



UPPSALA  
UNIVERSITET

# Tuberkulos

mikrobiell patogenes och behandling

Hanna Lindberg

---

Independent Project in Biology

Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2010

Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

## Sammanfattning

Tuberkulos (tbc) är en luftburen infektionssjukdom orsakad av den stavformade aeroba bakterien *Mycobacterium tuberculosis* (*M.t*). Tbc anses av WHO vara ett akut globalt hot. Varje sekund smittas någon av tbc och en tredjedel av världens befolkning beräknas vara smittade av *M.t*. De huvudsakliga faktorerna som ökar en individs risk att utveckla tbc är fattigdom och ett nedsatt immunförsvar.

Anledningarna till att tbc fortfarande är ett problem ligger framförallt i *M.ts* morfologi. Bakteriens unika fettrika yttre försvårar diagnos samt behandling av infektionen och ligger till grund för bakteriens patogenitet. Väl inne i individen både stimulerar samt hämmar bakterien värdens immunförsvar. Det finns ett flertal antibiotika mot *M.t* men en ökad resistens utveckling hos bakterien samt HIV/AIDS-pandemin har minskat effektiviteten av dessa läkemedel och försvårat behandlingen av smittade individer.

Forskning kring nya vacciner och läkemedel mot tbc har ej prioriterats men i och med det ökande globala hotet av tbc har forskning ökat och ett flertal vaccin och läkemedel befinner sig i kliniska studier.

## Inledning

Infektionssjukdomen tuberkulos (tbc) har följt människan i tusentals år. Spår av tbc har upptäckts så långt tillbaka som 5000 f. Kr och till och med Hippokrates och Aristoteles nämnde förekomsten av en kronisk lungsjukdom som troligtvis är det vi nu kallar tuberkulos. En milstolpe i medicinsk forskning nåddes 1882 då den tyska läkaren Robert Koch lyckades identifiera den fundamentala orsaken till tbc nämligen en small stavformad bakterie som Koch benämnde *Mycobacterium tuberculosis* (*M.t*). (Herzog 1998)

Efter att tbc betraktats i det närmaste utrotat har problematiken kring sjukdomen ökat och tbc anses nu vara ett akut globalt hot (WHO 2010a). Tbc utgör en enorm börda både på familjenivå samt national nivå. En familj beräknas förlora 20 till 30 % av sin årliga inkomst om en arbetsför familjemedlem insjuknar. Om denna individ sedan dör beräknas familjens ekonomiska förlust motsvara 15 årsinkomster (Laxminarayan *et al* 2007). I subsahariska Afrika beräknas den ekonomiska bördan av dödsfall orsakade av tbc vara \$519 miljarder mellan 2006 och 2015 (Laxminarayan *et al* 2007) om inte någon slags behandling finns tillgänglig. Dessa förluster kan långsiktigt ha enorma konsekvenser på ett lands ekonomi och utveckling.

Idag finns det inget effektivt vaccin mot tbc och bakteriell resistens mot alla använda läkemedel mot tbc har upptäckts (WHO 2010a). För att minska spridningen av sjukdomen samt den ökande bakterieresistensen är det viktigt att människor informeras om att tbc är ett högst aktuellt problem. Denna litteraturstudie avser att klargöra sjukdomens patogenes samt dess behandling inklusive de resistensproblem som har uppstått kring detta. Arbetet kommer dessutom att diskutera nya behandlingar som är under utveckling. En ökad förståelse av detta är nödvändigt för utveckling av nya läkemedel och ett fungerande vaccin så att man kan komma till bukt med pandemin.

## Epidemiologi

Förutom AIDS är tbc den mest dödliga infektionssjukdomen i världen (WHO 2010a). Varje sekund smittas en person av tbc och 2008 var en tredjedel av världens befolkning infekterad med *M.t*. Totalt beräknades det att 1,4 miljoner människor dog av tbc samma år. Detta innebär att 2008 dog cirka 4,900 personer per dag på grund av tbc. Den globala incidensen av tbc minskade 2008 men trots denna minskning ökade både den globala prevalensen och mortaliteten på grund av populationsökningar. Antal fall varierar mellan länder, och också med avseende på individers socioekonomiska ställning och kön. För tillfället ökar antal nya fall mest i sydöstra Asien medan det totala antalet fall per capita är högst i Afrika med nästan dubbelt så många fall per 100,000 som i Asien (WHO 2009a, 2009b, WHO 2010a).

## Riskfaktorer

Det finns två huvudgrupper av riskfaktorer associerade med tbc: förhållanden som ökar risken av att exponeras för infektionen och förhållanden som ökar risken av att utveckla själva sjukdomen efter infektion.

Av de risker som ökar en individs exponering för infektionen är en utav de huvudsakliga vistelse i trånga och dåligt ventilerade miljöer (Gustafson *et al* 2004, WHO 2005). Fattiga, personer i flyktingläger samt fängelser befinner sig ofta i sådana miljöer (Connolly *et al* 2007, Sanchez *et al* 2009) och löper därmed en större risk att exponeras för bakterien. Sjukvårdspersonal som handskas med tbc-sjuka samt invånare i länder med en hög prevalens av tbc löper också en större risk att infekteras.

Flera faktorer ökar sannolikheten att en person utvecklar tbc efter att ha infekterats. Sjukdomar som försvagar en individs immunförsvar, så som diabetes mellitus, silikos, leversjukdomar och HIV, samt medicinska behandlingar med kortikosteroider eller organtransplantation, påverkar risken för att utveckla tbc (CDC 2009, Nardell 2009). Andra tillstånd såsom missbruk, hemlöshet och undernäring spelar också in i benägenheten att utveckla sjukdomen (CDC 2009). Forskare har även lyckats visa ett samband mellan risken att utveckla sjukdomen och genetiska förändringar (Tso *et al* 2005).

## ***Mycobacterium tuberculosis***

Mykobakterier tillhör släktet *Mycobacterium*, familjen Mycobacteriaceae, klassen Cornebacterineae samt fylat Actinobacteria. Det finns ett flertal arter inom *Mycobacterium*-släktet av vilka ett antal är patogena, exempelvis *M. tuberculosis* och *M. leprae*. *M. leprae* orsakar lepra medan *M.t* orsakar tuberkulos. (Brooks *et al* 2004, Levinson *et al* 2008)

*M.t* är en sakta växande obligataerob, stavformad syra fast bakterie (Levinson 2008, Brooks *et al* 2004). Med hjälp av kryoelektron mikroskopi har ett yttre membran analogt med det hos gramnegativa bakterier påvisats medan samma teknik har visat att *M.ts* periplasmatiska utrymme liknar det hos grampositiva bakterier (Zuber *et al* 2008).

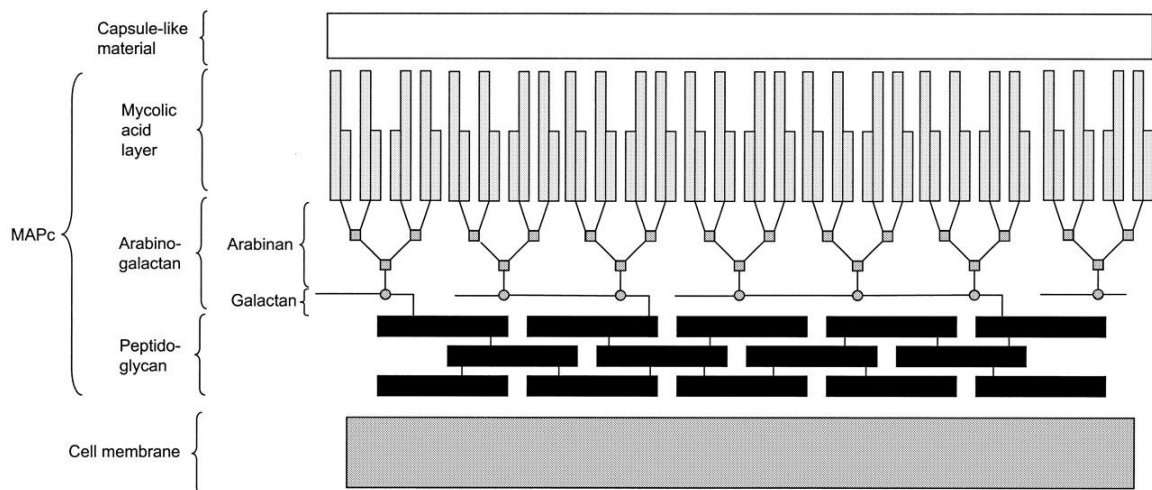
*M.ts* morfologi är väsentlig för dess patogenitet och för att förstå *M.ts* patogenes är det viktigt känna till beståndsdelarna av bakteriens yttre struktur, närmare bestämt dess plasmamembran, dess cellvägg och dess yttrehölje.

### **Plasmamembran**

Cellmembranet är nödvändigt för flera av cellens fysiologiska aktiviteter. Bland annat styr membranet passagen av molekyler både in i och ut ur cellen, ATP-syntes, upprätthållande av cellens elektrokemiska gradient samt cellens respons till sin omgivning. Det tvåskiktade membranet omsluter cellen och består av amfipatiska fosfolipider samt associerade membranproteiner. Proteinerna i cellmembranet kan agera som receptorer eller enzymer, eller hjälpa i transporten av ämnen över membranet. (White 2000, Alberts *et al* 2010)

### **Mykolsyra-arabinogalaktan-peptidoglykankomplex**

Efter plasmamembranet följer bakteriens cellvägg. Cellväggen hos *M.t* består av två huvuddelar; en inre del och en yttre del. Den inre delen kallas ofta för MAPc vilket står för mykolsyra-arabinogalaktan-peptidoglykankomplex. Denna delkomponent ligger intill plasmamembranet och består, om man förflyttar sig utåt från plasmamembranet, av peptidoglykan (PG) kovalent bundet till arabinogalaktan (AG), som i sin tur är länkad till mykolsyra (Brennan 2003).



Figur 1. Schematiskt tvärsnitt av *M.t* cellhölje med fokus på MAPc. Notera att inga fria membranlipider så som mykol-trehalos, phthiocerollipider eller lipoarabinomannan visas. Det yttersta kapselliknande lagret består av lipider, glykaner, peptider samt proteiner som inte är kovalent bundna till MAPc. Återgiven från Crick *et al* 2001 och Daffé och Draper 1998 med tillstånd från upphovsrättsinnehavarna.

Figur 1 återger bakteriens cellhölje. I bilden ligger PG och galaktanet parallellt med plasmamembranet. Forskare är dock oeniga om denna orientering. Visa hävdar att strukturen som visas i figur 1 är riktig (Ghuysen *et al* 1968, McNeil & Brennan 1991) medan andra studier påvisar en mer spiralliknande struktur på peptidoglykanet och galaktanet som dessutom anses ligga vinkelrätt med cellmembranet (McNeil & Brennan 1991, Dmitriev *et al* 2000, Meroueh *et al* 2006). Detta arbete kommer ej att beröra cellhöljets tredimensionella struktur och därför används figuren för enkelhetens skull.

### Peptidoglykan

PG är en komplex heteropolymer som omger hela bakteriecellen och består av glykankedjor korslänkade av aminosyror (White 2000). PGs huvudsakliga funktion är att ge bakterien styrka för att motstå osmotiskttryck (White 2000). Vanligtvis består PG av linjära kedjor av N-actetylmuraminsyra och N-actetylglukosamin. I de flesta bakterier är dessa sockerarter alternerande bundna med  $\beta$ -1,4-bindningar (Carlson & Linder 2008). Detta slags PG, N-actetylglukosamin-1  $\rightarrow$  4-N-actetylmuraminsyra, utgör dock mindre än 10 % av mykobakteriens peptidoglykanlager. Den övervägande delen av *M.ts* PG innehåller en modifierad muraminsyra så att bakteriens PG består i huvudsak av N-actetylglukosamin-1  $\rightarrow$  4-N-glykolmuraminsyra (Adam *et al* 1969, Azuma *et al* 1970). Tetrapeptidkedjor bestående av L-alanyl-D-isoglutaminyl-L-R<sub>3</sub>-D-alanin utgår från N-glykolmuraminsyra (Carlson & Linder 2008, White 2000)). Hos *M.t* är den tredje aminosyran, L-R<sub>3</sub>, meso-diaminopimelinsyra (Weitzerbin-Falszpan *et al* 1970, 1974) Genom att bilda två olika slags peptidbryggor mellan tetrapeptiderna byggs PGs strukturella integritet upp och skapar styrkan som bakterien behöver för att motstå osmotiskttryck (White 2000).

### Arabinogalaktan

Polysackariden AG länkar PG till mykolsyra (Yagi *et al* 2003). Bhamidi *et al* (2008) fann att AG består av ett galaktansegment, tre arabinossegment samt ett länksegment (LU) (Bhamidi *et al* 2008, Mikušová *et al* 1996). Förbindelsen mellan PG och mykolsyra består av två delar; en som länkar PG till AG samt en del som länkar AG till mykolsyra. Länken mellan PG och AG utgörs av  $\alpha$ -L-Rhap(1  $\rightarrow$  3)-D-ClcNAc-P- (McNeil *et al* 1990). Vidare forskning fann att två tredjedelar av alla arabinodomäner i AG är bundna till mykolsyra (McNeil *et al* 1991) och därmed länkar AG och mykolsyra. 1996 fann Mikušová *et al* att länken,  $\alpha$ -L-Rhap(1  $\rightarrow$  3)-D-

ClcNAc-P-, syntetiseras på bärarlipiden, decaprenyldifosfat (Mikušová *et al* 1996, Crick *et al* 2000) åtföljt av galaktansyntes och sedan syntes av arabinodomänerna på länkgalaktankomplexet (Mikušová *et al* 2000). Biosyntesen av dessa domäner, galaktan- samt arabinodomänerna är komplex och engagerar ett flertal enzymer.

### *Mykolsyra*

Mykolsyror är  $\alpha$ -alkyl,  $\beta$ -hydroxyfettsyror och utgör majoriteten av lipider i *M.t*s cellvägg (Toubiana *et al* 1979). Dessa fettsyror återfinns i cellväggen framför allt bundna till AG men också som fria lipider insprängda i cellväggen (Toubiana *et al* 1979) Fettsyror består av en lång meromykolatkedja och en kort  $\alpha$ -kedja (Barry *et al* 1998). Huvudfunktionen av mykolsyror är att skydda bakterien. De förhindrar uttorkning av bakterien, skyddar den från syreangrepp, möjliggör överlevnad i makrofagers fagolysosomer samt är anledningen till mykobakteriers låga permeabilitet (Liu *et al* 1996, Barry *et al* 1998).

### **Yttre fria lipider**

Insprängt bland mykolsyrorna finns det ett flertal olika lipider. Lipoarabinomannan (LAM), lipomannan (LM) samt fosfatidylinositol mannosider (PIM) är de som har väckt mest intresse men andra såsom sulfolipider, ptioceroldimykokerosate (DIM) och trehalosdimykolat (TDM) har också visat sig vara av intresse.

Studier av Chatterjee *et al* visade att LM och LAM båda är förlängningar av PIM, den huvudsakliga glykofosfolipiden i mykobakteriella cellväggar (Chatterjee *et al* 1992a). Katalyserad av ett flertal  $\alpha$ -mannosyltransferas enzymer (ManT) syntetiseras PIM stegvis varav det första steget bildar fosfatidylmyoinositolmonomannosid (PIM<sub>1</sub>) (Korduláková *et al* 2002). Ytterligare mannosylering bildar andra PIM-typer såsom PIM<sub>3</sub>, PIM<sub>4</sub>, PIM<sub>5</sub> och PIM<sub>6</sub> eller LM och LAM (Kaur *et al* 2009). Dessutom har forskning påvisat ett gemensamt strukturellt fundament PIM, LM och LAM emellan. De tre fria lipiderna innehåller nämligen en fosfatidylinositol (PI)komponent till vilken hexikala monosackarider, mannos, är fästa (Hunter & Brennan 1990). Både LM och LAM har en inre mannan del bestående av en  $\alpha$ 1,6-länkad Man<sub>n</sub>p stomme (Guerardel *et al* 2002). LAM återfinns i två former hos mykobakterier, ManLAM och AraLAM. ManLAM är täckt med mannos medan AraLAM inte är täckt (Chatterjee *et al* 1992b, Khoo *et al* 1995). Andelen ManLAM hos *M.t* varierar mellan 40 och 70 % (Khoo *et al* 1995a).

Trehalosdimykolat (TDM) är en mykolyserad disackarid som återfinns hos mykobakterier antingen fritt i cytosolen eller i cellhöljets yttremembran (Kaur *et al* 2009). DIM, ett slags vax, är den huvudsakliga lipiden i *M.t* yttrehölje och bidrar starkt till yttrehöljets svår genomtränglighet (Brennan 2003) .

### **Permeabilitet och *M.t*s cellvägg**

Det fettrika komplexa cellhöljet hos *M.t* utgör ett framgångsrikt skydd mot kemiska ämnen. Små lösta föreningar så som O<sub>2</sub> och CO<sub>2</sub> samt lipofila föreningar passerar fritt genom bakteriens cellmembran medan hydrofila ämnen passerar genom cellmembranet via poriner (Trias *et al* 1992). Forskare fann 1990 att permeabiliteten av *M. chelonae*s cellvägg var låg (Jarlier & Nikaido 1990). Denna låga permeabilitet beror huvudsakligen på den glea förekomsten av poriner i *M. chelonae*s cellvägg samt dessa poriners extremt låga genomsläppningsförmåga i jämförelse med andra bakteriella poriner (Trias *et al* 1992). Trots *M.t*s fettrika cellvägg är bakterien svår genomtränglig även för fettlösliga ämnen (Liu *et al* 1996). Detta beror på att *M.t*s långa mykolsyrakedjor minskar fluiditeten hos bakteriens cellvägg vilket i sin tur är direkt kopplat till dess permeabilitet (Liu *et al* 1996). *M.t*s låga

permeabilitet för både hydrofila och hydrofoba ämnen bidrar till svårigheterna kring medicinsk behandling av tbc.

## Kroppens immunförsvar

Kroppens immunförsvar består av två huvudsakliga komponenter: det ospecifika immunförsvaret och det specifika immunförsvaret. Det ospecifika immunförsvaret skyddar kroppen mot mikrobiella infektioner oavsett vad de orsakas av och består fram för allt av fagocyter, mördarceller och dendritiska celler. Det specifika immunförsvaret består av lymfocyter och skyddar, som namnet antyder, mot en särskild mikroorganism (Lydyard *et al* 2001). *M.t* utsätts för båda dessa system.

### Det ospecifika immunförsvaret

Det ospecifika immunförsvaret kräver ej tidigare kontakt med den angripande patogenen för att aktiveras. Det första hinder en patogen stöter på när den angriper en individ består av fysiska barriärer exempelvis mukosa i näsborrarna, cilier i trakea samt den sura miljön i magen. Efter att den angripande patogenen tagit sig förbi dessa fysiska skydd stöter den på de cellulära komponenterna i det ospecifika immunförsvaret nämligen makrofager, neutrofiler, mördarceller och dendritiska celler. Alla utav dessa celltyper spelar olika roller i kroppens försvar. (Lydyard *et al* 2001, Rabson *et al* 2005)

För att immunförsvaret skall fungera optimalt och angripa patogener är det nödvändigt att det kan urskilja kroppsegna celler från främmande och potentiellt farliga celler. Eftersom det ospecifika immunförsvaret utgör kroppens inledande respons till en infektion är det också det ospecifika immunförsvaret, fram för allt makrofager och neutrofiler har denna förmåga. Mönsterigenkänningsreceptorer (Pattern recognition receptors; PRRer) på makrofager, neutrofiler och till viss grad dendritiska celler känner igen patogenassocierade molekyllära mönster (PAMP) på främmande cellers yta och binder dessa. Dessa molekyllära mönster består fram för allt av polysackarider och polynukleotider och igenkänns som främmande eftersom de ej förekommer på värdens celler. Mannosreceptorn (MR), Toll-liknande receptorer (TLRer), renhållningsreceptorer samt differentieringskluster 14 (CD14) utgör kroppens PRRer. (Lydyard *et al* 2001, Rabson *et al* 2005).

De cellulära komponenterna i det ospecifika immunförsvaret hanterar invaderande patogener på olika sätt. Makrofager eliminerar patogener intracellulärt med en två stegs process. Patogenen fagocyteras för att sedan lyseras via både syreberoende och syreoberoende mekanismer (Shetty *et al* 2009). Makrofager presenterar patogenens antigen på sin cell yta samt frisätter ämnen, exempelvis cytokiner, som stimulerar en inflammatorisk respons hos värden (Lydyard *et al* 2001). Antigenpresenterande celler (APCer) presenterar främmande antigen genom att bilda ett komplex bestående av det främmande antigenet och proteiner som kodas från histokompatibilitetskomplex(MHC)gener. Neutrofiler är, precis som makrofager, fagocyter som eliminerar patogener intracellulärt. Neutrofiler visar dock inte upp patogenens antigen på sin cellyta; inte heller frisätter neutrofiler cytokiner och kemokiner. Det är istället makrofagers cyto- och kemokiner som lockar neutrofiler till infektionsområdet, ökar uttrycket av PRRer på dess cell yta samt aktiverar dem. Mördarceller angriper framförallt virusinfekterade celler och tumörer och undanröjer dessa extracellulärt genom frisättning av perforiner och granzymmer. Perforiner tränger in i den infekterade cellens plasma membran och bilda porer. Granzymmer tar sig sedan genom dessa porer in i cellen och inducerar apoptos (Lydyard *et al* 2001). Dendritiska celler (DC) använder sig av två olika mekanismer för att

känna igen angripande mikrober. DC är, precis som makrofager, APC. Huvudsakligen känner dock DC igen och tar upp de mikrobfragment som frisätts från makrofager efter att patogenen lyserats. (Lydyard *et al* 2001, Rabson *et al* 2005).

### **Komplementsystemet**

Komplementsystemet utgör en brygga mellan det specifika och det ospecifika immunförsvaret och består av fria och membranbundna proteiner (Brooks *et al* 2004). Dessa proteiner frisätts fram för allt av lever celler och fagocyter (Brooks *et al* 2004) och binder komplementreceptorer (CR) som återfinns på immunförsvarsceller (Ernst 1998). Via proteolytiska kaskader stimulerar komplementproteiner ett flertal immunologiska processer (Brooks *et al* 2004). Komplementsystemet stimulerar lysering av patogener, migrering av neutrofiler till infektionsområdet, opsonisering för att underlätta fagocytos samt frisättning av inflammatoriska ämnen (Brooks *et al* 2004). Opsonisering innebär att komplementproteiner binder och täcker främmande ämnen, exempelvis mikrober, och på så sätt underlättar fagocytos.

### **Det specifika immunförsvaret**

Det specifika immunförsvaret kräver en längre aktiveringsperiod än det ospecifika immunförsvaret. Efter att det ospecifika immunförsvaret aktiverats och främmande antigen presenterats på makrofagers och dendritiska cellers yta aktiveras det specifika immunförsvaret. De viktigaste cellerna i det specifika immunförsvaret är B-celler och T-celler. (Brooks *et al* 2004)

Både B-celler och T-celler är lymfocyter. B-celler agerar APC samt syntetiserar och frisätter antikroppar (immunoglobuliner, Ig). T-celler kan indelas i två grupper: T-hjälparceller ( $CD4^{+}T$ ) och cytotoxiska T-celler ( $CD8^{+}T$ ).  $CD8^{+}T$  känner igen antigen som presenteras med hjälp av MHC I-proteiner.  $CD4^{+}T$  känner igen antigen presenterade av MHC II-proteiner. T-hjälparceller frisätter interleukiner, bland annat IL2, IL4, IL5, IL10 och IL13, interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) och tumörnekrosfaktor beta (TNF- $\beta$ ). (Shetty *et al* 2009)

Det cellmedierade immunförsvaret är framför allt viktigt mot intracellulära angripare. Vid denna respons aktiveras både  $CD4^{+}T$  och  $CD8^{+}T$ . Cytokiner producerade av  $CD4^{+}T$  aktiverar makrofager och neutrofiler, stimulerar produktionen av opsoniserande proteiner och antikroppar samt aktiverar  $CD8^{+}T$  (Lydyard *et al* 2001, Brooks *et al* 2004, Shetty *et al* 2009). Aktiverade  $CD8^{+}T$  frisätter perforiner och granzymmer som i sin tur lyserar den infekterade cellen. Det humoral immunförsvaret har betydelse fram för allt mot extracellulära patogener och dess frisatta toxiner och består av B-celler, T-celler och APCs (Brooks *et al* 2004, Shetty *et al* 2009). Vid en humoral respons stimuleras B-celler att producera specifika antikroppar. Det finns flera olika klasser av antikroppar och de spelar alla olika specifika roller i det humoral immunförsvaret. I stora drag opsoniserar de patogener och virus samt neutraliserar dessas toxiner (Brooks *et al* 2004).

## ***Mycobacterium tuberculosis* och immunförsvaret**

För att förstå *M.ts* patogenes är det nödvändigt att känna till dess infektionsgång i stora drag. Som tidigare nämnts är *M.t* en luftburna patogen och på grund av detta infekteras fram för allt den smittades lungor och orsakar en pulmonär tbc. Infektionen kan dock spridas vidare till andra delar av kroppen. Endast en liten mängd av de *M.t*-stinna luftburna dropparna behöver inhaleras för att en infektion skall spridas vidare (WHO 2010a). En primär infektion



uppkommer när en individ kommer i kontakt med bacillen för första gången (Shetty *et al* 2009). Om immunförsvaret inte lyckas utrota bakterien helt kan den ligga kvar i latent form (LTBI) inuti granulomet; en så kallad latent tbc infektion. I de allra flesta fall lyckas individens immunförsvaret hantera infektionen endast tio procent av dem som infekteras av *M.t* utvecklar den aktiva sjukdomen (WHO 2010a). Om immunförsvaret försämras eller nedsätts hos en individ med LTBI riskerar denna att utveckla en aktiv tbc. Denna reaktivering av infektionen klassificeras som en sekundär infektion. Det är oftast på denna väg en individ utvecklar en aktiv tbc (Shetty *et al* 2009).

### Den primära infektionen

Efter inandning når bakterien värdens alveoler och fagocyteras prompt av alveolära makrofager samt dendritiska celler. För att *M.t* ska få tillträde till dessa celler och framkalla en immunologisk respons måste bakterien kännas igen som främmande och binda till cellernas yta. Detta sker via ett flertal receptorer, bland annat PRRer, Fc-receptorer samt CR (Ernst 1998, Lydyard *et al* 2001). MR medierar fagocytos samt nedbrytning av intagna mikrober och uttrycks både på makrofager och DC (Lydyard *et al* 2001). MR anses ha ett brett igenkänningspektrum eftersom den besitter åtta domäner som känner igen olika polysackarider (Lydyard *et al* 2001). Ett flertal av *M.ts* cellväggskomponenter har påvisats vara ligander som binder MR. Både ManLAM och PIM har visats binda MR (Schlesinger *et al* 1994). LM, ytterligare en vanligt förekommande komponent i *M.ts* cellvägg, binder dock inte MR (Torelles *et al* 2006). LM, PIM och ManLAM binder specifika receptorer på DC (Geitjenbeek *et al* 2003, Torelles *et al* 2006). CD14 binder LAM (Pugin *et al* 1994) och LPS (Wright *et al* 1990) och *M.t* opsoniserad med C3b binder bland annat CR3 (Schlesinger *et al* 1990). Konsekvenserna av ligandbindning till celler i det ospecifika immunförsvaret varierar beroende på både vilken cell som binds, vilken receptor som används samt vilken ligand som binder. Bindning av PPE18, ett prolin-prolin-glutaminsyrakomplex på *M.ts* yta, till TLR på makrofagers yta både stimulerar frisättning av antiinflammatoriska cytokiner och hämmar makrofagernas inflammatoriska signaler (Nair *et al* 2010) medan bindning av TNF- $\alpha$  till TLR har den motsatta effekten och stimulerar frisättning av inflammatoriska cytokiner (Underhill *et al* 1999). Uppenbarligen har *M.t* förmågan att både stimulera och hämma värdens immunologiska respons.

Väl inne i fagocyterna skall egentligen *M.t* lyseras men på grund av att *M.t* undgår fagolysosombildning, det vill säga fagosomal mognad, aktiveras inte lysosomerna och eliminering av *M.t* uteblir i de allra flesta fall. Makrofager spelar den huvudsakliga rollen i denna del av den immunologiska responsen till *M.t* och är därför de som fokus kommer att ligga på. Förmågan att undgå fagolysosombildning beror på ett flertal faktorer. Specifika proteinkinaser, exempelvis proteinkinase G (Wallburger *et al* 2004), och G-proteiner så som Rab5 och Rab7 (Via *et al* 1997) har visats vara delaktiga i hämning av fagolysosombildning. Dessutom verkar intrafagosomalt pH spela en avgörande roll i *M.ts* överlevnad då fagosommembranen i infekterade makrofager befunnits ha lägre ATPas aktivitet och *M.t* överlever bättre i fagosomer med högre pH (Crowle *et al* 1991, Sturgill-Koszycki *et al* 1993). Ytterligare en faktor som bidrar till bakteriens intracellulära överlevnad är dess förmåga att rekrytera näringsämnen, exempelvis järn. Järn är nödvändigt för *M.ts* överlevnad inom makrofagen och också för aktivering av makrofagens mikrobicida mekanismer (Collins *et al* 2001). Via specialiserade ytmolekyler som binder hårt till järn säkras bakteriens tillgång till järn samtidigt som makrofagens järntillgång förhindras (Gobin *et al* 1996). *M.ts* förmåga att undvika lysering inom makrofagen är mycket komplex och ännu ej helt klarlagd men den anses vara den huvudsakliga mekanismen bakom bakteriens

patogenes. Ett högt intrafagosomalt pH samt bristen på fagosomal mognad verkar vara de processer som möjliggör *M.t* överlevnad (Shetty *et al* 2009).

Som resultat av den uteblivna lyseringen fortsätter bakterien att föröka sig inom makrofagerna. Till slut spricker makrofagerna, bakterien frisläpps och infektionsprocessen börjar om (Lee *et al* 2006). Dock lyckas några makrofager och DC bryta ner bakterien och framgångsrikt presentera dess antigen (Lydyard *et al* 2001) samtidigt som dessa makrofager frisätter ett flertal kemokiner och cytokiner (Lydyard *et al* 2001). Antigenet, de frisatta kemo- och cytokiner och makrofagfragment aktiverar det specifika immunförsvaret och ett stort antal immunceller, bland annat B- och T-celler, rekryteras till infektionsområdet.

På grund av bakteriens långsamma tillväxt samt dess förmåga att förhindra uppvisandet av sitt antigen tar det dock mellan två och sex veckor innan denna cellmedierade respons sätter igång (Shetty *et al* 2009). Responsen till infektionen är komplex men i stora drag bildas ett granulom som följd av anländande immunförsvarets celler och inom detta begränsas och kontrolleras infektionen. Studier har visat att det utvecklande granulomet besitter en struktur där de infekterade makrofagerna är separerade från den cellmedierade responsens lymfocyter. Granulomet utgörs av ett inre lager bestående av ett flertal typer differentierade makrofager samt nekrotiskvävnad vilket omsluts av CD8<sup>+</sup> celler och ett yttre lager bestående av APC, T-celler och B-celler (Gonzalez-Jaurero *et al* 2001, Ulrichs *et al* 2004). Miljön inom granulomet är sur och bakteriens tillgång till näringsämnen och syre begränsad. Ett flertal cytokiner är inblandade i utvecklandet av granulom. De inaktiverade makrofagerna aktiveras av IFN- $\gamma$  från T-celler, medan TNF- $\alpha$  har visat sig vara nödvändig för granulomutveckling (Dalton *et al* 1993, Chakravarty *et al* 2008). Kombinationen av granulysin och perforin har kopplats direkt till en minskad intracellulär överlevnad av *M.t* (Stenger *et al* 1998). Apoptos av infekterade celler på grund av dessa cytokiner samt den sura miljön har tyvärr nackdelen att den kringliggande vävnaden också förstörs (Shetty *et al* 2009). En ostliknande ansamling av dödvävnad, makrofagfragment samt *M.t* (Gonzalez-Jaurero *et al* 2001, Ulrichs *et al* 2004) fyller mitten på granulomet.

Infektionen kan nu till följd av denna inkapsling kvarhållas inom granulomet, en så kallad latent infektion, eller avlägsnas från individen totalt efter vilket granulomet till slut försvinner (Levinson 2008). En primär infektion är oftast asymptomatisk och en latent tbc-infektion (LTBI) är alltid asymptomatisk (Shetty *et al* 2009). Det är oftast här sjukdomsutvecklingen kommer till sitt slut. Sannolikheten för att utveckla en aktiv tbc beror på ett flertal faktorer och är därför svår att fastställa. Det är ytterst sällsynt att en individ utvecklar en aktiv tuberkulos, det vill säga att sjukdomen bryter ut, vid en primär infektion (Nardell 2009).

### **Den sekundära infektionen**

Inkapsling av *M.t* inom ett granulom innebär inte alltid en total eliminering av bakterien. Istället övergår bakterien till att vara latent vilket innebär en total avsaknad metabolisk aktivitet alternativt en extremt begränsad och långsam tillväxt. Det är dessa bakterier som ligger till grund för en sekundär infektion (Davis *et al* 2009). När värdens immunförvar nedsätts brister granulomet, *M.t* frisätts och sprids i värden, och en aktiv tbc inleds (Davis *et al* 2008). Sker detta upplösande av granulomet nära ytan i lungorna frisätts nekrotisk vävnad in i lungorna och hostas upp av värden. Den bacillstinna nekrotisk vävnad är det som sprider tbc infektionen vidare (Shetty *et al* 2009). Det är i en sekundär infektion som värden är smittförande.

Symptom vid pulmonär tbc varierar från person till person, vissa uppvisar till och med inga symptom. Symptom innefattar frossa, feber, viktnedgång, samt nattsvettningar; dock är en långvarig hosta, med eller utan slem och blod, det vanligaste av alla symptom. Trots att tbc oftast drabbar en individs lungor kan bakterien, genom att sprida sig via blodomloppet, faktiskt sätta sig på ett flertal ställen i kroppen. Av dessa är miliär tbc den mest allvarliga infektion eftersom den innebär att bakterien har bildat granulom genom hela kroppen. Symptomen är desamma som vid en pulmonär infektion men involverar också oftast smärta samt nedsatt funktion i de drabbade organen. Behandling av extrapulmonär tbc är densamma som vid pulmonär tbc (Nardell 2009).

## Diagnos

Det finns ett flertal metoder för att diagnostisera en tbc-infektion. Dessa inkluderar infärgning, nukleinsyradiagnostik, cellodling, hudprover och mätning av IFN- $\gamma$ -frisättning.

### Infärgning

Graminfärgning är det vanligaste preliminära diagnostikmetoden för att identifiera bakterier men på grund av *M.t*s lipidrika cellvägg är bakterien tämligen ogenomtränglig för de flesta färgningsmedel. Bakterien är syrafast, vilket innebär att efter infärgning kan den ej avfärgas med sura organiska lösningsmedel (Shetty *et al* 2009). För att identifiera en syrafast bakterie använder man sig oftast av Ziehl-Neelseninfärgning (karbolfuschin) eller fluorokrominfärgning (auramin-rhodamin). Det färgindränkta bakterieprovet värms över ett ångbad efter vilket provet avfärgas med en blandning av saltsyra och alkohol. Ytterligare ett färgningsmedel tillsätts, oftast metylenblått, och provet analyseras. Syrafasta bakterier bibehåller färgen från det första infärgningsmedlet. Ziehl-Neelseninfärgning färgar bakterien rosa medan fluorokrominfärgning resulterar i att bakterien fluorescerar i orange. Är bakterien inte syrafast antar den färgen av färgmedlet som tillsattes sist, det vill säga metylenblått (Brooks *et al* 2004, Shetty *et al* 2009). Hur bakterien färgas är fortfarande okänt men troligtvis bildar pigmenten ett slags komplex med mykolsyrorna i cellväggen (Shetty *et al* 2009). Det finns för- och nackdelar med båda metoderna. Ziehl-Neelsen-metoden kräver en högre förstoring i jämförelse med fluorokrom metoden, och eftersom sannolikheten att upptäcka en infektion ökar desto större area som examineras innebär detta att Ziehl-Neelsen är en mindre slagkraftig metod (Brooks *et al* 2004, Shetty *et al* 2009). Fluorokrom metoden har dock sina brister. I och med att fluorokrom kan färga döda organismer finns det en risk för falska positiva resultat när metoden används. (Shetty *et al* 2009). Båda dessa metoder är dock snabba samt billiga.

### Nukleinsyradiagnostik

Både gensonder samt polymeraskedjereaktion (PCR) är exempel på nukleinsyradiagnostik som används för att fastställa en *M.t* infektion.

Gensonder används oftast efter att bakterien, med hjälp av infärgning, identifierats hos en patient. En sond utgörs av en radioaktivt inmärkt eller fluorescensinmärkt DNA- eller RNA-sekvens som är komplementär till en nukleotidsekvens man söker (Klug *et al* 2007). "Förstärkt *Mycobacterium tuberculosis* direktprov" (Gen-Probe) söker mykobakteriellt rRNA genom att använda DNA-sonder mycket specifika för *M.t*. (Shetty *et al* 2009). Andra sonder används för att identifiera rifampinresistent *M.t*. Rifampin är ett antibiotikum som används mot *M.t*. Man vet att mutationer i *rpoB*, en gen som kodar för en beståndsdel av *M.t*s RNA-polymeras, ligger till grund för rifampinresistens. Sonder som söker dessa mutationer kan

därför identifiera rifampinresistent *M.t* samt indirekt identifiera multiresistent tbc eftersom mer än 90 % av *M.t*-stammar som uppvisar rifampinresistens också uppvisar isoniazidresistens (Shetty et al 2009). Gensondstekniken anses vara snabb, billig och specifik med den är dock inte felfri. Eftersom sonderna söker mykobakteriellt rRNA kan det hända att en *M.t* infektion diagnostiseras när patienten egentligen är smittad av en annan mykobakterieart (Shetty et al 2009).

Genom upprepade replikeringscykler amplifierar PCR insertionssekvens 6110 (IS6110) hos *M.t* DNA (Brooks et al 2004). Tekniken är så pass känslig att det endast krävs en organism i provet för att en individ skall diagnostiseras, och metoden har visat sig ha en 55-90 % känslighet med en specificitet på cirka 99 % (Brooks et al 2004). PCR-resultat skall dock alltid kombineras med både infärgningsresultat och patientens symtombild för att säkerställa en diagnos (Shetty et al 2009).

### **Bakterieodling**

Ytterligare en metod som används för att diagnostisera en *M.t* infektion är cellodling. Oftast används Löwenstein-Jensen agarplattor vilka bland annat innehåller salter, glycerol, ägg och potatismjöl som odlingsmedium (Brooks et al 2004). Odlingstiden är cirka åtta veckor (Brooks et al 2004). I jämförelse med andra diagnostiska metoder anses bakterieodling vara mest slagkraftig. *M.ts* långsamma förökning är dock den stora nackdelen med metoden. För att motverka detta problem har man börjat använda sig av flytande medium och då kan odlingstiden minska till cirka tre veckor (Shetty et al 2009). När en bakteriekoloni väl utvecklats används molekyllärasonder för att urskilja *M.t* från andra mykobakterier (Brooks et al 2004)

### **Tuberkulintest**

Tuberkulin, eller renat proteinderivat (PPD) från *M.t*, *M. bovis* samt *M. avium* består av proteiner samt andra mykobakteriella beståndsdelar och utgör antigenet som används för ett tuberkulintest. Oftast används Mantouxtestet och detta utförs genom att injicera PPD subkutant och sedan mäta indurationens diameter vid injiceringsområdet efter 48-72 t. Induration betyder förhårdnad. Indurationens diameter används för att fastställa om personen i fråga har någon gång infekterats of *M.t*. Ett positivt svar innebär att individen har någon gång infekterats of *M.t*. Dock måste åtminstone minst fyra veckor gå efter en infektion för att provet skall ge ett positivt svar. (Brooks et al 2004) Hos en individ utan kända riskfaktorer bedöms svaret som positivt om indurationen är 15 mm eller större. För individer med kända riskfaktorer så som missbrukare eller sådana som bor på ett flyktingläger anses en induration mellan 10 och 15 mm positiv. För patienter med AIDS samt personer som varit i kontakt med tbc-sjuka anses en induration mellan 5 och 10 mm vara positiv (Levinson 2008).

Tekniken är inte utan sina nackdelar. Cirka 20 % av aktiva fall ger negativa svar och studier har visat att upp till 50 % av svaren hos svårt AIDS sjuka har varit falskt negativa (Levinson 2008). Dessutom kan andra mykobakteriella infektioner utlösa positiva svar. Personer som har vaccinerats med BCG-vaccinet kan påvisa positiva resultat. I detta fall anses individen i fråga ej vara infekterad. (Shetty et al 2009). På grund av dessa svårigheter måste alla tuberkulintest användas tillsammans med andra diagnostiska metoder för att fastställa en infektion.

### **INF-γ frisättnings analys**

INF-γ frisättnings analys (IFGRAs) är en ny utveckling inom tbc diagnostik. 2005 godkändes QuantiFERON-TB Gold (QFT-G) av Livsmedelsverket-Läkemedelsverket (Food and Drug Administration) i USA för att diagnostisera både LTBI och aktiv tbc. Provet använder sig av

två antigen, ESAT-6 och CFP-10, som endast förekommer hos individer smittade av *M.t.* Dessa två antigen förekommer inte i icke-tuberkulösa mykobakteriella infektioner och inte heller hos personer som vaccinerats mot tbc. ESAT-6 och CFP-10 stimulerar frisättning av INF- $\gamma$  från T-celler, som sensibiliserats för dessa specifika antigen genom en tidigare exponering för bakterien. Analysen kan därför användas för att diagnostisera både en aktiv och en latent tbc-infektion. När analysen utförs blandas blod från individen som exponerats för *M.t.* med syntetisk ESAT-6 och CFP-10, varefter mängden INF- $\gamma$  i blodet mäts. Endast individer som tidigare kommit i kontakt med *M.t.* uppvisar INF- $\gamma$  syntes vid exponering för dessa två antigen. INF- $\gamma$  frisättningsanalys anses vara överlägsen tuberkulintestet eftersom IFGRA är snabbare (mindre än 24 timmar behövs för ett resultat) och risken för fel är mycket mindre eftersom resultatet bygger på en uppmätt siffra och inte en subjektiv bedömning av en induration. Eftersom IFGRA är en så pass ny diagnostisk metod finns det fortfarande oklarheter kring dess användning. Hur medicinsk behandling påverkar ett IFGRA-resultat, vad kostnaden för IFGRA blir i jämförelse med tuberkulintest, om/hur IFGRA påverkas vid saminfektion med HIV är bara några exempel på områden som måste klargöras. (Shetty *et al* 2009)

## Medicinsk behandling av tuberkulos

En mångfacetterad attackmekanism krävs för att effektivt motverka en *M.t.*-infektion. För att en medicinsk behandling skall anses effektiv skall den hindra uppkomsten av resistens samt utöva en baktericid effekt på både aktiva och latenta bakterier. Genom att kombinera olika läkemedel i en behandling lyckas man uppfylla dessa krav. På grund av en ökad resistens problematik har man utvecklat ett flerstegssystem för att behandla tbc.

### Förstahandsläkemedel vid tuberkulos

Det första behandlings alternativet vid en tidigare obehandlad tbc består av en kombination av isoniazid, rifampicin, pyrazinamid, etambutol och streptomycin (Bennet & Brown 2008). Vanligast är att patienten behandlas med isoniazid, rifampicin, pyrazinamid och etambutol i två månader följt av en fyra månaders period med endast isoniazid och rifampicin (Nardell 2009).

#### *Isoniazid*

Isoniazid eller isonikotinsyrahydrazid är mycket specifikt mot *M.t.* (Sköld 2006). Isoniazid är en prodrug som aktiveras av katalas-peroxidase hemoproteinet KatG, som är unikt för *M.t.* (Brennan *et al* 2008). Isoniazid hämmar InhA, ett enzym inblandat i mykolsyrasyntesen (Sköld 2006, Brennan *et al* 2008) och har på grund av detta baktericid verkan mot aktivt växande bakterier och bakteriostatisk mot latenta vilande bakterier (Bennet & Brown 2008). Resistens mot isoniazid har kopplats till mutationer i både genen som kodar för InhA (*inhA*) samt den som kodar för KatG (*katG*) (Sköld 2006, Brennan *et al* 2008). InhA är ett nödvändigt enzym vid mykolsyrasyntes och eftersom isoniazid hämmar InhA kan en mutation i *inhA* leda till en minskad känslighet för isoniazid. KatG aktiverar isoniazid och en mutation i *katG* kan resultera i att isoniazid inte aktiveras i patienten och därmed inte kan utöva sin påverkan.

#### *Rifampicin*

Rifampicin har en baktericid effekt mot tbc jämförbar med isoniazid (Brennan *et al* 2008) och anses ha en god effekt mot latenta bakterier (Brennan *et al* 2008). Rifampicin har ett mycket brett antibakteriellt spektra och används bland annat för att behandla lepra, meningit och svåra

stafylokockinfektioner (Sköld 2006). Rifampicin utövar sin verkan genom att binda RNA polymeras och hämmar på detta sätt DNA transkription (Sköld 2006). RNA polymeras består av fem underenheter och av dessa fem är det  $\beta$  underenheten som katalyserar RNA syntes (Sköld 2006, Brennan *et al* 2008) Rifampicin tros binda och hämma  $\beta$  underenheten av RNA polymeras. Motsvarande RNA polymeras hos däggdjur binder ej rifampicin vilket gör rifampicin väldigt selektiv för bakterier (Sköld 2006). Mutationer i genen som kodar för  $\beta$  underenheten har visat sig ligga bakom mer än 97 % av alla fall av rifampicin resistens (Brennan *et al* 2008).

#### *Pyrazinamid*

Pyrazinamid visar god baktericid effekt på både aktiva och vilande bakterier (Bennet & Brown 2008). Vid intag omvandlas pyrazinamid till pyrazinoinsyra av intrabakteriell pyrazinamidas (Brennan *et al* 2008, Bennet & Brown 2008). Verkningsmekanismen hos pyrazinamid är okänd, men pyrazinamid resistent bakterier har uppvisat mutationer i de gener som kodar för pyrazinamidas (Sköld 2006).

#### *Etambutol*

Etambutol utövar sin bakteriostatiska effekt genom att hämma enzymer inblandade i cellväggs/ syntes hos mykobakterier, mest verkar etambutol påverka AG- och LAM-syntes (Brennan *et al* 2008). Troligtvis orsakas etambutol resistens av mutationer i de gener som reglerar syntes av enzymer involverade i cellväggs syntes (Sköld 2006).

### **Andrahandsläkemedel vid tuberkulos**

Om behandling av tbc med förstahandsläkemedel inte visar någon effekt, eller om patienten ej tolererar något av läkemedlen använder man sig av andrahandsläkemedel istället. Behandling av tbc med andrahandsläkemedel tar mellan 12 och 24 månader (Bennet & Brown 2008). De tre viktigaste andrahandsläkemedel som används mot tbc är aminoglykosider, kapreomycin och fluorokinoloner. Andra läkemedel så som etionamid och cykloserin används också som andrahandsläkemedel vid tbc (Nardell 2009)

#### *Aminoglykosider*

Streptomycin, kanamycin och amikacin är alla exempel på aminoglykosider som används för att behandla tbc (Bennet & Brown 2008). Streptomycin används dock inte längre i Sverige på grund av dess svåra biverkningar (Sköld 2006). Aminoglykosider fungerar på så sätt att de binder 30S-komponenten i bakteriens ribosomer, vilket resulterar i syntes av felaktiga proteiner som i sin tur utövar en baktericid effekt (Sköld 2006, Bennet & Brown 2008). Troligtvis uppkommer resistens mot aminoglykosider på grund av punktmutationer i 16S rRNA, en beståndsdel i 30S-komponenten av bakteriella ribosomer, samt i ribosomala proteinet S12 (Sköld 2006, Brennan *et al* 2008). Kanamycin och amikacin kan användas vid behandling av vid behandling av streptomycinresistent tbc (Nardell 2009).

#### *Kapreomycin*

Kapreomycin är en icke-aminoglykosid som ofta grupperas med aminoglykosider på grund av dess likartade verkningsmekanism (Nardell 2009). Kapreomycins kompletta verkningsmekanism är ej helt klarlagd men läkemedlet påverkar proteinsyntesen genom att interagera med ribosomer (Brooks *et al* 2004). Kapreomycinresistens är, precis som med aminoglykosider, kopplad till mutationer i 16S rRNA (Brennan *et al* 2008). Kapreomycin kan användas vid aminoglykosidresistent tbc (Brooks *et al* 2004, Brennan *et al* 2008).

#### *Fluorokinoloner*

Fluorokinoloner så som levofloxacin, moxifloxacin och ofloxacin är de mest effektiva andrahandsläkemedel vid en tbc infektion (Nardell 2009). Fluorokinoloner utövar en baktericid effekt genom att hämma bakteriell DNA-topoisomeras II och IV och hindrar på detta sätt DNA-replikering, transkription, DNA-reparation samt genetisk rekombination (Björn *et al* 2005). Fluorokinolonresistens uppkommer oftast på grund av mutationer i generna som kodar för topoisomeras II och IV (Brennan *et al* 2008).

### **Resistens och tuberkulos**

Uppkomst av resistent tbc har försvårat utrotning av tbc. Bakteriell resistens har upptäckts i alla tbc drabbade länder men prevalensen är högst i den forna Sovjetunionen och i Kina, där nästan 50 % av alla fall av multiresistent tbc MDR-TB fall hittats (WHO 2006).

Resistent tbc kan indelas i två sorter. MDR-TB och extremt resistent tbc (XDR-TB). MDR-TB är resistent mot isoniazid och rifampicin med eller utan resistens mot andra förstahandsläkemedel. Vid MDR-TB måste patienten behandlas med andrahandsläkemedel som är dyrare, mindre effektiva samt mer toxiska. XDR-TB är MDR-TB som dessutom visar resistens mot fluorokinoloner samt ytterligare ett andrahandsläkemedel. Då de läkemedel som kan användas vid XDR-TB är avsevärt mindre effektiva är denna typ av tbc väldigt svårbehandlad (Nardell 2009).

Eftersom tbc behandlas med en kombination av olika läkemedel är sannolikheten att resistens mot alla av de läkemedel som ingår i behandlingen uppkommer på grund av spontana mutationer hos bakterien ytterst låg (Nardell 2009). När väl resistens mot ett läkemedel utvecklats kan dock spontana mutationer leda till en stegvis utveckling av MDR-TB och XDR-TB. Bakteriell resistens uppkommer fram för allt på grund av mänskliga faktorer. Brist på följsamhet hos den smittade, då patienten inte fullföljer sin behandling, felaktig behandling och dåliga läkemedel tillgång är de huvudsakliga faktorerna inblandade i resistensutveckling (WHO 2010a).

### **Humant immunbristvirus (HIV), förvärvat immunbristsyndrom & tuberkulos**

2008 beräknades 33,2 miljoner människor i världen vara smittade av HIV och av dessa var en tredjedel samtidigt infekterade med *M.t* (CDC 2008). Tbc är den ledande dödsorsaken hos HIV-smittade och 50 % av HIV-smittade dör på grund av tbc (CDC 2008). För att komma till bukt med dessa associerade epidemier bör tbc-behandling prioriteras HIV/AIDS handlingsplaner och vice versa.

Det huvudsakliga problemet vid behandling av saminfekterade individer är risken för läkemedels interaktioner. Interaktionen mellan rifampicin, ett utav de mest effektiva förstahandsläkemedlen mot tbc, och bromsmediciner för HIV/AIDS utgör en utav de mer problematiska interaktionerna. Rifampicin inducerar cytokrom P450, ett enzym inblandad i metabolism av bromsmediciner, vilket leder till att dessa läkemedel metaboliseras för snabbt och HIV/AIDS-behandlingen blir ineffektiv (McCleron *et al* 2007, Brennan *et al* 2008). Trots detta hinder anses det bäst att fortsätta behandla patienten med rifampicin och bromsmediciner, eftersom detta är den mest effektiva metoden för att bekämpa båda åkommorna (Maher *et al* 2002).

### **BCG vaccin**

Bacillus Calmette-Guérin vaccin (BCG) innehåller en försvagad *M. bovis* stam och väcker ett immunförsvar som ger ett visst skydd mot tbc (Levinson 2008). Studier har dock påvisat en

spridning mellan noll och 100 % på vaccinet effektivitet. Med detta menas att vissa studier inte visat någon effekt hos vaccinet medan andra visat ett totalt skydd mot tbc (Colditz *et al* 1994, Arbeláez *et al* 2000). BCG verkar vara mest effektivt för att förhindra en sekundär infektion av tbc hos barn, dock har den inte visat sig effektivt skydda från den primära infektionen och granulomutveckling (Levinson 2008). BCG orsakar sällan komplikationer, anses därför vara ofarligt. Ett ökande problem med BCG i och med HIV/AIDS-pandemin är att det kan orsaka tbc hos personer med ett nedsatt immunförsvar, och flera studier om vaccinet effektivitet hos HIV-smittade krävs (Arbeláez *et al* 2000, Levinson 2008). På grund av studiers motsägelsefulla resultat varierar länders vaccinationsplaner. Dock anses BCG vara en ekonomisk profylax i försöken att minska förekomsten av tbc hos barn i områden med en hög tbc-prevalens.

### **Nya läkemedel och vacciner**

Forskning kring vaccin och läkemedel mot tbc har ej prioriterats på grund av ett flertal anledningar. När WHO intervjuade ett antal läkemedelsföretag nämndes kostnad, svårigheter kring hantering av *M.t* samt avsaknad av vinst som några av de anledningarna. I och med det ökande globala hotet från tbc har forskning kring läkemedel mot sjukdomen ökat och ett flertal läkemedel och vaccin befinner sig i kliniska studier.

Försök att utveckla nya vacciner mot tbc tacklar dilemmat från ett flertal infallsvinklar. För att stimulera en tidig immunologisk respons försöker forskare öka uttrycket av *M.t*-specifika proteiner hos BCG medan andra använder sig av andra försvagade mykobakterier med proteiner identiska till de hos *M.t*. *M.t* inaktiverad av värme, peptidvacciner och DNA-vacciner är ytterligare utgångspunkter i sökandet efter nya tbc-vaccin. (Sacksteder & Nacy 2002)

PA-824, en nitromizadol, är en förening under utveckling som tbc-läkemedel och befinner sig i kliniska studier (TB Alliance 2010a). Studier har påvisat en bakteriedödande förmåga hos PA-824 jämförbar med isoniazid (Tiyagi *et al* 2005). PA-824 har inte visat några P450-interaktioner vilket innebär en möjlighet att det kan ingå i kombinationsterapi. (TB Alliance 2010b). TMC 207, en kinolon, är under klinisk prövning (TB Alliance 2010b). Forskning antyder at TMC 207 utövar en baktericid effekt mot *M.t* genom att minska dess energi tillgång via en påverkan på ATP-syntas (Diacon *et al* 2009). Andra läkemedelstyper som undersöks är andra nitroimidazoler än PA-824, mykobakteriell gyrashämmare, RNA-polymerashämmare samt tryptantriner (TB Alliance 2010a).



## Diskussion

Trots forskning finns det idag inget effektivt vaccin mot tbc och resistensen mot tbc-läkemedel ökar markant. De områden som drabbas hårdast är de fattiga där det är dålig tillgång till läkemedel och HIV/AIDS-pandemin är som mest utbredd. Samtidigt som läkemedel behandlar den omedelbara sjukdomen hos en individ bidrar dessa endast minimalt i att hantera tbc globalt och långsiktigt. En handlingsplan krävs som kombinerar effektiva läkemedel, ansatser att minska riskfaktorer samt utveckling av nya behandlingsmetoder för att verkligen minska den globala bördan av tbc.

Det finns ett flertal insatser som kan göras för att minska spridningen av tbc. Sjukvårdspersonal bör instrueras i att känna igen tbc symptom, individer som löper stor risk att infekteras bör kontrolleras regelbundet och läkemedelsbehandling bör sättas in så fort en infektion upptäcks. Hygieniska åtgärder så som förbättrad ventilation av byggnader och munskydd för de som kommer i närkontakt med tbc sjuka skulle också minska spridningen av tbc. Viktigast av allt är nog att öka kunskapen om tbc hos befolkningen. Genom att upplysa om vikten av att hålla för näsa och mun vid hostning och nysning samt om vikten av att fullfölja en behandlingskur skulle man enkelt kontrollera både spridning av tbc samt uppkomsten av resistens. Viktigt också är att öka samarbetet mellan HIV/AIDS handlingsprogram och tbc handlingsprogram för att tillförsäkra dess effektivitet

För att äntligen komma till buk med sjukdomen och förhindra de 4500 individer som dör i den om året krävs det en aktiv forskning kring nya vaccin och läkemedel. Ett samarbete mellan de privata och offentliga sektorerna krävs för att försäkra tillgängliga, implementerbara och billiga behandlingar samtidigt som vinstintressen tillgodoses.

## Tack

Ett super stort tack till min handledare Karin Carlson för hennes kontinuerliga stöd, uppmuntran och tålamod. Jag vill även rikta ett ypperligt hjärtligt tack till min mentor Robert Malmgren som har hjälpt slussa mig oskadd genom processen. Martin Östberg skall tackas för sin uppmuntran och feedback under skrivandet. Och sist, men inte minst, ett stort tack till mina föräldrar Anita och Gunnar Lindberg och min fästman Karl Peterson för att de alltid trott fullständigt på min akademiska kapacitet.

## Referenser

- Adam A., Petit J.F., Wietzerbin-Falszpan J., Sinay P., Thomas D.W., Lederer E. 1969. L'acide N-glycolmuramique, constituant des parois de *Mycobacterium smegmatis*: identification par spectrometrie de masse. FEBS Letters **4**: 87-92.
- Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. 2010. Essential cell biology. 3:e uppl. Garland Science, New York.
- Arbelàez, M.P., Nelson, K.E., Muñoz, A. 2000. BCG vaccine effectiveness in preventing tuberculosis and its interaction with human immunodeficiency virus infection. Int. J. Epidemiol. **29**: 1085-1091.
- Azuma I., Thomas D.W., Adam A., Ghuysen J.M., Bonaly R., Petit J.F., Lederer E. 1970. Occurrence of N-glycolylmuramic acid in bacterial cell walls. A preliminary Survey. BBA. **208**: 444-451.
- Barry, C.E., Lee, R.E., Mdluli, K., Sampson, A., Schroeder, B.G., Slayden, R.A., Yuan, Y. 1998. Mycolic acids: structure, biosynthesis and physiological functions. Prog. Lipid Res. **37**: 143-179.
- Bennet, P.N., Brown, M.J. 2008. Clinical pharmacology. 10:e uppl. Churchill Livingstone, Spain.
- Bhamidi S., Scherman M.S., Rithner C.D., Prenni J.E., Chatterjee D., Khoo K.-H., McNeil M.R. 2008. The identification and location of succinyl residues and the characterization of the interior arabinan region allows for a model of the complete primary structure of *Mycobacterium tuberculosis* mycolyl arabinogalactan. J. Biol. Chem. **283**: 12992–13000.
- Björn L.O., Enckell P.H., Meurling P., Pelger S., Ståhl S. 2005. Biologisk ord lista. Studentlitteratur, Lund.
- Brennan P.J. 2003. Structure, function, and biogenesis of the cell wall of *Mycobacterium tuberculosis*. Tuberculosis **83**: 91-97.
- Brennan, P.J., Young, D.B., Robertson, B.D (red). 2008. Handbook of anti-tuberculosis agents. Tuberculosis **88**: 85-170.
- Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A. 2004. Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology. Lange Medical Books/McGraw-Hill, New York.
- Carlson, K., Linder C. 2008. Introduktion till mikrobiologi-med inriktning mot naturvetare och farmaceuter. Studentlitteratur, Pozkal, Polen.
- CDC. 2008. TB and HIV/AIDS. WWW-dokument: <http://cdc.gov/hiv/resources/factsheets/hivtb.htm#3>. Hämtad: 2010-04-06.
- CDC. 2009. Basic TB facts. WWW-dokument: <http://www.cdc.gov/tb/topic/basics/risk.htm>. Hämtad 2010-03-25.
- Chakravarty, S.D., Zhu, G., Tsai, M.C., Mohan, V.P., Mirano, S., Kirschner, D.E., Huang, L., Flynn, J., Chan, J. 2008. Tumor necrosis factor blockade in chronic murine tuberculosis enhances granulomatous inflammation and disorganizes granulomas in the lungs. Infect. Immun. **76**: 916-926.
- Chatterjee D., Hunter S.W., McNeil M., Brennan P.J. 1992a. Lipoarabinomannan. Multiglycosylated form of the mycobacterial mannosylphosphatidylinositols. J. Biol. Chem. **267**, 6228-6233.
- Chatterjee, D., Lowell, K., Rivoire, B., McNeil, M.R., Brennan, P.J. 1992b. Lipoarabinomannan of *Mycobacterium tuberculosis*: capping with mannosyl residues in some strains. J. Biol. Chem. **267**: 6234-6239.

- Colditz, G.A., Brewer, T.F., Berkey, C.S., Wilson, M.E., Burdick, E., Fineberg, H.V., Mosteller, F. 1994. Efficacy of BCG vaccine in the prevention of tuberculosis. Meta-analysis of the published literature. *JAMA*. **271**: 698-702.
- Collins, H.L., Kaufmann, S.H.E. 2001. The many faces of host responses to tuberculosis. *Immunology*. **103**: 1-9.
- Connolly, M.A., Gayer, M., Ottmani, S. 2007. Tuberculosis care and control in refugee and displaced populations: An interagency field manual. 2:a uppl. WHO Press, Genève.
- Crick D.C., Mahapatra S., Brennan P.J. 2001. Biosynthesis of the arabinogalactan-peptidoglycan complex of *Mycobacterium tuberculosis*. *Glycobiology*. **11**: 107-118.
- Crick D.C., Schulbach M.C., Zink E.E., Macchia M., Barontini S., Besra G.S., Brennan J.P. 2000. Polyphosphatidyl phosphate biosynthesis in *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium smegmatis*. *J. Bacteriol.* **182**: 5771-5778.
- Crowle, A.J., Dahl, R., Ross, E., May, M.H. 1991. Evidence that vesicles containing living virulent *Mycobacterium tuberculosis* or *Mycobacterium avium* in cultured human macrophages are not acidic. *Infect. Immun.* **59**: 1823-1831.
- Daffé M., Draper P. 1998. The envelope layers of mycobacteria with reference to their pathogenicity. Volume 39. I: R.K. Poole (red.), *Adv. Microb. Physiol.* 131-203, Academic Press, San Diego.
- Dalton, D.K., Pitts-Meek, S., Keshav, S., Figari, I.S., Bradley, A., Stewart, T.A. 1993. Multiple defects of immune cell function in mice with disrupted interferon- $\gamma$  genes. *Science*. **259**: 1739-1742.
- Davis, J.M., Ramakrishnan, L. 2009. The role of the granuloma in expansion and dissemination of early tuberculosis infection. *Cell*. **136**: 37-49.
- Diacon, A.H., Pym, A., Grobusch, M., Patientia, R., Rustomjee, R., Page-Shipp, L., Pistorius, C., Krause, R., Bogoshi, M., Churchyard, G., Venter, A., Allen, J., Palomino, J.C., De Marez, T., van Heeswijk, R.P.G, Lounis, N., Mayvisch, P., Verbeek, J., Parys, W., de Beule, K., Andries, K., McNeeley, D.F. 2009. The diarylquinoline TMC207 for multidrug-resistant tuberculosis. *New Engl. J. Med.* **360**: 2397-2405.
- Dmitriev, B. A., Ehlers, S., Brennan, P.J. 2000. Molecular mechanics of the mycobacterial cell wall: from horizontal layers to vertical scaffolds. *Int. J. Med. Microbiol.* **290**: 251-258.
- Ernst, J.D. 1998. Macrophage receptors for *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect. Immun.* **66**: 1277-1281.
- Geijtenbeek, T.B.H., van Vliet, S.J., Koppel, E.A., Sanchez-Hernandez, M., Vanderbroucke-Grauls, C.M.J.E., Appelmelk, B., van Kooyk, Y. 2003. Mycobacteria target DC-SIGN to suppress dendritic cell function. *J. Exp. Med.* **197**: 7-17.
- Ghuysen. 1968. Use of bacteriolytic in determination of wall structure and their role in cell metabolism. *Bacteriol. Rev.* **32**: 425-464.
- Gobin, J., Horwitz, M.A. 1996. Exochelins of *Mycobacterium tuberculosis* remove iron from human iron-binding proteins and donate iron to mycobactins in the *M.tuberculosis* cell wall. *J. Exp. Med.* **183**: 1527-1532.
- Gonzalez-Juarrero, M., Turner, O.C., Turner, J., Marietta, P., Brooks, J.V., Orme, IM. 2001. Temporal and spatial arrangement of lymphocytes within lung granulomas induced by aerosol infection. *Infect. Immun.* **69**: 1722-1728.
- Gustafson, P., Gomes, V.F., Vieira, C.S., Rabna, P., Seng, R., Johansson, P., Sandström, A., Norberg, R., Lisse, I., Samb, B., Aaby, P., Naucclér, A. 2004. Tuberculosis in Bissau: incidence and risk factors in an urban community in sub-Saharan Africa. *Int. J. Epidemiol.* **33**:163-172.
- Herzog, H. 1998. History of tuberculosis. *Respiration*. **65**: 5-15.

- Hunter, S., Brennan, P. 1990. Evidence for the presence of a phosphatidylinositol anchor on the lipoarabinomannan and lipomannan of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Biol. Chem.* **265**: 9272-9279.
- Jarlier V., Nikaido H. 1990. Permeability barrier to hydrophilic solutes in *Mycobacterium chelonae*. *J. Bacteriol.* **172**: 1418-1423.
- Kaur, D., Guerin, E., Škovierová, H., Brennan, P.J., Jackson, M. 2009. Biogenesis of the cell wall and other glycoconjugates of *Mycobacterium tuberculosis*. Volume 69. I: Laskin, A.I., Sariaslani, S., Gadd, G.M. (red), *Adv. Appl. Microbiol.* 23-78. Academic Press, San Diego.
- Khoo, K.H., Dell, A. Morris, H.R., Brennan, P.J., Chatterjee, D. 1995. Inositol phosphate capping of the nonreducing termini of lipoarabinomannan from rapidly growing strains of *Mycobacterium*. *J. Biol. Chem.* **270**: 12380-12389.
- Klug W.S., Cummings M.R., Spencer C.A. 2007. *Essentials of genetics*. 6:e uppl. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco.
- Korduláková, J., Gilleron, M., Mikušová, K., Puzo, G., Brennan, P. J., Gicquel, B., Jackson, M. 2002. Definition of the first mannosylation step in phosphatidylinositol synthesis: PimA is essential for growth of mycobacteria. *J. Biol. Chem.* **277**: 31335–31344.
- Laxminarayan, R., Klein, E., Dye, C., Floyd, K., Darley, S., Adeyi, O. 2007. Economic benefit of tuberculosis control.  
<http://www.who.int/management/EconomicBenefitofTuberculosisControl.pdf> Hämtad: 2010-04-10.
- Lee, J., Remold, H.G., Jeong, M.H., Kornfeld, H. 2006. Macrophage apoptosis in response to high intracellular burden of *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by a novel caspase-independent pathway. *J. Immunol.* **176**: 4267-4274.
- Levinson W. 2008. *Review of medical microbiology and immunology*. McGraw-Hill Medical, New York.
- Liu, J., Barry, C.E., Gurdyal, S., Hiroshi, N. 1996. Mycolic acid structure determines the fluidity of the mycobacterial cell wall. *J. Biol. Chem.* **271**: 29545-29551.
- Lydyard, P.M., Whelen, A., Fanger, M.W. 2001. *Instant notes: Immunology*. BIOS Scientific Publishers, Oxford.
- Maher, D., Floyd, K., Raviglione, M (red.). 2002. Strategic framework to decrease the burden of TB/HIV. WWW-dokument:  
[http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO\\_CDS\\_TB\\_2002.296.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_CDS_TB_2002.296.pdf). Hämtad: 2010-06-01.
- McIlleron, H., Meintjes, G., Burman, W.J., Maartens, G. 2007. Complications of antiretroviral therapy in patients with tuberculosis: drug interactions, toxicity and immune reconstitution inflammatory syndrome. *J. Infect. Dis.* **196**: 63-75.
- McNeil M., Daffé M., Brennan P.J. 1990. Evidence for the nature of the link between the arabinogalactan and peptidoglycan of mycobacterial cell wall. *J. Biol. Chem.* **265**: 18200–18206.
- McNeil M. R., Brennan P. J. 1991. Structure, function and biogenesis of the cell envelope of mycobacteria in relation to bacterial physiology, pathogenesis and drug resistance; some thoughts and possibilities arising from recent structural information. *Res. Microbiol.* **142**: 451–463.
- McNeil M.R., Daffé M., Brennan P.J. 1991. Location of the mycolyl ester substituents in the cell walls of mycobacteria. *J. Biol. Chem.* **266**: 13217–13223.
- Meroueh S.O., Bencze K. Z., Heseck D., Lee M., Fisher J. F., Stemmler T. L., Mobashery S. 2006. Three-dimensional structure of the bacterial cell wall peptidoglycan. *P. Natl. Acad. Sci. USA.* **103**: 4404–4409.
- Mikušová K., Mikus M., Besra G.S., Hancock I., Brennan P.J. 1996. Biosynthesis of the linkage region of the mycobacterial cell wall. *J. Biol. Chem.* **271**: 7820-7828.

- Mikušová K., Yagi T., Stern R., McNeil M.R., Besra G.S., Crick D.C., Brennan P.J. 2000. Biosynthesis of the galactan component of the mycobacterial cell wall. *J. Biol. Chem.* **275**: 33890-33897.
- Nair, S., Raraswamy, P.A., Ghosh, S., Joshi, D.C., Pathak, N., Siddiqui, I., Sharma, P., Hasnain, S.E., Mande, S.C., Mukhopadhyay, S. 2009. The PPE18 of *Mycobacterium tuberculosis* interacts with TLR2 and activates IL-10 induction in macrophage. *J. Immunol.* **183**: 6269-6281.
- Nardell E.A. 2009. Infectious diseases: mycobacteria. I: Porter R.S. (red.), Kaplan J.L. (red.). The merck manual for healthcare professionals. WWW-dokument: <http://www.merck.com/mmpe/sec14/ch179/ch179b.html#sec14-ch179-ch179b-1364> Hämtad 2010-05-10.
- Pugin, J., Heumann, D., Tomas, A., Kravchenko, V., Akamatsu, Y., Nishijima, M., Glauser, M.P., Tobias, P.S., Ulevitch, R.J. 1994. CD14 is a pattern recognition receptor. *Immunity.* **1**: 509-516.
- Rabson, A., Roitt, I.M., Delves, P.J. 2005. Really essential medical immunology. 2:a uppl. Blackwell Publishing, Oxford.
- Sacksteder, K.A., Nacy, C.A. 2002. New tuberculosis vaccine development. *Expert Opin. Biol. Ther.* **2**: 741-749.
- Sanchez, A., Larouzé, B., Espinola, A.B., Pires, J., Capone, D., Gerhardt, G., Cesconi, V., Procopia, M.J., Hijjar, M., Massari, V. 2009. Screening for tuberculosis on admission to highly endemic prisons? The case of Rio de Janeiro state prisons. *Int. J. Tuberc. Dis.* **13**: 1247-1252.
- Schlesinger LS, Bellinger-Kawahara CG, Payne NR, Horwitz MA. 1990. Phagocytosis of *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by human monocyte complement receptors and complement component C3. *J. Immunol.* **144**: 2771-2780.
- Schlesinger, L.S., Hull, S.R., Kaufman, T.M. 1994. Binding of the terminal mannosyl units of lipoarabinomannan from a virulent strain of *Mycobacterium tuberculosis* to human macrophages. *J. Immunol.* **157**: 4568-4575.
- Shetty N., Tang J.W., Andrews J. 2009. Infectious disease: pathogenesis, prevention, and case studies. Wiley-Blackwell, London.
- Sköld, O. 2006. Antibiotika och antibiotikaresistens. Studentlitteratur. Danmark.
- Stenger S, Hanson DA, Teitelbaum R, et al. 1998. An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science.* **282**: 121-125.
- Sturgill-Koszycki, S., Schlesinger, P.H., Chakraborty, P., Haddix, P.L., Collins, H.L., Fok, A.K., Alien, R.D., Gluck, S.L., Heuser, J., Russell, D.G. 1994. Lack of acidification in mycobacterium phagosomes produced by exclusion of the vesicular proton-ATPase. *Science.* **263**: 678-681.
- TB Alliance. 2010a. TB Alliance portfolio. WWW-dokument: <http://www.tballiance.org/new/portfolio/html-portfolio.php>. Hämtad: 2010-06-17.
- TB Alliance. 2010b. TB Alliance portfolio: PA-824. WWW-dokument: <http://www.tballiance.org/new/portfolio/html-portfolio-item.php?id=18>. Hämtad: 2010-06-17.
- Torelles, J.B., Azad, A.K., Schlesinger, L.S. 2006. Fine discrimination in the recognition of individual species of phosphatidyl-myo-inositol mannosides from *Mycobacterium tuberculosis* by c-type lectins pattern recognition receptors. *J. Immunol.* **177**: 1805-1816.
- Toubiana, R., Berlan, J., Sata, H., Strain, M. 1979. Three types of mycolic acid from *Mycobacterium tuberculosis Brevanne*: Implications for structure-function relationships in pathogenesis. *J. Bacteriol.* **139**: 205-211.
- Trias, J., Jarlier, V., Benz, R. 1992. Porins of the cell wall of mycobacteria. *Science.* **258**: 1479-1481.

- Tso, H.W., Ip, W.K., Chong, C.M., Chiang, A.K.S., Lau, Y.L. 2005. Association of interferon gamma and interleukin 10 genes with tuberculosis in Hong Kong Chinese. *Genes Immun.* **6**:358-363.
- Tyagi, S., Nuermberger, E., Yoshimatsu, T., Williams, K., Rosenthal, I., Lounis, N., Bishai, W., Grosset, J. 2005. Bactericidal activity of the nitroimidazopyran PA-824 in a murine model of tuberculosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* **49**: 2289-2293.
- Ulrichs, T., Kosmiadi, G.A., Trusov, V., Jörg, S., Pradl, L., Titukhina, M., Mishenko, V., Gushina, N., Kaufmann, S.H. 2004. Human tuberculous granulomas induce peripheral lymphoid follicle-like structures to orchestrate local host defence in the lung. *J. Pathol.* **204**: 217-228.
- Underhill, D.M., Ozinsky, A., Smith, K.D., Aderem, A. 1999. Toll-like receptor-2 mediates mycobacteria-induced proinflammatory signaling in macrophages. *P. Natl. Acad. Sci. USA.* **96**: 14459–14463.
- Via, L.E., Deretic, D., Ulmer, R.J., Hibler, N.S., Huber, L.A., Deretic, V. 1997. Arrest of mycobacterial phagosomese maturation is caused by a block in vesicle fusion between stages controlled by rab5 and rab7. *J. Biol. Chem.* **272**: 13326-13331.
- Walburger, A., Koul, A., Ferrari, G., Nguyen, L., Prescianotto-Baschong, C., Huygen, K., Klebl, B., Thompson, C., Bacher, G., Pieters, J. 2004. Protein kinase G from pathogenic mycobacteria promotes survival within macrophages. *Science.* **304**: 1800-1804.
- White D. 2000. *The physiology and biochemistry of prokaryotes. 2:a uppl.* Oxford University Press, New York.
- WHO. 2005. Addressing poverty in TB control. WWW-dokument: [http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO\\_HTM\\_TB\\_2005.352.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO_HTM_TB_2005.352.pdf). Hämtad: 2010-04-11.
- WHO. 2006. Frequently asked questions-XDR-TB. WWW-dokument: <http://www.who.int/features/factfiles/tuberculosis/en/index.html>. Hämtad: 2010-05-04.
- WHO. 2009a. Estimated epidemiological burden of TB (best estimates, lower and upper bounds), all forms, 1990–2008. WWW-dokument: [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/2009/update/a-1\\_full.pdf](http://www.who.int/tb/publications/global_report/2009/update/a-1_full.pdf). Hämtad: 2010-04-04.
- WHO. 2009b. 2009 update tuberculosis facts. WWW-dokument: [http://www.who.int/tb/publications/2009/factsheet\\_tb\\_2009update\\_dec09.pdf](http://www.who.int/tb/publications/2009/factsheet_tb_2009update_dec09.pdf). Hämtad: 2010-0404.
- WHO. 2010a. Tuberculosis. WWW-dokument: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/index.html> Hämtad: 2010-04-10.
- Wietzerbin-Falszpan J., Das B.C., Azuma I., Adam A., Petit J.F., Lederer E. 1970. Isolation and mass spectrometric identification of the peptide subunits of mycobacterial cell walls. *Biochem. Bioph. Res. Co.* **40**: 57-63.
- Wright, S.D., Ramos, R.A., Tobias, P.S., Ulevitch, R.J., Mathison, J.C. 1990. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science.* **249**: 1431-1433.
- Yagi T., Mahaptra S., Mikušová K., Crick D.C., Brennan P.J. 2003. Polymerization of mycobacterial arabinogalactan and ligation to peptidoglycan. *J. Biol. Chem.* **278**: 26497-26504.
- Zuber B., Chami M., Houssin C., Dubochet J., Griffiths G., Daffé M. 2008. Direct visualization of the outer membrane of mycobacteria and corynebacteria in their native state. *J. Bacteriol.* **190**: 5672-5680.