

## Provtagningsanvisningar för Tuberkulos, screening med PCR

### Avgränsning/Bakgrund

Tuberkulos (TB) orsakas av *Mycobacterium tuberculosis* och är en högaktuell sjukdom i och med en betydande global mortalitet och ökande multiresistens. I Sverige orsakar TB omkring 600-800 fall årligen och har varit i fokus på grund av utbrott i skolor och på daghem ([www.folkhalsomyndigheten.se](http://www.folkhalsomyndigheten.se)).

GeneXpert-analysen MTBRIF Ultra kan användas som screeningstest för att bekräfta misstanke om aktiv tuberkulos och för att utesluta högsmittsam TB. Analysen används i 130 länder, är rekommenderad av WHO och bör användas framför allt när patienten kan producera sputum då andra provmaterial har lägre känslighet. Analysen påvisar DNA från *Mycobacterium tuberculosis* genom att med en nestad PCR-metod baserad på molecular beacons detektera rpoB-genen vilket samtidigt medför att resistens mot det centrala TB-läkemedlet rifampicin kan bedömas.

Den nya versionen (Ultra) som införs fr. o. m april 2018 i Kalmar är ca en tiopotens känsligare än tidigare analysversion i och med att man kompletterat metoden med två multikopiars amplifieringstargets (IS 6110 och IS1081) samt att dubbelt så stor volym prov används i analysen. Detektion av rifampicinresistens har förbättrats med kompletterande smältkurvsanalys.

Sensitivitet och specificitet jämförs i studier mot mykobakterieodling vilket är den känsligaste metoden och anses detektera 1-100 CFU/ml medan PCR-baserade metoder detekterar 15-1000 CFU/ml och direktnmikroskopi omkring 10 000 CFU/ml. Känsligheten anses alltså vara 10-100x högre med PCR jämfört med direktnmikroskopi.

Specificiteten för GeneXpert MTB/RIF är överlag mycket god och i de flesta studier över 98 %. I en systematisk översikt (Steingart KR et al, Cochrane, 2014: CD009593) där 27 studier med 9557 individer sammanställts är sensitiviteten för luftvägsprover 98 % för odlings- och direktnmikroskopi positiva prover (n=1936) och 67 % för odlingspositiva men direktnmikroskopinegativa prover (n=6950).

Den nya analysversionen av Xpert MTB/RIF (Xpert MTB/RIF Ultra) är inte ännu lika väl studerat (särskilt inte för andra provmaterial än sputum) men i de studier som publicerats anges en ökad känslighet till ca 80% för odlingspositiva men direktnmikroskopinegativa sputumprover (Chakravorty S et al, mBIO, 2017) vid analys av ett patientprov. Den nedre detektionsgränsen anges till 16 CFU/ml till skillnad från 114 CFU/ml i den tidigare Xpert-versionen vilket bekräftas av vår interna verifiering. I en multicenterstudie (Dorman E et al, Lancet 2018) av sammanlagt 1753 patienter var känslighetsökningen av Ultra jämfört med tidigare version 17% (95% CI:10-24%) hos patienter med mikroskopinegativ men odlingspositiv TB. En WHO-rapport (Technical Expert Consultation on Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF, WHO 2017) konstaterar att Xpert Ultra ger en ökad känslighet

med minst 5% överlag (med största ökning om 17% hos mikroskopinegativa men odlingspositiva patienter) men att specificiteten minskar något (3.2%) vilket beror på de lägsta nivåerna (trace calls) i Ultra-versionen. WHO rekommenderar globalt att Xpert MTB/RIF Ultra kan användas på samma sätt som den tidigare versionen och även för likvor, lymfkörtelaspirat och vävnadsprov) men att man hos HIV-negativa patienter skall bekräfta svagt positiva prov (trace call) med nytt prov.

För detektion av rifampicinresistens är känsligheten 95 % och specificiteten 98% och studier i Ultra-versionen har visat mycket snarlik prestanda (Dorman E et al, Lancet 2018). I områden med lägre andel rifampicinresistent TB än 5 % som i Sverige kan andelen falskt positiva vara högt men detta har sannolikt förbättrats i den nya analysversionen (Ultra). Alla resultat som visar på rifampicinresistens i en miljö med låg rifampicinresistens (<5 % som i Sverige) måste bekräftas med annan metod (fenotypisk resistensbestämning vid tuberkuloslaboratorium).

Vad gäller andra provmaterial är känsligheten för den tidigare analysversionen överlag 69 % för extrapulmonell TB och är låg för pleuravätska (34 % (19-44 %)) men högre för VSK (78 % (48.6-87.5 %)), likvor (80.5 %) och andra sterila punktat (85 %) (Maynard-Smith L et al. BMC inf dis 2014;14:709; Cepheid: alternative specimen guideline Xpert MTB/RIF). Möjligen kan Ultra-metoden också användas vid misstanke om TB-meningit (Bahr et al, Lancet infectious diseases 2017) men detta behöver bekräftas och odling skall alltid utföras parallellt.

Xpert MTB/RIF Ultra kan inte skilja på olika arter inom *M. tuberculosis*-komplexet (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canetti*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. mungi* och *M. orygis*).

Luetkemeyer AF et al (Clin Inf Dis 2016;62:1081-1088) visade i en multicenterstudie i USA, Sydafrika och Brasilien (n=992) ett NPV på 99.7% (59/61) för en och 100% (62/62) för två Xpert MTB/RIF-analyser jämfört med direktmikroskopi av sputum. Jämfört med odling detekterade en Xpert MTB/RIF-test 54.8% (46/84) av direktmikroskopinegativa men odlingspositiva patienter och 69.4 (59/85) om två test användes.

Enligt WHO:s guidelines (WHO. Treatment of tuberculosis, 4th edition) rekommenderas att alla patienter med misstänkt lungtuberkulos skall undersökas med minst två sputumprover varav ett skall vara morgonsputum då det är mest bakterierikt.

## Provtagning

Vid misstanke om aktiv lungtuberkulos hos inlagd patient skall alltid följande prover skickas om Tuberkulos (TB), screening med PCR beställs:

- 2 separata prover (sputum eller VSK) varav ett morgonprov till tuberkuloslaboratoriet i Linköping (beställs i Cosmic, undersökning Mykobakterier tuberkulosis/atypiska TB (ext.ut)).
- 2 separata prover (sputum eller VSK) varav ett morgonprov för snabb-PCR i Kalmar (beställs i Cosmic, undersökning Tuberkulos (TB), screening med PCR).

Provtagningsmateriel för screening med PCR är i första hand sputum vilket skall tas med provtagningsset för sputum. Varje prov skall åtföljas av en separat remiss och både transporthylsa och provtagningsrör skall märkas med etikett. Provtagning av patienter med misstänkt smittsam lungtuberkulos skall i första hand utföras vid infektionskliniken.



- ➔ **Prov kommer inte analyseras om det inte transporteras med en ytterburk som även den märks med patient id!**
- ➔ **Parallellt prov skall skickas på separat remiss med separat prov till tuberkuloslaboratoriet i Linköping enligt ovan!**

Provet skall helst tas på morgonen före frukost då morgonsputum är mest bakterierikt och har högst känslighet.

Patienten skall instrueras att hosta från djupet av nedre luftvägarna och efter detta spottas sputum direkt ner i sputumburken. Sputumburken förs sedan utanför patientrummet ned i transporthylsa/ytterburk som skall vara ren. Både transporthylsan och provet skall märkas.

Om patienten har svårt att producera sputum bör man i första hand försöka med inducerat sputum via sjukgymnast och i andra hand med ventrikelsköljvätska (VSK).

Andra provtagningsmateriel som bronkialsköljvätska (BAL), VSK, lymfkörtelaspirat, pleuravätska eller andra sterila punktat skickas i sterilt rör. Minsta mängd för analys är 1ml.

### I avvaktan på transport

Provet skall transporteras snarast till laboratoriet då tid till analys påverkar prestandan. Provet kan dock i nödfall förvaras upp till 3 dygn i rumstemperatur eller 5 dagar i kyl.

### Svar och bedömning

Analysen utförs vardagar och svaras ut inom 4h samma dag om provet anländer till laboratoriet före kl. **13:30**.

Positiva svar telefonbesvaras av ansvarig laboratorieläkare. För själva detektionen av *Mycobacterium tuberculosis*-komplexet besvaras det lägsta Ct-värdet av de ingående proverna samt en semikvantitativ bedömning som följer med resultatet. Vid den lägsta nivån (trace call) kan inte rifampicinresistens bedömas. Dessa prov skall alltid konfirmeras med ytterligare prov till PCR i Kalmar OCH TB-odling i Linköping.

Om rifampicinresistens detekteras skall information om förekomst av falskt positiva svar muntligen upplysas ansvarig läkare inklusive vikten av att alltid bekräfta fyndet med fenotypisk resistensbestämning (på prov som alltid skall skickas parallellt till Linköping). En skriftlig kommentar finns också på svaren.

Vid ej bedömbart resultat eller mycket små nivåer rekommenderas nytt prov (gäller både för detektion av *M. tuberculosis* och ev. rifampicinresistens).

Två negativa sputumprov varav ett morgonsputum kan användas för att utesluta högsmittsam tuberkulos (definierat som positiv direktmikroskopi i sputum). För andra provmaterial inklusive VSK och BAL är metoden mindre känslig och inte utvärderad för att utesluta hög smittsamhet.

### Faktorer som påverkar svarets kvalitet

- Andra provtagningsmaterial än sputum
- Mindre mängd provmaterial än 2ml
- Lagringstid utanför den rekommenderade (4 dagar i kylskåp eller 3 dygn i rumstemperatur)
- Större partiklar i provet
- Icke optimalt taget sputumprov