

Solomon Ghebremichael, biomedicinsk analytiker

Tuija Koivula, fil lic, koordinator

Sven Hoffner, docent, chefsmikrobiolog

Victoria Romanus, med dr, överläkare; samtliga vid Smittskyddsinstitutet, Solna

Björn Petrini, docent, överläkare, avdelningen för klinisk mikrobiologi, Karolinska sjukhuset, Stockholm

Britt Norén, smittskyddssjuksköterska

Staffan Sylan, med dr, överläkare; båda vid smittskyddsenheten, Stockholms läns landsting

Gunilla Källenius, professor, överläkare, Smittskyddsinstitutet, Solna (gunilla.kallenius@smi.ki.se)

Resistent tuberkulos sprids i Sverige

Molekylärepidemiologiska »fingeravtryck«

av de infekterande organismerna kan underlätta smittspårning

|| Utan adekvat kemoterapi är tuberkulos (tbc) ofta en dödlig sjukdom; mer än hälften av de patienter som insjuknade i tbc i Sverige på 1 800-talet dog i sjukdomen. Med införandet av tbc-medel som streptomycin, isoniazid, pyrazinamid och rifampicin har dödligheten sjunkit kraftigt.

Kemoterapiresistent tbc allt vanligare

Under senare år har kemoterapiresistent tbc blivit allt vanligare globalt sett. Det är en effekt av dels inadekvata tbc-program, dels ett oreglerat bruk av viktiga tbc-läkemedel såsom rifampicin. Kombinationsbehandling med minst tre läkemedel krävs för att motverka resistensutveckling mot använda medel. Multiresistent tbc (dvs med resistens mot rifampicin och isoniazid, eventuellt också mot fler antibiotika) utgör i vissa delar av världen mer än 10 procent av all tbc. Särskilt i Baltikum och Ryssland har en kraftig ökning av resistent tbc skett under 1990-talet.

I Sverige har tbc-incidensen under senare år minskat bland personer födda i Sverige, medan den har ökat hos personer födda utanför Sverige. I den svenskfödda befolkningen sjönk incidensen per 100 000 invånare från 5,1 år 1989 till 2,2 år 1999. I den utlandsfödda befolkningen ökade incidensen från 28,2 år 1989 till 32,9 år 1999. Resistent tbc har varit ovanlig i Sverige men har under senare år ökat och utgör idag över 10 procent av alla nya fall.

Resistent tbc är vanligare bland utlandsfödda än bland svenskfödda (Tabell I).

»Fingeravtryck« av infekterande organismer

Molekylärepidemiologiska metoder har under senare år utvecklats till kraftfulla redskap för epidemiologisk smittspårning. Metoderna bygger på »fingeravtryck« av de infekterande organismerna. Fynd av isolat med identiska fingeravtryck hos olika individer talar för ett epidemiologiskt samband

SAMMANFATTAT

Resistent tuberkulos är ett globalt problem. I Sverige har resistent tuberkulos varit sällsynt, men sjukdomen har ökat under senare år.

Mycobacterium tuberculosis-isolat från 192 patienter med resistent tuberkulos i Sverige under 1994–2000 har studerats med molekylärepidemiologiska metoder.

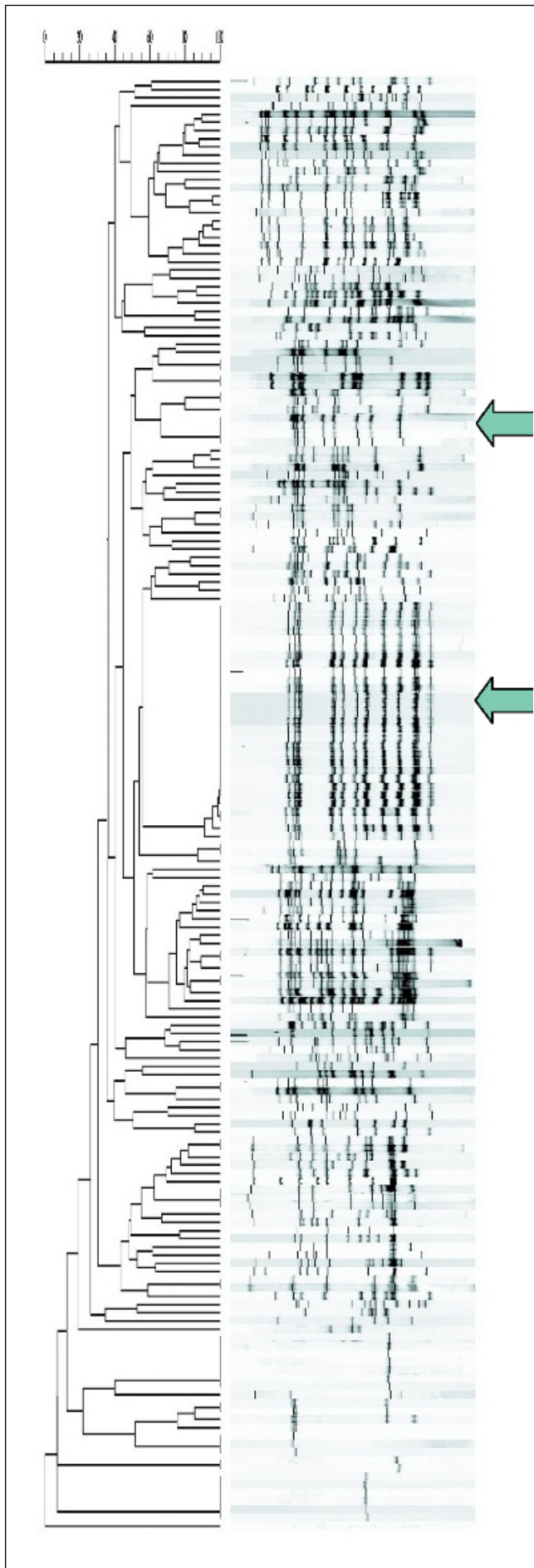
Flera kluster av identiska stammar (2–27 patienter per kluster) identifierades.

Fyndet visar att spridning av resistent tuberkulos förekommer i Sverige.

För att förhindra resistensutveckling rekommenderar WHO behandling och uppföljning enligt DOTS-principen, »directly observed treatment short course«. Varje enskild patient följs under hela den långa behandlingsperioden och får sin dagliga medikamentella behandling under uppsikt av sjukvårdsansvariga inom programmet.

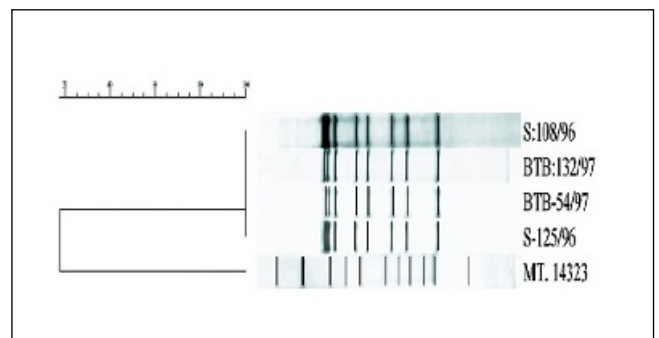
Molekylärepidemiologi är en kraftfull metod för att upptäcka tidigare okända smittvägar och utbrott av tuberkulos.

Se även medicinsk kommentar i detta nummer.



Figur 1 (till vänster).
Molekyläpidemiologiska fingeravtryck av 192 resistenta tbc-stammar från Sverige 1994–2000. Pilar indikerar kluster av identiska stammar.

Figur 2 (nedan).
Molekyläpidemiologiska fingeravtryck av isolat från utbrott med fyra isolat:
Rad 1: isolat från barn med meningit;
rad 2–4: isolat med identiska avtryck;
rad 5: referensstam.



mellan dessa individer. För studier av tbc finns en internationellt standardiserad metod [1] för molekyläpidemiologisk typning, »restriction fragment length polymorphism« (RFLP), med en internationell databas med typmönster, så att man kan identifiera isolat med identiskt mönster från hela världen.

Danmark och Norge har sedan flera år på detta sätt typat alla tbc-isolat från nyupptäckta fall och funnit epidemiologiska samband som utan dessa metoder inte skulle ha upptäckts [2]. Sedan 1994 har resistenta tbc-isolat från patienter med nyupptäckt tbc i Sverige typats vid Smittskyddsinstitutet med denna metod. Resultat för 1994–2000 redovisas i det följande.

II Metod

Studien baseras på isolat av *Mycobacterium tuberculosis* från 192 patienter med nyupptäckt resistent tbc under åren 1994–2000. Bakterieisolat av *M tuberculosis* insamlades från landets tbc-laboratorier (Göteborg, Linköping, Lund, Malmö, Stockholm och Umeå). Stammarna typades med standardmetoder, och känslighet för kemoterapeutika bestämdes med Bactec 460-systemet.

De stammar som var resistenta mot minst ett av preparaten streptomycin, isoniazid, etambutol eller rifampicin inkluderades i studien.

Odling och analysering

Isolaten odlades på Löwenstein Jensen-medium, DNA extraherades, varefter DNA-koncentrationen bestämdes spektrofotometriskt. RFLP utfördes med användning av insertionssekvensen IS-6110 som sond för hybridisering och PVU-II som restriktionsenzym [1]. Separering utfördes med elektrofores, separerade fragment överfördes till ett membran och hybridiserades. Synliga band analyserades med Gel Compar

Tabell I. Resistent tbc i Sverige.

	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Antal undersökta stammar	439	460	417	380	364	412	366
Resistenta stammar, procent	6,2	9,8	8,9	8,9	7,7	14,4	12,9
Resistens, födda i Sverige, procent	2,1	2,0	4,7	5,1	3,6	9,4	10,1
Resistens, födda utrikes, procent	8,4	15,3	9,2	10,9	10,2	16,9	14,0

mjukvara. Stammar som hade identiska RFLP-mönster (100 procents likhet) bedömdes tillhöra ett kluster.

II Resultat

Totalt 192 isolat från lika många patienter (ålder mellan 6 månader och 87 år, medelålder 36 år) studerades. 125 stammar uppvisade singelresistens: 2 mot etambutol, 87 mot isoniazid, 4 mot rifampicin och 32 mot streptomycin. 67 stammar uppvisade resistens mot två eller flera preparat, varav 26 stammar uppvisade multiresistens, dvs var resistenta mot rifampicin och isoniazid, eventuellt också mot ytterligare något preparat.

De flesta isolaten uppvisade individuella RFLP-mönster (Figur 1). Under åren 1996 till 2000 fann vi dock ett stort kluster bestående av 34 identiska isolat. Åldern hos dessa patienter var 15–47 år, medelålder 25 år. Mellan 1996 och 1998 identifierades två isolat per år med detta RFLP-mönster; 20 sådana isolat identifierades under 1999, 8 isolat år 2000. När isolatens RFLP-mönster jämfördes med den internationella databasen T-base matchade deras mönster till 92,3 procent med mönstret hos ett isolat från en patient i Ruanda (referensstam BEA-000007341), vilket talar för ett starkt släktskap med denna stam.

Alla isolat från detta kluster var resistenta mot isoniazid men känsliga för etambutol och rifampicin. Tio isolat var resistenta mot streptomycin.

Kluster med ursprung i Afrika

De patienter som hade dessa isolat var alla födda i Afrika; de flesta var från Somalia, några från Etiopien, Ghana och Zaire. En patient hade diagnostiserats i Umeå, en i Örebro, alla övriga patienter var från Stockholmsområdet. På basis av den information som framgick av den kliniska anmälan bedömer vi att en aktiv spridning av denna M tuberculosis-klon har förekommit, då flera av patienterna var unga och/eller hade en primär tbc (t ex pleurit).

Detta har också bekräftats av behandlande läkare [Olle Widström, pers medd, 2002].

Exempelvis fann man under pågående miljöundersökning att en kvinna smittats av en sammanboende kvinna på ett ungdomsboende, för att senare överföra infektionen till sin make och tre systrar, som alla utvecklade tidig lungtuberkulos. En nära bekant insjuknade i tbc-pleurit, allt talande för aktiv spridning inom gruppen.

Epidemiologiska samband

Utöver detta kluster sågs ytterligare några mindre kluster, omfattande mellan två och fyra personer. Det största av dessa bestod av fyra multiresistenta isolat (Figur 2). De fyra patienterna inom detta kluster kom alla från samma landstingsområde. Det första fallet var ett barn med tbc-meningit. Två månader senare identifierades en vuxen man med öppen tuberkulos orsakad av samma stam. Trots stora ansträngningar i kontaktspåringsarbetet framkom ingen säkerställd direktkontakt mellan dessa två patienter.

Följande år identifierades ytterligare två fall med samma stam: en kvinna som haft kontakt både med barnet med meningit och med den tidigare identifierade mannen, samt ytterligare en man. Denna man var bror till kvinnan och hade dessutom tidigare delat lägenhet med den första mannen.

Det fanns alltså epidemiologiska samband mellan fallen, som bekräftades av isolatens individuella RFLP-mönster.

II Diskussion

Merparten av patienterna med resistent tbc i Sverige kommer från länder med en hög incidens av resistent tbc. De flesta fall av resistent tbc har antagits vara importfall, dvs patienterna har smittats i sina ursprungs länder.

Vi har emellertid funnit att spridning av resistent tbc förekommer även inom landet. Detta är en tydlig varningssignal. Utvecklingen och spridningen av resistent tbc i en population beror på ett dåligt fungerande tuberkulosprogram, där patienter inte fullföljer behandlingen, förloras för uppföljning eller inte identifieras. För ett adekvat tbc-program krävs enligt WHO en korrekt fullföljd behandling av minst 85 procent av patienter med lungtuberkulos. En studie visar att endast 71 procent av nya fall av tbc i Sverige var botade inom tolv månader under åren 1994–1995 [3]. Hela 15 procent hade förlorats ur sikte. Detta är långt under den standard som krävs för ett adekvat tbc-program.

Tuberkulosmottagning även i Sverige

WHO har identifierat problemet och initierat ett behandlingsprogram, »directly observed treatment short course«, DOTS. Varje enskild patient följs under hela den långa behandlingsperioden och får sin dagliga medikamentella behandling under uppsikt av sjukvårdsansvariga inom programmet. DOTS-programmet har med goda resultat tillämpats i många länder, dock endast undantagsvis i Sverige.

Vid infektionskliniken, Huddinge Universitetssjukhus, har man inrättat en särskild tuberkulosmottagning för behandling och uppföljning enligt DOTS-principen för selekterade patienter.

Effektiv metod för att kartlägga smittvägar

Molekylärepidemiologisk karakterisering av isolat från patienter med nyupptäckt tbc är en kraftfull metod för att upptäcka tidigare okända smittvägar och utbrott. I fallet med stora utbrottet med en isoniazidresistent klon var både det faktum att man fann klonen återkommande under flera år och den stora ansamlingen av fall under 1999 en indikation på att aktiv spridning av tbc förekom i befolkningen.

I fallet med barnet som hade multiresistent tbc-meningit var det faktum att man samma år fann ytterligare en patient med samma multiresistenta stam en stark indikation på förekomsten av en upptäckt smittkälla. Detta bekräftades påföljande år, då man fann den gemensamma smittkällan.

Referenser

1. Van Embden JDA, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, et al. Strain identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprinting: recommendations for a standardised methodology. *J Clin Microbiol* 1993;31:406-9.
2. Bauer J, Yang Z, Poulsen S, Andersen AB. Results from 5 years of nationwide DNA fingerprinting of Mycobacterium tuberculosis complex isolates in a country with a low incidence of M tuberculosis infection. *J Clin Microbiol* 1998;36:305-8.
3. Romanus V, Julander I, Blom-Bulow B, Larson LO, Normann B, Boman G. Det finns brister inom den svenska tuberkulosvården. Fullgott resultat efter tolv månader hos endast 71 procent visar aktuell studie. *Läkartidningen* 2000; 97:5613-6.

SUMMARY

Isoniazid resistant M tuberculosis spreading in Sweden – strain identification by DNA fingerprinting may identify the sources of infection

Solomon Ghebremichael, Tuija Koivula, Sven Hoffner, Victoria Romanus, Björn Petrini, Britt Norén, Staffan Sylvan, Gunilla Källenius

Läkartidningen 2002;99:2618-23

Resistance of Mycobacterium tuberculosis to antibiotics is a world wide problem. A study is reported with the aim to analyse the spread of resistant isolates of M tuberculosis complex from patients with tuberculosis in Sweden.

The study is based on a sample of 192 M tuberculosis complex isolates from patients with drug resistant tuberculosis during 1994–2000. All isolates resistant to at least one of the drugs streptomycin, isoniazid, ethambutol and rifampicin were included in the study. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) was performed, using IS6-110 as a probe for hybridisation. Visualised bands were analysed by Gel Compar software.

The majority of the isolates were from patients born in high TB prevalence countries. During the years 1996–2000 there was one major cluster generated from 34 isolates. In 1996–1998 there were two isolates per year, in 1999 it increased to 20 isolates, and eight cases in 2000. All strains were resistant to isoniazid. All patients in this cluster were found to be from Africa.

In comparing the pattern in the T-base the strains matched with strain BEA-000007341 isolated from a patient in Rwanda.

The majority of patients with drug resistant tuberculosis in Sweden are immigrants from countries with high incidence of tuberculosis. Spread of disease to the Swedish born population is uncommon. However, an increasingly prevalent clone of isoniazid resistant tuberculosis was found among African immigrants, mainly living in the Stockholm area.

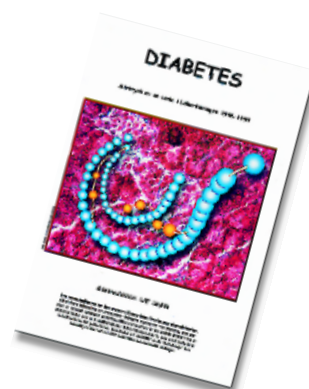
Correspondence: Gunilla Källenius, Smittskyddsinstitutet, SE-171 82 Solna, Sweden (gunilla.kallenius@smi.ki.se)

Särtryck

Läkartidningen

Nya vetenskapliga rön har lagt grunden till en ny klassifikation, nya diagnoskriterier, effektivare behandling och prevention – inklusive vaccination – av diabetes, som uppvisar en närmast epidemisk spridning. Målen och medlen för den snabba förbättringen av diabetesvården som nu är möjlig belyses i Läkartidningens serie, som också analyserar konsekvenserna för patienterna, sjukvården och samhället av de förändringar som Socialstyrelsen hösten 1999 fastställde som nationella riktlinjer.

Priset är 70 kronor



Diabetes

Beställer härmed.....ex
av "Diabetes"

.....
namn

.....
adress

.....
postnummer

.....
postadress

Insändes till Läkartidningen
Box 5603
114 86 Stockholm

Faxnummer: 08-20 74 35

www.lakartidningen.se
under särtryck, böcker