

Vaksiner mot tuberkulose

Sammendrag

Til tross for omfattende BCG-vaksinerings siden 1970-årene er tuberkulose fortsatt et betydelig problem på verdensbasis. De siste 10–15 årene har det vært utført en stadig mer målrettet forskningsinnsats for å utvikle nye vaksiner, og flere vaksinekandidater er nå i klinisk fase 1/fase 2-utprøving og planlegges å gå til fase 3 i 2010. Etter dette vil det fortsatt ta flere år før man får endelig svar på om en ny vaksine vil gi redusert forekomst av tuberkulose.

Selv om flere av vaksinekandidatene er lovende, er det betydelig usikkerhet knyttet til om de kan løse tuberkuloseproblemet. Grunnen er at man ikke har tilstrekkelig kjennskap til hva som gir beskyttende immunitet. Dagens vaksinekandidater er utviklet for å gi beskyttelse mot noen få laboratoriestammer av tuberkelbasiller og vil ikke nødvendigvis gi beskyttelse mot hele spekteret. Beregninger viser at en effektiv vaksine mot latent tuberkulose vil gi en snarlig og kraftig reduksjon i forekomsten av sykdommen, men dagens vaksinekandidater er utviklet i dyremodeller som måler effekt mot primær tuberkulose, ikke mot reaktivert latent tuberkulose. Det har derfor stor betydning å sikre at det eksperimentelle grunnlaget for en eller flere nye tuberkulosevaksiner er best mulig. Det er også viktig å få informasjon om hvilke av de mange vaksinekandidatene som er best.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter:
Se til slutt i artikkelen

Harald G. Wiker

harald.wiker@gades.uib.no
Seksjon for mikrobiologi og immunologi
Gades Institutt
Universitetet i Bergen

og
Avdeling for mikrobiologi og immunologi
Haukeland Universitetssjukehus
5021 Bergen

Gunnar Bjune

Seksjon for internasjonal helse
Institutt for allmenn- og samfunnsmedisin
Universitetet i Oslo

Mycobacterium tuberculosis er en av de mest utbredte sykdomsfremkallende mikrobenes vi kjenner. Omtrent en tredel av verdens befolkning er smittet. Mellom to og tre millioner mennesker dør av tuberkulose hvert år, mens det er ca. 9–10 millioner nye tilfeller av aktiv sykdom (1). HIV-smittede med latent tuberkulose utvikler aktiv sykdom på et tidlig stadium av immunsvekkelsen, og dette er en viktig årsak til at tuberkuloseproblemet øker. I tillegg er det enorme utfordringer i behandlingen, som involverer bruk av 3–4 legemidler samtidig over lang tid. Dette krever mye av både pasient og helsevesen. Korrekt gjennomført diagnostikk og behandling representerer effektiv bekjempelse av tuberkulose. Dårlig gjennomført kjemoterapi fører til utvikling av resistente basiller.

Vaksinering er den andre grunnpilaren i bekjempelsen av tuberkulose, men dessverre har ikke massevaksinering med BCG hatt den ønskede effekten. Det er derfor et sterkt behov for nye, mer effektive vaksiner mot sykdommen. Vanlige markeds mekanismer har fungert dårlig for utvikling av nye vaksiner. Private produsenter har bare i begrenset omfang funnet det interessant å investere på dette området.

Internasjonalt har det vært en klar økning i interessen for tuberkuloseproblemet de siste årene, og offentlige og filantropiske initiativer spiller en viktig rolle. StopTB-partnerskapet har nedsatt flere arbeidsgrupper, blant annet en vaksinegruppe. Global alliance for vaccines and immunizations (GAVI) arbeider også for å bidra til vaksineutviklingen. Den internasjonale tuberkuloseunionen (IUATLD) og Landsforeningen for hjerte- og lungesyke (LHL) i Norge engasjerer seg nå fordi multiresistent tuberkulose er i ferd med å bli et svært alvorlig problem i mange land. Det norske tuberkulosekontrollarbeidet og tuberkuloseregistre-

ret nyter vid internasjonal anerkjennelse, og her i landet har vi en sterk tradisjon når det gjelder karakterisering av tuberkelbasillens antigener og immunresponser mot disse.

Kort historikk om dagens BCG-vaksine

BCG-vaksinen ble utviklet fra et klinisk isolat (lait Nocard) av *Mycobacterium bovis* fra en tuberkuløs ku (2). Calmette og Guérin startet i 1908 å svekke lait Nocard på et potet-galle-medium. De observerte ganske tidlig morfologiske endringer i koloniene, noe som i dag gjerne settes i forbindelse med at et større genelement (region of difference 1, RD1) ble eliminert. Dette var sannsynligvis også årsak til svekkelsen (3).

I løpet av 1920-årene ble stammen, nå kalt bacille Calmette-Guérin (BCG), tatt i bruk. BCG-vaksinasjon vant raskt innpass i mange land og vant ry for sin beskyttende evne (2). Her i Norge tok dr. Heimbeck vaksinen i bruk ved Ullevål sykehus. Han fant en klar beskyttende effekt av vaksinering av tuberkulinnegative sykepleierstudenter som begynte ved infeksjonsavdelingen, der det var et betydelig smittepress (fig 1) (4). Heimbeck observerte også at vaksinen måtte være viabel for å være effektiv (5).

BCG-vaksinen ble brukt i stort omfang etter den annen verdenskrig. Det ble gjennomført kampanjer over mesteparten av verden i regi av Verdens helseorganisasjon. Dekningen ble imidlertid forbedret da BCG-vaksinering ble en del av i de utvidede vaksinasjonsprogrammene, som økte i omfang fra 1970-årene.

Dagens bruk av BCG-vaksinen

BCG-vaksinen er den eneste levende bakterievaksinen i det norske barnevaksinasjons-

Hovedbudskap

- Utvikling av nye vaksiner mot tuberkulose har høy prioritet
- Det finnes flere konkurrerende vaksinekandidater for utvelgelse til klinisk fase 3-utprøving
- Hvilken vaksine som skal velges diskuteres mye, men prosedyren for utvelgelse er ikke bestemt
- Det hefter usikkerhet ved om vaksinekandidatene er gode nok fordi man ikke har tilstrekkelig kunnskap om beskyttende immunitet

programmet. Den gir sjelden alvorlige bivirkninger. Risikoen for klinisk BCG-infeksjon er til stede hos personer med nedsatt immunitet. De vanligste bivirkningene er lokale reaksjoner (sår på injeksjonsstedet) og lymfeknutesvulst.

I Norge og England vaksineres barn ved 14 års alder. I de fleste land vaksinerer man i tilknytning til fødselen, i samsvar med WHO's anbefaling. I Norge følges denne anbefalingen hos barn fra miljøer der det er høyere forekomst av tuberkulose. Det har aldri vært innført allmenn BCG-vaksinering i USA, og i flere vestlige land har man sluttet med allmenn vaksinering, men vaksine er et tilbud til utsatte grupper. I Norge var det inn til ca. 1996 obligatorisk BCG-vaksinering. Vi har nå så lite tuberkulose at den forebyggende effekten av å fortsette å vaksinere er helt marginal (6). Vaksinering er gjort til en frivillig sak.

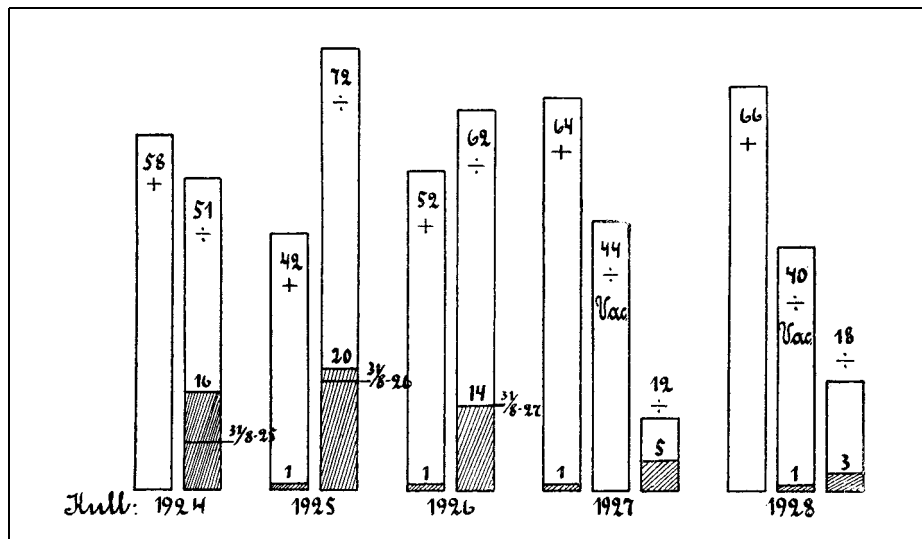
Uklarheter om effekt av BCG-vaksinen

Den mest anerkjente effekten av BCG-vaksine er beskyttelse mot tuberkuløs meningitt og andre disseminerte former for tuberkulose hos barn. Utover dette er det betydelig usikkerhet. Det er en klar nord-sør-gradient av vaksineeffekten. Vaksinasjonsstudier i USA, Storbritannia og Norge har vist opp mot 80 % beskyttelse (5, 7, 8). En nyere studie har oppsiktsvekkende vist effektiv beskyttelse i mer enn 60 år (9), mens studier fra sørligere breddegrader tyder på at vaksineeffekten er helt marginal (8). Dette er blitt forklart med mer atypiske mykobakterier i tropiske land og at tilleggseffekten reduseres ved preeksisterende antimykobakteriell immunitet. Sannsynligvis er det en grense for hvor sterk immunitet en levende mykobakterievaksine kan gi. Det er en vanlig oppfatning at BCG-vaksinen må gi en «mini-infeksjon», der tilstrekkelige mengder av relevante antigener kan sensibilisere immunsystemet.

M tuberculosis har vært regnet for å være enhetlig, med lite stamme-til-stamme-variasjon. Nyere undersøkelser viser at isolater av M tuberculosis er forskjellige. Fremveksten av den såkalte W-Beijing-varianten gir grunn til bekymring. Enkelte stammer av denne progredierer oftere til aktiv sykdom, de er mer assosiert med primær resistens mot kjemoterapi (10) og de er mer virulente. Virulensen knyttes til ekspresjon av et unikt fenolisk glykolipid (11). W-Beijing-varianten sprer seg hurtigere enn andre tuberkelbasiller. Man arbeider med hypoteser om at den har vokst frem under et selektivt press fra BCG-vaksinering og at den representerer en unnsliplapsesvariant (12–14).

Hvorfor er det så vanskelig å lage en god tuberkulosevaksine?

Tuberkelbasillene vokser langsomt, og det er et stort reservoar av personer med latent tuberkulose – en kilde til nysmitte. Det er



Figur 1 Gjengivelse av figur 4 fra dr. J. Heimbecks artikkel i Tidsskriftet fra 1928 om BCG-vaksinering av sykepleierstudenter ved infeksjonsavdelingen ved Ullevål sykehus (4). Søylen merket «+» og «-» viser henholdsvis antall tuberkulinpositive og antall tuberkulinnegative studenter som begynte ved infeksjonsavdelingen. Skravert felt med antall viser hvor mange som fikk tuberkulose i de to gruppene. De tuberkulinpositive hadde svært lav risiko for å få sykdommen. I 1927 og 1928 ble de tuberkulinnegative tilbudt BCG-vaksinering (søyle merket «Vac»). Kun én av de 88 vaksinerte studentene ble syke, mens blant dem som avsto tilbudet, ble åtte av 30 syke

derfor nødvendig med en svært langsiktig strategi for å utrydde sykdommen. BCG-vaksinen har ikke effekt mot reaktivering av tuberkulose. Den viktigste årsaken til at det er så vanskelig å lage en god vaksine er likevel at vi ikke har tilstrekkelig kunnskap om hva beskyttende immunitet ved tuberkulose representerer. Feltet har vært preget av sterke dogmer. Man har derfor ikke hatt en tilstrekkelig bredt anlagt strategi for å klarlegge beskyttende immunitet. Cellulær immunitet er definitivt viktigst. Tuberkulinreaksjonen er et mål på cellulær immunitet, men personer med særlig kraftige tuberkulinreaksjoner har høyere risiko for aktiv sykdom enn dem med moderate tuberkulinreaksjoner. IFN- γ er det cytokinet som korrelerer best med beskyttelse, men også her har man eksempler på at kraftige IFN- γ -responser mot enkelte antigener er assosiert med økt risiko for tuberkuløs sykdom.

Antistoffer er tradisjonelt blitt regnet å være uten betydning. Nyere data og revisjon av litteraturen tyder imidlertid på at antistoffer kan ha en gunstig effekt. Det er håp om at fremskritt hva gjelder karakterisering av tuberkelbasillens antigene komponenter og mer kunnskap om hvordan tuberkelbasillene unnslipper gjenkjennelse av immunsystemet vil gi oss én eller flere nye vaksiner som vil være effektive både hos personer med latent tuberkulose og mot sykdom etter nysmitte.

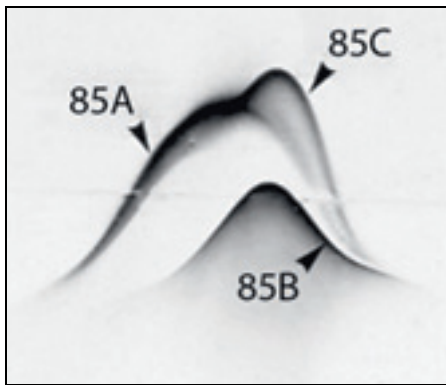
Mange leter etter en kombinasjon av spesifiserte antigener sammen med et adjuvans som kan ha ønsket effekt. Adjuvantia er hjelpestoffer i vaksinen som skal bidra til kraftig og rett immunrespons. Et hovedproblem ligger i regulatoriske forhold. Det er få godkjente adjuvantia. De som er godkjent, gir fortrinnsvis antistoffresponser,

ikke T-celleresponser. Det forventes imidlertid at pågående forskning og utvikling av nye adjuvantia skal føre frem til en ny effektiv subenhetsvaksine. Det er viktig å huske at vevsdestruksjonen ved tuberkulose er immunmediert. Nye tuberkulosevaksiner må derfor ikke stimulere til vevsskade. Dette gjelder særlig for vaksiner mot latent infeksjon.

Dyreforsøk tyder på at forskjellige stammer av tuberkelbasiller har varierende evne til å kolonisere og til å etablere infeksjon, og at det er et inverst forhold mellom disse egenskapene. Slik variasjon er sannsynligvis knyttet til uttrykket av spesifikke virulensfaktorer og koloniseringsfaktorer. Nye vaksiner bør antakelig inneholde disse faktorene for å ha effekt i ulike faser av infeksjonsforløpet og mot hovedvariantene av tuberkelbasiller som sprer seg i verden. Spredning av nye basillvarianter representerer en stor utfordring både for behandling og for utvikling av nye og bedre vaksiner.

Aktuelle vaksine kandidater

Vaksine kandidatene kan deles inn i levende vaksiner og komponentvaksiner. Noen vaksiner tenkes brukt som grunnvaksinering mot primær tuberkulose, andre skal forsterke eksisterende immunitet. Det er ikke vist at revaksinering med BCG gir noen ytterligere effekt (15), og vaksinering av tuberkulinpositive personer er også uten nytte. Dyreeksperimenter tyder imidlertid på at komponentvaksiner vil kunne gi en tilleggseffekt og dermed også beskytte personer med latent infeksjon. Utvikling av slike vaksiner møter spesielle utfordringer fordi arbeid med musemodeller for latent tuberkulose er meget tidkrevende (16).



Figur 2 Analyse av antigener i mykobakterier. Krysset immunoelektroforese av *M bovis*-BCG. Antigener fra bakteriene reagerer med antistoffer og danner buede presipitasjonslinjer i en agarosegel. Antistoffer spesifikt rettet mot antigen 85 presipiterer de tre mest beslektede antigen 85-komponentene 85A, 85B og 85C. Disse proteinene er løselige utskilte proteiner (20), og 85A og 85B er viktige kandidater i nye vaksiner mot tuberkulose

Flere vaksinekandidater er nå kommet til klinisk fase 1- og fase 2-utprøving (tab 1). Hvis denne utprøvingen går etter planen, vil vaksinene komme til fase 3 i 2010. Fase 3-utprøving er meget ressurskrevende og vil ta flere år å gjennomføre. Hensikten er å få solide bevis for at vaksinen virker.

Mye tyder på at immunitet mot aktivt utskilte proteiner er særlig viktig for beskyttelse mot tuberkulose. De fleste subenhetsvaksiner inneholder derfor slike antigener. I den senere tid har vi ved den nasjonale proteomikkplattformen i Bergen (PROBE) arbeidet med karakterisering av utskilte proteiner ved hjelp av moderne proteomikkmetoder, og vi har funnet et stort antall nye proteiner (Wiker HG, Målen H, Berven F

et al. Late breaker: revealing the secreted proteome of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. TB Vaccines for the World, Wien 19.–20. april 2006). Dette gir et helt nytt syn på repertoaret av proteiner som tuberkelbasillene kan spille på i infeksjonsforløpet. Noen av disse proteinene kan ha spesiell betydning i patogenesen ved tuberkulose og vil i prinsippet kunne indusere ulike former for beskyttende immunitet, men det er for tidlig å peke på spesifikke kandidater.

Levende vaksiner

I og med at BCG-vaksinen er effektiv i visse sammenhenger, er utvikling av nye levende vaksiner en viktig strategi som forfølges av flere forskningsgrupper. Slike vaksiner er basert på forbedret BCG eller svekket *M tuberculosis* eller *M bovis*. Disse vaksinene er ment å erstatte dagens BCG-vaksine.

Forbedret BCG

Tuberkelbasillene har strategier for å unnsnippe immunmediert destruksjon i makrofager (17), og bakteriene overlever ved å hemme fagolysosomal fusjon. Dette hindrer også bakteriene i å entre cytosol, og aktiveringen av CD8-positive T-lymfocytter blir redusert. For å motvirke dette er det utviklet en rekombinant BCG med listeriolysin fra *Listeria monocytogenes*. I tillegg er også genet for urease ødelagt for å fremme surgjøring av fagosomet (18). Denne vaksinen gir klart bedre beskyttelse enn BCG i musemodeller.

Det er også laget rekombinante BCG-stammer hvor gener for viktige antigener er duplisert for å gi ekstra stor ekspresjon. Det mest kjente eksemplet er BCG30, som uttrykker store mengder antigen 85B (19). Antigen 85B er en komponent av antigen 85-komplekset (fig 2) og representerer de

kvantitativt viktigste utskilte antigenene (20). Dette antigenet forekommer i alle mykobakterier og er mykolsyretransferaser (21), essensielle enzymer for syntesen av celleveggen. Andre varianter av rekombinante BCG uttrykker humane cytokiner (22) som skal bidra til å stimulere immunsystemet.

Svekket *M tuberculosis*

En strategi tar utgangspunkt i svekkelse av virulente *M tuberculosis*- eller *M bovis*-stammer ved å inaktivere gener som styrer sentrale metabolske reaksjoner.

Transkripsjonsfaktoren *phoP* regulerer ekspresjonen av flere virulensassosierte gener, og det er laget en mutant hvor *phoP*-genet i *M tuberculosis* er ødelagt. Den har svært redusert virulens, men gir bedre beskyttelse enn BCG-vaksine i dyreforsøk (23).

Rekombinante virale vektorer

Antigener kan også settes rekombinant inn i andre vektorer. Vaccinia- og adenovirus brukes til dette formålet.

MVA85A (24) består av vacciniavirus som uttrykker antigen 85A (fig 2), og den gir meget kraftige IFN- γ -responser. Noen mener at denne effekten er mer uttalt hos mennesker enn i musemodeller. Forsterknings-effekten er betydelig, fordi svært mange allerede er sensibilisert for antigen 85.

Komponentvaksiner

Komponentvaksiner, eller subenhetsvaksiner, baseres på utvalgte antigener som formuleres med et adjuvans.

Mtb72f (25) inneholder et fusjonsprotein. Den ene delen er en utskilt protease, den andre delen et PE-protein. Det representerer en ny klasse av overflateproteiner som ble oppdaget ved sekvenseringen av *M tuberculosis*-genomet.

Statens Serum Institut i Danmark utvikler en vaksine med et fusjonsprotein av antigen 85B og en ESAT-6-homolog som kalles TB10,4 (26). Denne vaksinekandidaten var lenge basert på antigen 85B og ESAT-6. ESAT-6 brukes i nye diagnostiske metoder, og det er viktig at man ikke kompromitterer de diagnostiske mulighetene gjennom vaksiner. Dette har alltid vært et viktig ankepunkt mot BCG-vaksineringen. ESAT-6 var lenge en sentral del av vaksineutviklingen, fordi proteinet måtte antas å spille en viktig patogenetisk rolle. Det er imidlertid sannsynlig at andre antigener kan gi tilsvarende immunitet. Hensynet til diagnostikken tilsier derfor at ESAT-6 ikke bør brukes i vaksiner, siden det finnes få diagnostiske antigenkandidater (27).

En ny vaksinekandidat inneholder et metylert overflateprotein, heparinbindende hemagglutinin (HBHA) (28). Cellulær immunitet mot dette proteinet forebygger spredning av tuberkulose fra lungene til andre organer i en tidlig fase etter infeksjon (29).

Tabell 1 Ledende vaksinekandidater

Vaksine	Type	Utviklingsstrinn	Utvikler
MtbPhoP	Levende svekket <i>M tuberculosis</i>	Preklinisk	Universidad de Zaragoza, Spania
rBCG Δ UreC: Hly	Levende forbedret BCG med rekombinant listeriolysin og uten ureasefunksjon	Fase 1, klinisk utprøving	Vakzine Project Management GmbH
rBCG30	Levende forbedret BCG med rekombinant antigen 85B	Fase 1, klinisk utprøving	Aeras
MVA85A	Vacciniavirus med rekombinant antigen 85A	Fase 2, klinisk utprøving	Wellcome Trust
Ag85B-TB10,4 (HyVac4)	Komponentvaksine med rekombinant fusjonsprotein av antigen 85B og TB10,4	Fase 1, klinisk utprøving	Aeras/Crucell
Mtb72f-AS02A	Komponentvaksine med rekombinant fusjonsprotein av en protease og et overflateprotein	Fase 2, klinisk utprøving	GlaxoSmithKline
HBHA	Komponentvaksine med rekombinant uttrykt heparinbindende hemagglutinin	Preklinisk	Institut Pasteur, Lille

Veien videre

Kritikken mot vaksine som er under utvikling, er at de har vært laget med tanke på å inducere så kraftige IFN- γ -responsers som mulig. Man vet at dette ikke er tilstrekkelig. Den ideelle tuberkulosevaksinen bør stimulere ulike former for immunitet. Sannsynligvis bør en vaksine ikke stimulere for kraftige IL-4-responsers, og det bør være en balanse mellom IFN- γ - og TNF- α -responsers. Stimulering av regulatoriske T-celler har også betydning.

Det er viktig å arbeide med et bredere og mer representativt repertoar av ferske kliniske isolater i dyremodellene for å sikre at nye vaksiner får den ønskede effekten. Fase 3-utprøving er meget ressurskrevende, og det vil være lite hensiktsmessig å starte med en slik utprøving før man har et tilfredsstillende eksperimentelt grunnlag. På samme måte som man er avhengig av en allsidig tilnærming når det gjelder kjemoterapi ved behandling av tuberkulose, er det nødvendig å ha en bred tilnærming i vaksinefeltet. Når man bestemmer seg for å gå videre, vil det være klokt å fortsette det prekliniske arbeidet med andre vaksine kandidater.

Oppgitte interessekonflikter: Harald Wiker har fått honorar for to foredrag på et infeksjonsmedisinsk møte som var støttet av GlaxoSmith-Kline. Gunnar Bjune har ingen oppgitte interessekonflikter.

Litteratur

- Dye C, Scheele S, Dolin P et al. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. *JAMA* 1999; 282: 677–86.
- Osborn TW. Changes in BCG strains. *Tubercle* 1983; 64: 1–13.
- Behr MA, Wilson MA, Gill WP et al. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. *Science* 1999; 284: 1520–3.
- Heimbeck J. Tuberkuloseinfektion og tuberkulosevaksination. *Tidsskr Nor Lægeforen* 1928; 48: 945–61.
- Heimbeck J. BCG vaccination of nurses. *Tubercle* 1948; 29: 84–8.
- Eskild A. Massevaksinasjon mot tuberkulose – trenger vi det i Norge? *Tidsskr Nor Lægeforen* 1994; 114: 1840–4.
- Bjartveit K, Waaler H. Some evidence of the efficacy of mass BCG vaccination. *Bull World Health Organ* 1965; 33: 289–319.
- Fine PE. Variation in protection by BCG: implications of and for heterologous immunity. *Lancet* 1995; 346: 1339–45.
- Aronson NE, Santosham M, Comstock GW, et al. Long-term efficacy of BCG vaccine in American Indians and Alaska natives: a 60-year follow-up study. *JAMA* 2004; 291: 2086–91.
- Toungoussova OS, Mariandyshv AO, Bjune G et al. Resistance of multidrug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* from the Archangel oblast, Russia, to second-line anti-tuberculosis drugs. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 202–6.
- Reed MB, Domenech P, Manca C et al. A glycolipid of hypervirulent tuberculosis strains that inhibits the innate immune response. *Nature* 2004; 431: 84–7.
- Bjune G. Tuberculosis in the 21st century: an emerging pandemic? *Norsk Epidemiologi* 2006; 15: 133–9.
- Abebe F, Bjune G. The emergence of Beijing family genotypes of *Mycobacterium tuberculosis* and low-level protection by bacille Calmette-Guerin (BCG) vaccines: is there a link? *Clin Exp Immunol* 2006; 145: 389–97.
- Surikova OV, Voitech DS, Kuzmicheva G et al. Efficient differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* strains of the W-Beijing family from Russia using highly polymorphic VNTR loci. *Eur J Epidemiol* 2005; 20: 963–74.
- Rodrigues LC, Pereira SM, Cunha SS et al. Effect of BCG revaccination on incidence of tuberculosis in school-aged children in Brazil: the BCG-REVAC cluster-randomised trial. *Lancet* 2005; 366: 1290–5.
- Phyu S, Mustafa T, Hofstad T et al. A mouse model for latent tuberculosis. *Scand J Infect Dis* 1998; 30: 59–68.
- Hernandez-Pando R, Jeyanathan M, Mengistu G et al. Persistence of DNA from *Mycobacterium tuberculosis* in superficially normal lung tissue during latent infection. *Lancet* 2000; 356: 2133–8.
- Eddine AN, Kaufmann SE. Improved protection by recombinant BCG. *Microbes Infect* 2005; 7: 939–46.
- Horwitz MA, Harth G, Dillon BJ et al. Recombinant bacillus Calmette-Guerin (BCG) vaccines expressing the *Mycobacterium tuberculosis* 30-kDa major secretory protein induce greater protective immunity against tuberculosis than conventional BCG vaccines in a highly susceptible animal model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 13853–8.
- Wiker HG, Harboe M. The antigen 85 complex: a major secretion product of *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbiol Rev* 1992; 56: 648–61.
- Belisle JT, Vissa VD, Sievert T et al. Role of the major antigen of *Mycobacterium tuberculosis* in cell wall biogenesis. *Science* 1997; 276: 1420–2.
- Murray PJ, Aldovini A, Young RA. Manipulation and potentiation of antimycobacterial immunity using recombinant bacille Calmette-Guerin strains that secrete cytokines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 934–9.
- Martin C, Williams A, Hernandez-Pando R et al. The live *Mycobacterium tuberculosis* phoP mutant strain is more attenuated than BCG and confers protective immunity against tuberculosis in mice and guinea pigs. *Vaccine* 2006; 24: 3408–19.
- McShane H, Hill A. Prime-boost immunisation strategies for tuberculosis. *Microbes Infect* 2005; 7: 962–7.
- Skeiky YA, Alderson MR, Ovendale PJ et al. Differential immune responses and protective efficacy induced by components of a tuberculosis polyprotein vaccine, Mtb72F, delivered as naked DNA or recombinant protein. *J Immunol* 2004; 172: 7618–28.
- Dietrich J, Aagaard C, Leah R et al. Exchanging ESAT6 with TB10.4 in an Ag85B fusion molecule-based tuberculosis subunit vaccine: efficient protection and ESAT6-based sensitive monitoring of vaccine efficacy. *J Immunol* 2005; 174: 6332–9.
- Wiker HG. Nytt spesifikt tuberkulin forventes å bedre diagnostikken av tuberkulose. *Tidsskr Nor Lægeforen* 2001; 121: 1834–6.
- Pethe K, Alonso S, Biet F et al. The heparin-binding haemagglutinin of *M. tuberculosis* is required for extrapulmonary dissemination. *Nature* 2001; 412: 190–4.
- Temmerman S, Pethe K, Parra M et al. Methylation-dependent T cell immunity to *Mycobacterium tuberculosis* heparin-binding hemagglutinin. *Nat Med* 2004; 10: 935–41.

Manuskriptet ble mottatt 8.5. 2006 og godkjent 5.9. 2006. Medisinsk redaktør Petter Gjersvik.