med tuberkulose holdt Alexander Tuxen (1897 – 1980) et foredrag: *Tuberkulose og tuberkulosebehandling i min tid* (12). Tuberkulosen hadde gått dramatisk tilbake i Norge, som i andre industriland, og de fleste mente at problemet nærmest var løst, men han sa:

”Jeg vil si det så sterkt som jeg kan: Tuberkelbasillen er ikke død. Den er mangesteds paa fremmarsj. () En vakker dag kommer folkemassene, folkehavene i bevegelse, og de har tuberkulosen med seg. En vakker dag, på en eller annen måte kommer tuberkelbasillen igjen hvis vi ikke passer på den.

- Natura furcham pellas ex.
- Hun kommer dog igjen den hex.”

I dag vet vi at han hadde rett.

WHO har nå intensivert arbeidet på dette feltet under mottoet ”STOP TB”. For at man skal lykkes, må det satses på flere fronter: Bruk av DOTS er viktig, men det er et stort behov for å utvikle nye medikamenter. Dessuten mangler vi mye på virkelig å forstå utviklingen av alvorlig sykdom etter infeksjon med *M tuberculosis*, og vi trenger ny kunnskap i basal immunologi for å kunne hindre dette ved effektiv vaksinasjon.

Takk til Sissel for all støtte til arbeidet med lepra og tuberkulose i over 30 år. Den har vært en forutsetning for det hele. I Norge stod professor Kristen Arnesen, stadsfysikus Fredrik Mellbye (1917 – 99) og professor Erik Waaler (1903 – 97) for tankene som førte til at Redd Barna og Rädda Barnen sammen opprettet Armauer Hansen Research Institute (AHRI) i Addis Abeba, Etiopia. Instituttet har vært i drift siden 1970. NORAD og Sida/SAREC har stått for kjernefinansieringen hele tiden, men utsiktene for videre kjernefinansiering er usikre nå. Instituttet gir gode muligheter for interessant arbeid og har vært utgangspunktet for disse studiene. Tallrike medarbeidere har bidratt til det eksperimentelle arbeidet og utviklingen av basale konsepter i artikkelen.

LITTERATUR

1. Øvreberg K. Tuberkulose. Tidsskr Nor Lægeforen 1993; 113: 1052 – 3.
2. Heldal E, Bjartveit K, Tverdal A. Utviklingen av tuberkulose i Norge – har nedgangen stanset? Tidsskr Nor Lægeforen 1995; 115: 3390 – 3.
3. Murray CJ, Salomon JA. Modeling the impact of global tuberculosis control strategies. Proc Nat Acad Sci USA 1998; 95: 13881 – 6.

4. Raviglione MC, Snider DE jr., Kochi A. Global epidemiology of tuberculosis. Morbidity and mortality of a worldwide epidemic. *JAMA* 1995; 273: 220 – 6.
5. Butler D. Consortium aims to kickstart TB research. *Nature* 2000; 403: 692.
6. De Cock KM, Chaisson RE. Will DOTS do it? A reappraisal of tuberculosis control in countries with high rates of HIV infection. *Int J Tub Lung Dis* 1999; 3: 457 – 65.
7. Kochi A. Tuberculosis control – is DOTS the health breakthrough of the 1990s? *Wrlld Health Forum* 1997; 18: 225 – 32, 233 – 47.
8. Farmer P, Kim JY. Community based approaches to the control of multidrug resistant tuberculosis: introducing "DOTS-plus". *BMJ* 1998; 317: 671 – 4.
9. Iseman MD. MDR-TB and the developing world – a problem no longer to be ignored: the WHO announces 'DOTS Plus' strategy. *Int J Tub Lung Dis* 1998; 2: 867.
10. Bastian I, Rigouts L, van Deun A, Portaels F. Directly observed treatment, short course strategy and multidrug-resistant tuberculosis: are any modifications required? *Bull Wrlld Health Org* 2000; 78: 238 – 51.
11. Bloom BR, Fine PEM. The BCG experience: implications for future vaccines against tuberculosis. I: Bloom BR, red. *Tuberculosis. Pathogenesis, protection and control*. Washington, DC: ASM Press, 1994: 531 – 57.
12. Tuxen A. Tuberkulose og tuberkulosebehandling i min tid. *Tidsskr Nor Lægeforen* 1967; 87: 1310 – 5.
13. Ustvedt H. Noen nyere BCG-arbeider. En oversikt. *Tidsskr Nor Lægeforen* 1947; 67: 573 – 4.
14. Galtung O. Et 40-års minne. *Tidsskr Nor Lægeforen* 1971; 91: 1927 – 31.
15. Heimbeck J. Tuberculous infection. Attempts to prevent it by subcutaneous vaccination with BCG. *Arch Int Med* 1931; 47: 901 – 16.
16. Clemens JD, Chuong JJ, Feinstein AR. The BCG controversy. A methodological and statistical reappraisal. *JAMA* 1983; 249: 2362 – 9.
17. Colditz GA, Brewer TF, Berkey CS, Wilson ME, Burdick E, Fineberg HV et al. Efficacy of BCG vaccine in the prevention of tuberculosis. Meta-analysis of the published literature. *JAMA* 1994; 271: 698 – 702.
18. Waaler HT. BCG-vaksinasjon i Norge. Litt historikk. *Tidsskr Nor Lægeforen* 1975; 95: 1069 – 70.
19. Tverdal A, Funnemark E. Protective effect of BCG vaccination in Norway 1956 – 73. *Tubercle* 1988; 69: 119 – 23.

20. Bjartveit K, Waaler H. Some evidence of the efficacy of mass BCG vaccination. *Bull Wrlld Health Org* 1965; 33: 289 – 319.
21. Rodrigues LC, Diwan VK, Wheeler JG. Protective effect of BCG against tuberculous meningitis and miliary tuberculosis: a meta-analysis. *Int J Epidemiol* 1993; 22: 1154 – 8.
22. Colditz GA, Berkey CS, Mosteller F, Brewer TF, Wilson ME, Burdick E et al. The efficacy of bacillus Calmette-Guerin vaccination of newborns and infants in the prevention of tuberculosis: metaanalyses of the published literature. *Pediatrics* 1995; 96: 29 – 35.
23. Sterne JA, Rodrigues LC, Guedes IN. Does the efficacy of BCG decline with time since vaccination? *Int J Tub Lung Dis* 1998; 2: 200 – 7.
24. Fine PE. Variation in protection by BCG: implications of and for heterologous immunity. *Lancet* 1995; 346: 1339 – 45.
25. Harboe M, Andersen P, Colston MJ, Gicquel B, Hermans PW, Ivanyi J et al. European Commission COST/STD Initiative. Report of the expert panel IX. Vaccines against tuberculosis. *Vaccine* 1996; 14: 701 – 16.
26. Casadevall A. Antibody-mediated protection against intracellular pathogens. *Trends Microbiol* 1998; 6: 102 – 7.
27. Teitelbaum R, Glatman-Freedman A, Chen B, Robbins JB, Unanue E, Casadevall A et al. A mAb recognizing a surface antigen of *Mycobacterium tuberculosis* enhances host survival. *Proc Nat Acad Sci USA* 1998; 95: 15688 – 93.
28. Glatman-Freedman A, Casadevall A. Serum therapy for tuberculosis revisited: reappraisal of the role of antibody-mediated immunity against *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 514 – 32.
29. Hussain R, Shiratsuchi H, Ellner J, Wallis R. PPD-specific IgG1 antibody subclass upregulate tumour necrosis factor expression in PPD-stimulated monocytes: possible link with disease pathogenesis in tuberculosis. *Clin Exp Immunol* 2000; 119: 449 – 55.
30. Stenger S, Hanson DA, Teitelbaum R, Dewan P, Niazi KR, Froelich CJ et al. An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science* 1998; 282: 121 – 5.
31. Rook GAW, Bloom BR. Mechanisms of pathogenesis in tuberculosis. I: Bloom BR, red. *Tuberculosis. Pathogenesis, protection and control*. Washington, DC: ASM Press, 1994: 485 – 501.
32. Wayne LG. Dormancy of *Mycobacterium tuberculosis* and latency of disease. *Eur J Clin Microbiol Inf Dis* 1994; 13: 908 – 14.
33. Parrish NM, Dick JD, Bishai WR. Mechanisms of latency in *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends Microbiol* 1998; 6: 107 – 12.

34. Dolin PJ, Raviglione MC, Kochi A. Global tuberculosis incidence and mortality during 1990 – 2000. *Bull Wrlld Health Org* 1994; 72: 213 – 20.
35. van Rie A, Warren R, Richardson M, Victor TC, Gie RP, Enarson DA et al. Exogenous reinfection as a cause of recurrent tuberculosis after curative treatment. *N Engl J Med* 1999; 341: 1174 – 9.
36. Fine PE, Small PM. Exogenous reinfection in tuberculosis. *N Engl J Med* 1999; 341: 1226 – 7.
37. Rieder HL, Cauthen GM, Comstock GW, Snider DE jr. Epidemiology of tuberculosis in the United States. *Epidemiol Rev* 1989; 11: 79 – 98.
38. Dannenberg A, Rook G. Pathogenesis of tuberculosis: an interplay of tissue-damaging and macrophage-activating immune responses – Dual mechanisms that control bacillary multiplication. I: Bloom BR, red. *Tuberculosis. Pathogenesis, protection and control*. Washington, DC: ASM Press, 1994: 459 – 83.
39. Opie E, Aronson J. Tubercle bacilli in latent tuberculosis lesions and in lung tissue without tuberculosis lesions. *Arch Pathol Lab Med* 1927; 4: 1 – 21.
40. Griffith A. Types of tubercle bacilli in human tuberculosis. *J Path Bact* 1929; 32: 813 – 4.
41. Hernandez-Pando R, Jeyanathan M, Mengistu G, Aguilar D, Orozco H, Harboe M et al. Persistence of DNA from M tuberculosis in superficially normal lung tissue during latent infection. *Lancet* 2001, akseptert for publisering.
42. ten Dam H, Sansarricq H. The use of immunological tests in epidemiological work. *Leprosy Rev* 1981; 52 (suppl 1): 289 – 98.
43. Lyashchenko K, Manca C, Colangeli R, Heijbel A, Williams A, Gennaro ML. Use of Mycobacterium tuberculosis complex-specific antigen cocktails for a skin test specific for tuberculosis. *Infect Immun* 1998; 66: 3606 – 10.
44. Sørensen AL, Nagai S, Houen G, Andersen P, Andersen ÅB. Purification and characterization of a low-molecular-mass T-cell antigen secreted by Mycobacterium tuberculosis. *Infect Immun* 1995; 63: 1710 – 7.
45. Andersen P, Andersen ÅB, Sørensen AL, Nagai S. Recall of long-lived immunity to Mycobacterium tuberculosis infection in mice. *J Immunol* 1995; 154: 3359 – 72.
46. Harboe M, Oettinger T, Wiker HG, Rosenkrands I, Andersen P. Evidence for occurrence of the ESAT-6 protein in Mycobacterium tuberculosis and virulent Mycobacterium bovis and for its absence in Mycobacterium bovis BCG. *Infect Immun* 1996; 64: 16 – 22.
47. Harboe M, Nagai S, Patarroyo ME, Torres ML, Ramirez C, Cruz N. Properties of proteins MPB64, MPB70, and MPB80 of Mycobacterium bovis BCG. *Infect Immun* 1986; 52: 293 – 302.

48. Daniel TM, Debanne SM. The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am Rev Resp Dis* 1987; 135: 1137 – 51.
49. Lyashchenko KP, Pollock JM, Colangeli R, Gennaro ML. Diversity of antigen recognition by serum antibodies in experimental bovine tuberculosis. *Infect Immun* 1998; 66: 5344 – 9.
50. Lyashchenko K, Colangeli R, Houde M, Al Jahdali H, Menzies D, Gennaro ML. Heterogeneous antibody responses in tuberculosis. *Infect Immun* 1998; 66: 3936 – 40.
51. Buhner-Sekula S, Cunha MG, Ferreira WA, Klatser PR. The use of whole blood in a dipstick assay for detection of antibodies to *Mycobacterium leprae*: a field evaluation. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1998; 21: 197 – 201.
52. Chatterjee D, Roberts AD, Lowell K, Brennan PJ, Orme IM. Structural basis of capacity of lipoarabinomannan to induce secretion of tumor necrosis factor. *Infect Immun* 1992; 60: 1249 – 53.
53. Andersen P. Effective vaccination of mice against *Mycobacterium tuberculosis* infection with a soluble mixture of secreted mycobacterial proteins. *Infect Immun* 1994; 62: 2536 – 44.
54. Huygen K, Content J, Denis O, Montgomery DL, Yawman AM, Deck RR et al. Immunogenicity and protective efficacy of a tuberculosis DNA vaccine. *Nature Med* 1996; 2: 893 – 8.
55. Wiker HG, Harboe M. The antigen 85 complex: a major secretion product of *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbiol Rev* 1992; 56: 648 – 61.
56. Harth G, Lee BY, Wang J, Clemens DL, Horwitz MA. Novel insights into the genetics, biochemistry, and immunocytochemistry of the 30-kilodalton major extracellular protein of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 1996; 64: 3038 – 47.
57. Mathiesen I. Electroporation of skeletal muscle enhances gene transfer in vivo. *Gene Therapy* 1999; 6: 508 – 14.
58. Widera G, Austin M, Rabussay D, Goldbeck C, Barnett SW, Chen M et al. Increased DNA vaccine delivery and immunogenicity by electroporation in vivo. *J Immunol* 2000; 164: 4635 – 40.
59. Phyu S, Mustafa T, Hofstad T, Nilsen R, Fosse R, Bjune G. A mouse model for latent tuberculosis. *Scand J Inf Dis* 1998; 30: 59 – 68.
60. Scanga CA, Mohan VP, Joseph H, Yu K, Chan J, Flynn JL. Reactivation of latent tuberculosis: variations on the Cornell murine model. *Infect Immun* 1999; 67: 4531 – 8.

Publisert: 10. januar 2001. Tidsskr Nor Legeforen.

