



# Vad är det för hosta?

Värdet av molekylär luftvägsdiagnostik

Linusdagarna 2019  
Karolina Gullsby, Mikrobiolog PhD

# Många orsaker till hosta!

Hosta ett symptom på retning av slemhinnan

- Astma, allergi
- KOL
- Hjärtsvikt
- Sarkoidos
- Blodpropp
- Lungcancer
  
- Infektion av bakterier eller virus!



# Luftvägsinfektioner

Vanligt!

Milda självutläkande → livshotande

Vanlig orsak till sjukdom och dödlighet – ca. 4 miljoner dör varje år

Pneumoni – vanligaste orsaken till dödlighet hos barn under 5 år

Orsakar epidemier/endemier



# Många olika virus och bakterier orsakar luftvägsinfektion

- RSV
- Influenza virus
- Humant metapneumovirus
- Rhinovirus
- Parainfluenza virus
- Adenovirus
- Streptococcus pneumoniae
- Haemophilus influenzae
- Mycoplasma pneumoniae
- Chlamydia pneumoniae
- Bordetella pertussis
- Bordetella parapertussis

Co-infektioner är vanligt!



# Liknande och atypiska symptom

”Långvarig hosta”

Ex. kikhosta hos spädbarn eller vuxen





# Diagnostik är viktigt!

Rätt behandling – olika antibiotika för olika bakterier

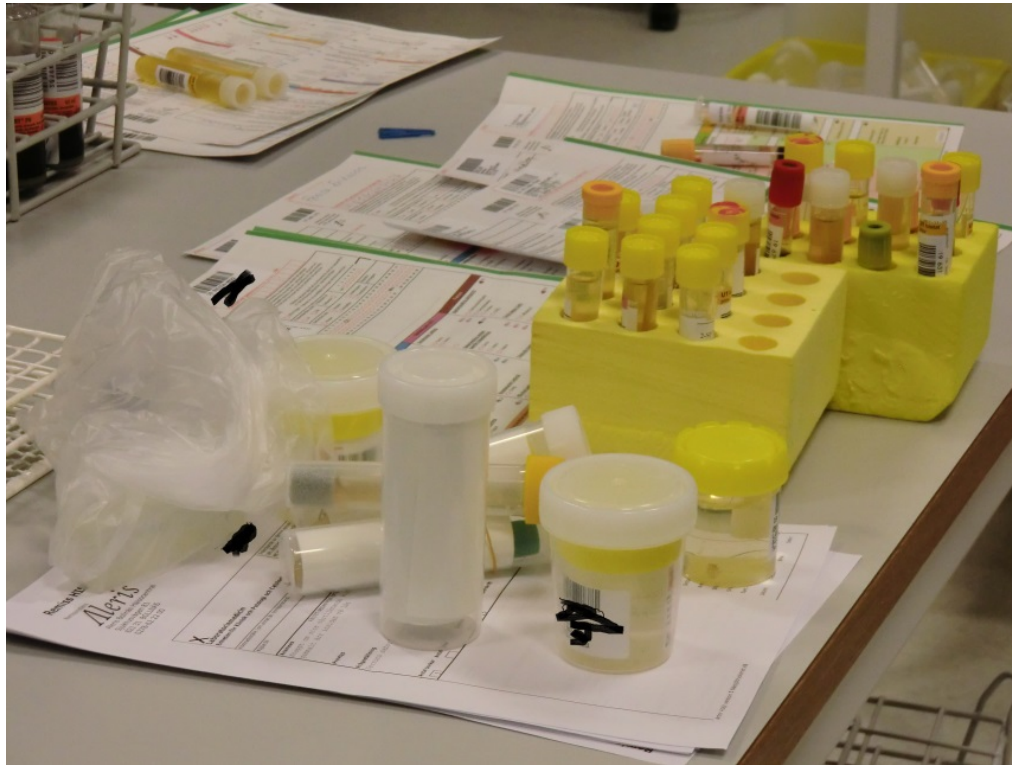
Minska smittspridning – tex. kikhosta till spädbarn

Epidemiologisk övervakning – monitorera spridning, vaccin-effektivitet

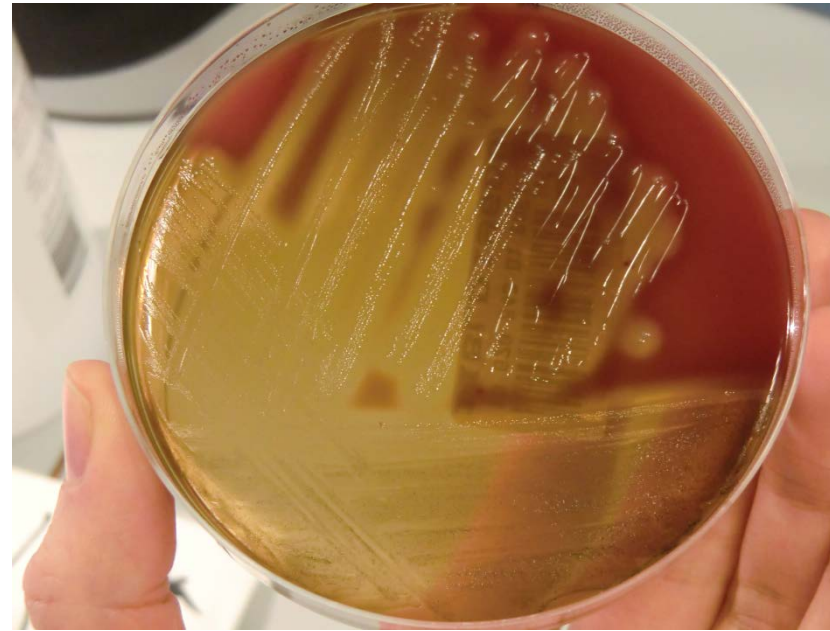
Undvika onödig antibiotika-användning

## Minska lidande för patienten!

# Vad händer på det mikrobiologiska laboratoriet?

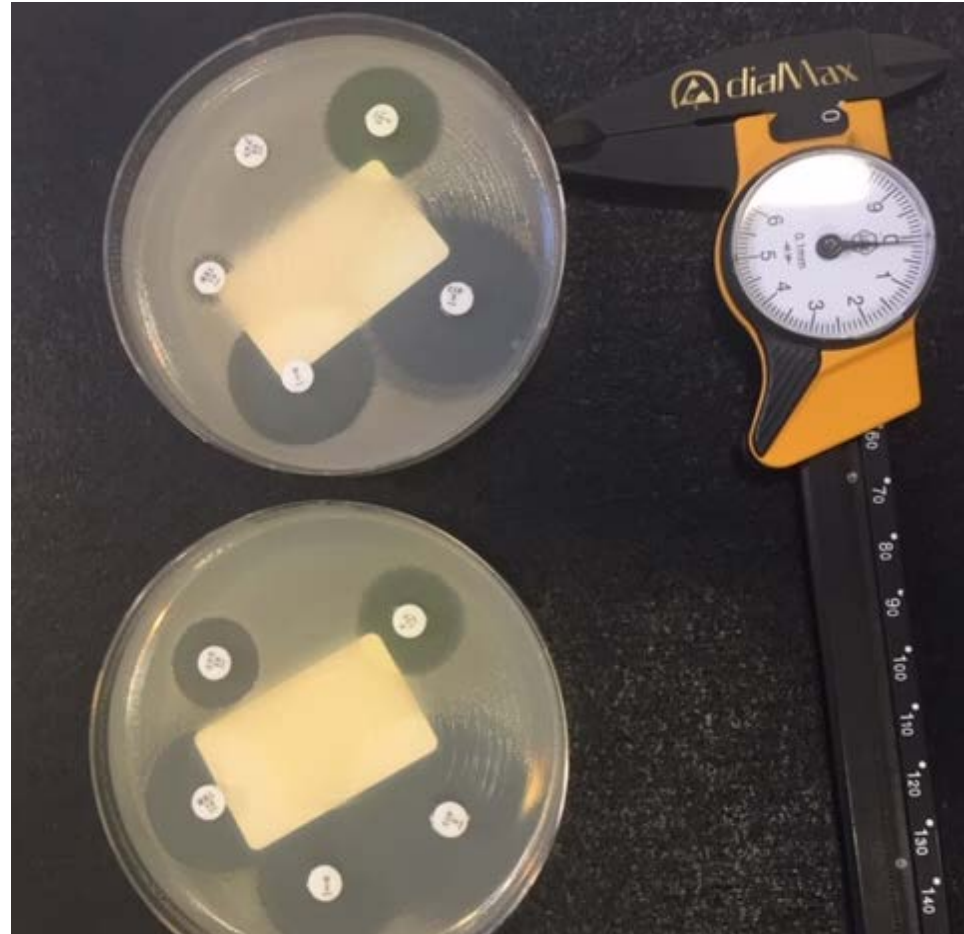


# Traditionella odlingsmetoder

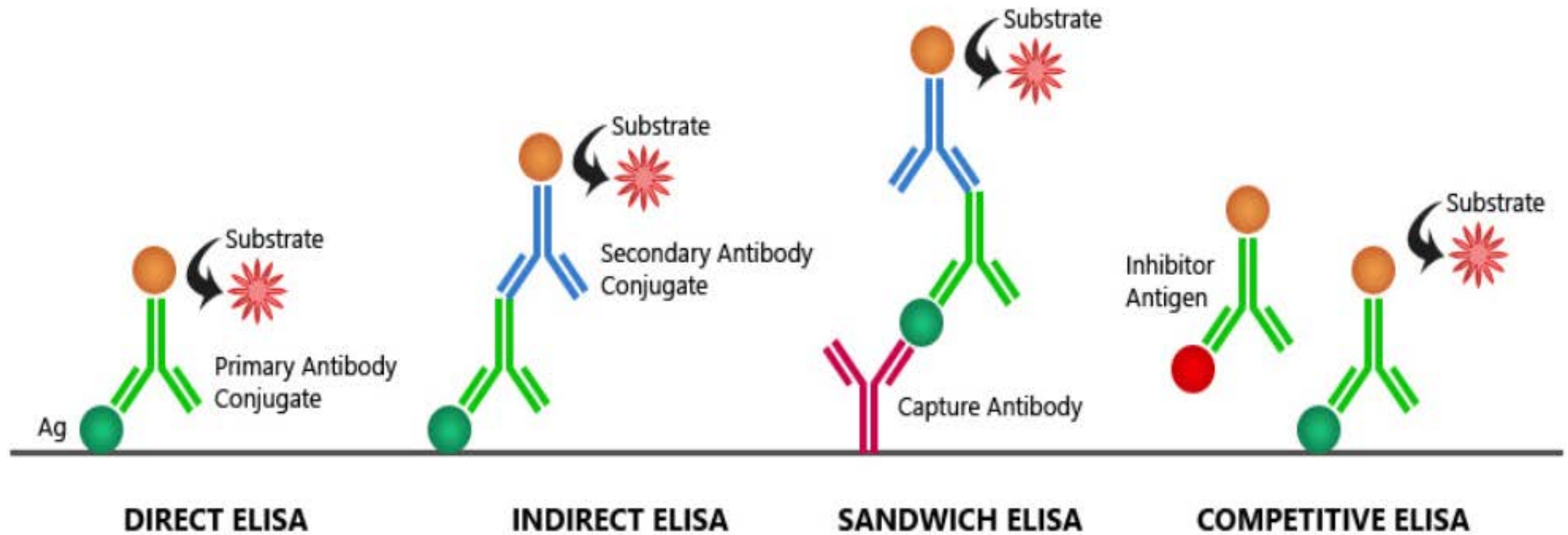




# Fördel – resistensbestämning!

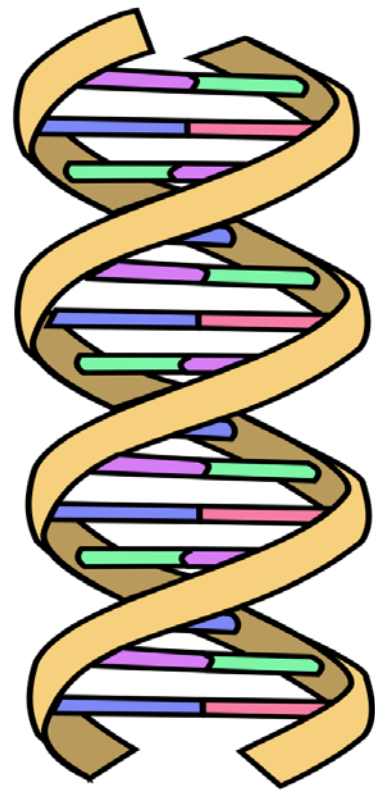


# Serologiska metoder








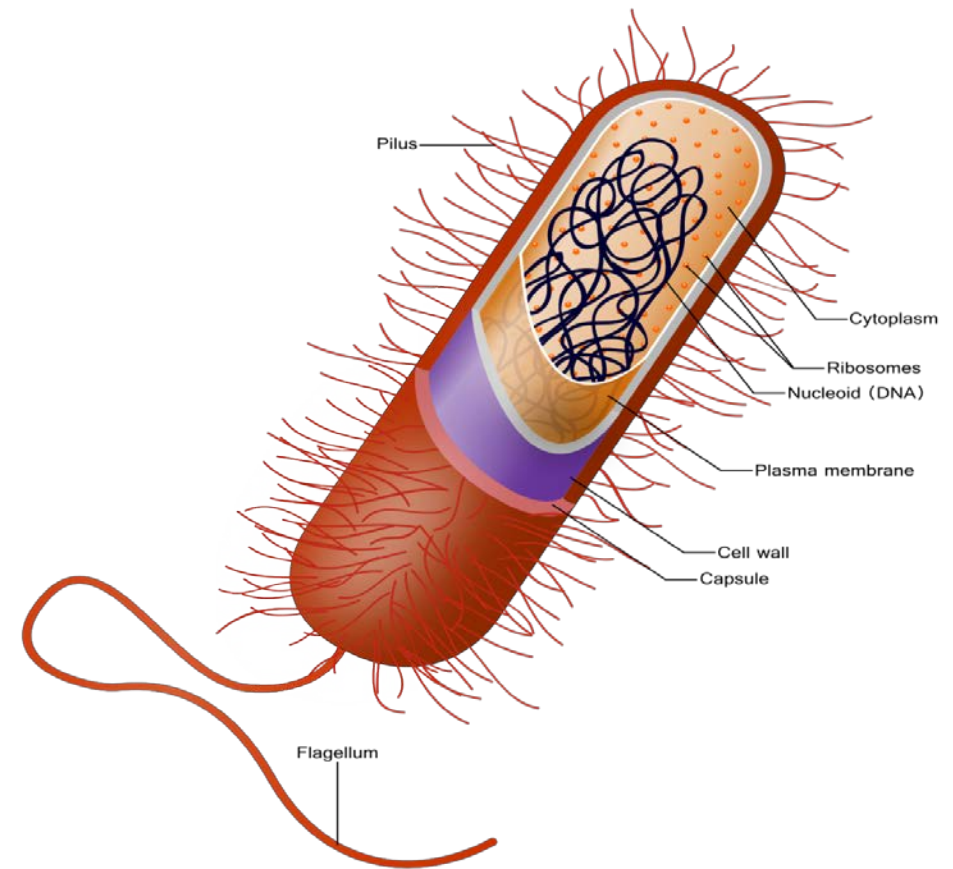


# Molekylärbiologiska metoder - PCR

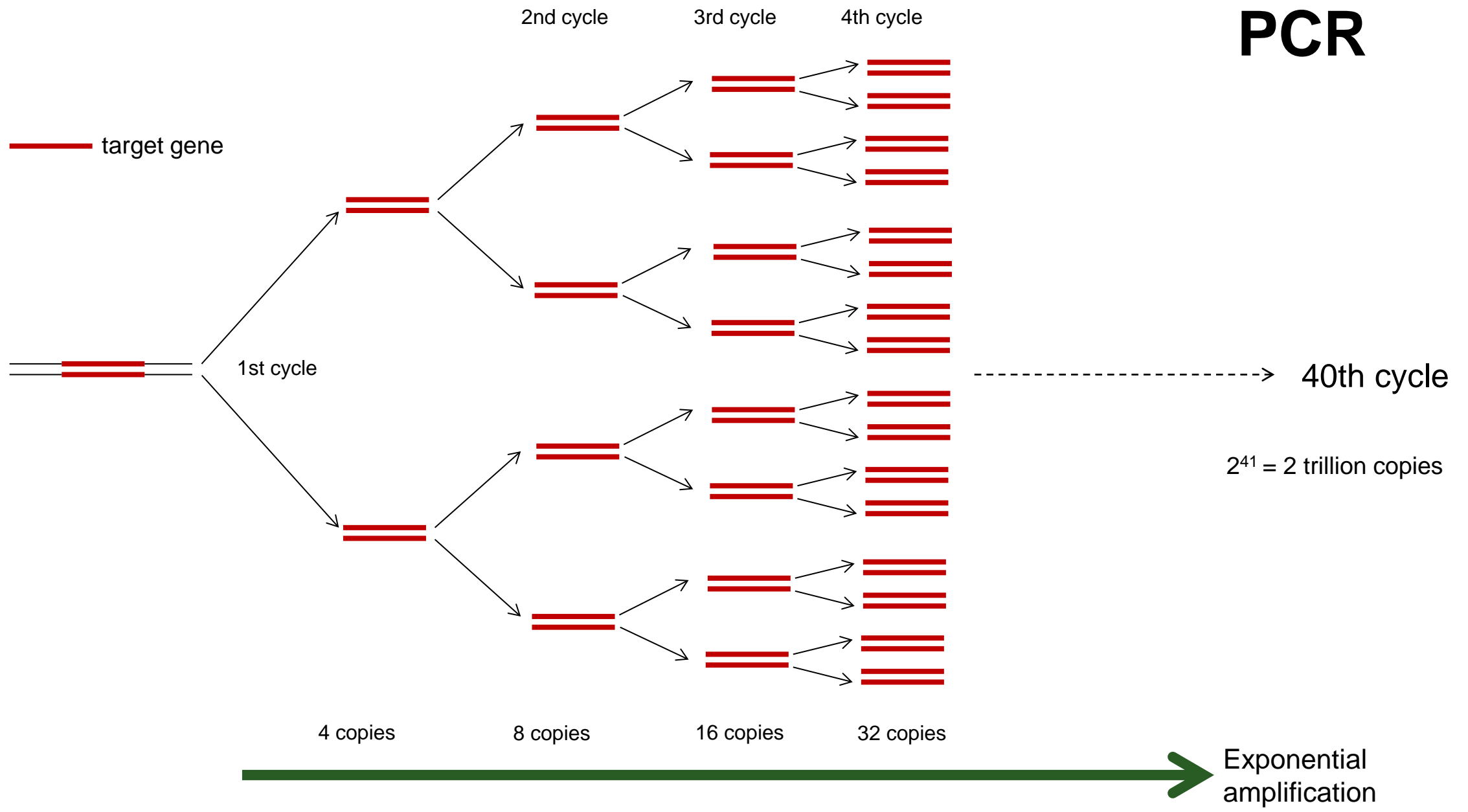


DNA

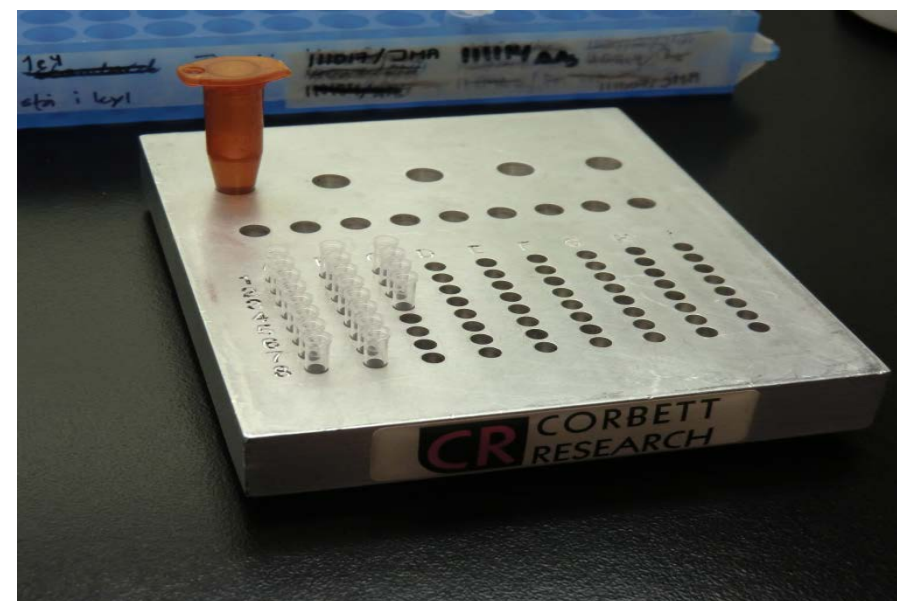
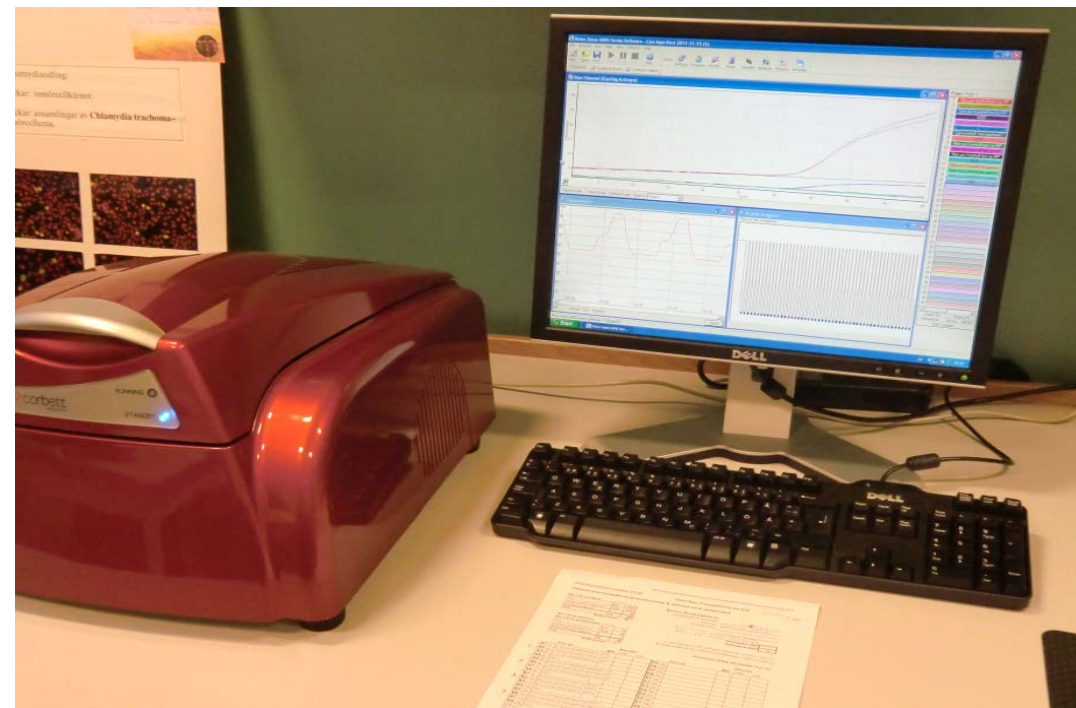
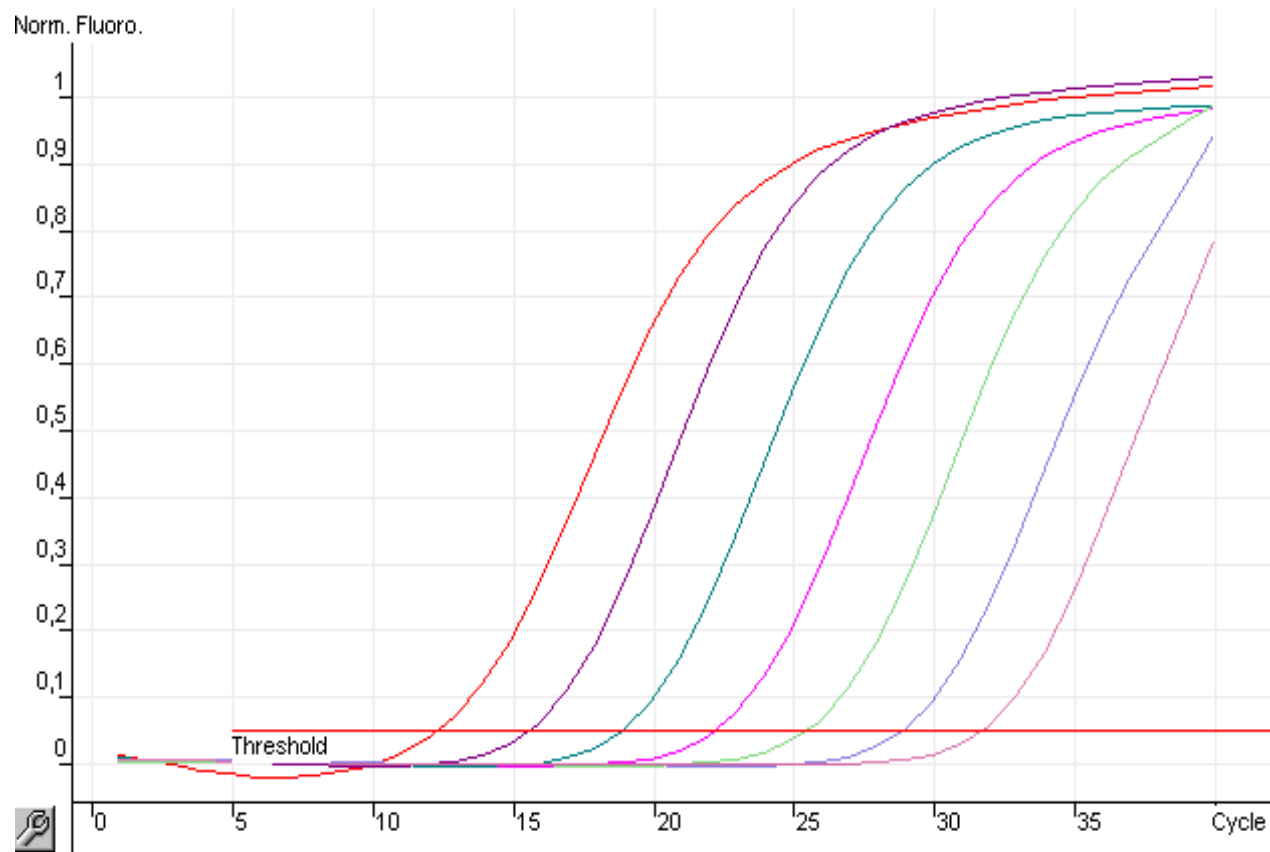
-  = Adenine
-  = Thymine
-  = Cytosine
-  = Guanine
  
-  = Phosphate backbone



# PCR



# Realtids PCR (inhouse)



# Fördelar/nackdelar PCR

Kan hitta döda

Virus och bakterier (svårödlade)

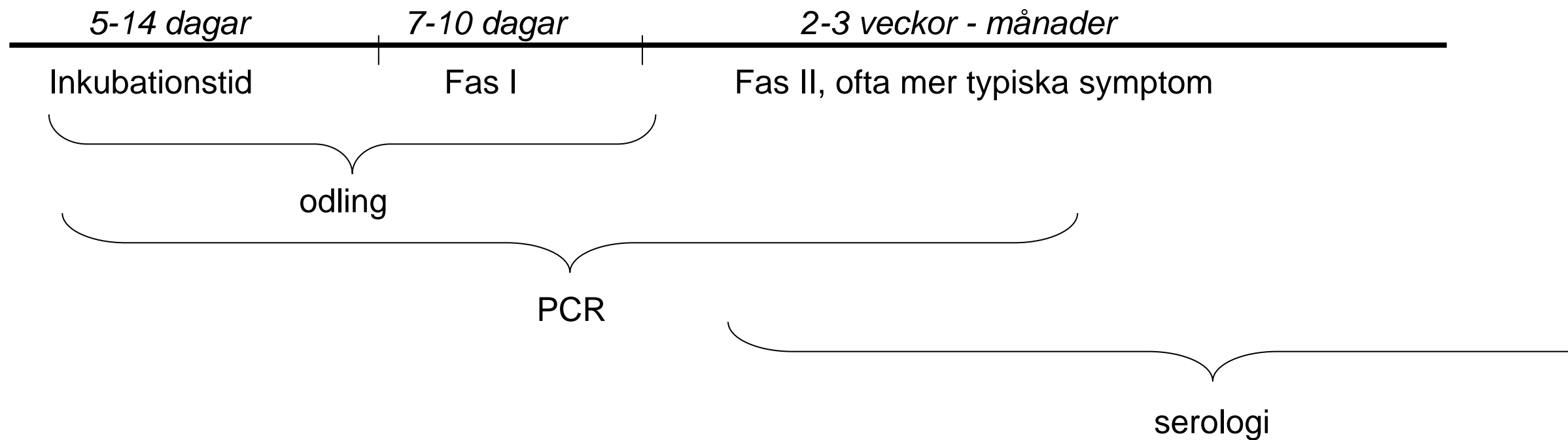
Flera på samma gång – multiplex

Ej resistensbestämning – ev. detektion resistensgener

Snabb

Känsligare – för känslig? (tex. pneumokocker i nph)

# Olika metoder kompletterar varandra (ex. *B. pertussis*)



# Metoder med hög sensitivitet och specificitet!

## Vad påverkar??

- Provtagningsstillfälle – när i förloppet som provet tas
- Hur provet tas
- Hela kedjan bör ses över
- Validera/verifiera och övervaka metoden

Bakterier och virus kan förändras





# Exempel: Ny variant av luftvägsvirus påverkar metodens känslighet

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Dec. 2009, p. 3805–3813

0095-1137/09/\$12.00 doi:10.1128/JCM.01344-09

Copyright © 2009, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 47, No. 12

## Switching Gears for an Influenza Pandemic: Validation of a Duplex Reverse Transcriptase PCR Assay for Simultaneous Detection and Confirmatory Identification of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza Virus<sup>∇</sup>

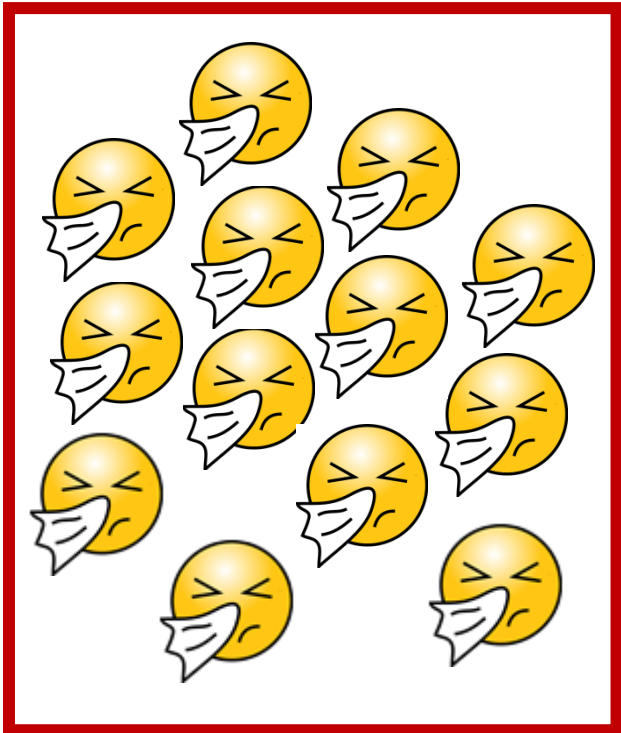
Jason J. LeBlanc,<sup>1\*</sup> Yan Li,<sup>3</sup> Nathalie Bastien,<sup>3</sup> Kevin R. Forward,<sup>1,2</sup>  
Ross J. Davidson,<sup>1,2</sup> and Todd F. Hatchette<sup>1,2</sup>

Test av fem olika metoder för detektion av Influenza virus:  
4 realtids-PCR och ett snabbtest (ag-test)

### Resultat

Sensitiviteten med respektive metod:

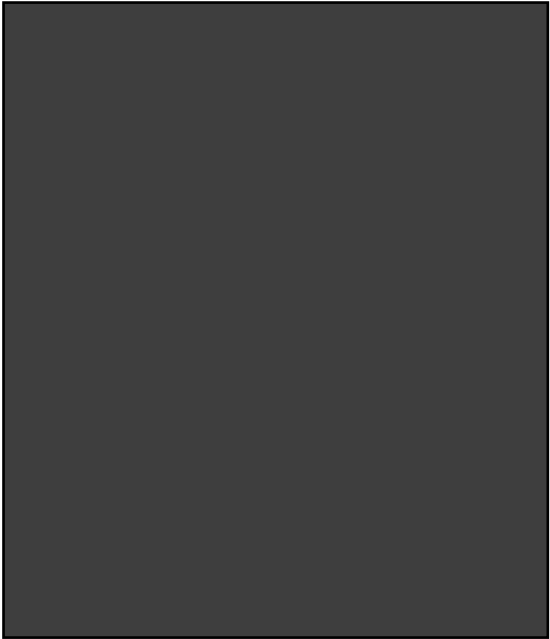
97%, 75%, 72%, 48%, 13%



13 %  
sensitivitet!



# Multiplexa kommersiella luftvägskit



# Multiplexa luftvägskit

## Fördelar

- Bredare paneler – många agens
- Både virus och bakterier
- Fler fynd
- Kan hitta sånt man inte letat efter
- Enklare hantering
- Mindre hands-on

## Nackdelar

- Ev. lägre känslighet
- Kan hitta sånt man inte letat efter
- Tolkning
- Svårt att kvalitetssäkra sällsynta agens

## Exempel: Multiplexa metoder – flera fynd

# Införande av snabbdiagnostik INF/RSV

**Tabell 1. Antal och andel av laborieverifierad RSV per ålder och kön kumulativt säsongen 2018–2019.**

Ålder (år)	Flickor/kvinnor			Pojkar/män			Totalt		
	Antal fall	Andel av alla fall	Antal fall per 100 000	Antal	Andel av alla fall	Antal fall per 100 000	Antal fall	Andel av alla fall	Antal fall per 100 000
<1	967	14%	1611	1202	17%	2116	2169	31%	1856
1	340	5%	558	407	6%	704	747	11%	629
2	181	3%	286	193	3%	321	374	5%	303
3	84	1%	133	100	1%	170	184	3%	151
4	54	1%	85	46	1%	77	100	1%	81
5-14	99	1%	16	95	1%	16	194	3%	16
15-39	172	2%	10	115	2%	7	287	4%	9
40-64	373	5%	23	298	4%	19	671	10%	21
65+	1305	19%	138	927	13%	85	2232	32%	110
<b>Totalt:</b>	<b>3575</b>	<b>51%</b>	<b>70</b>	<b>3383</b>	<b>49%</b>	<b>66</b>	<b>6958</b>	<b>100%</b>	<b>68</b>

\* Baseras på fall med information om ålder och kön.

# Exempel: Snabba multiplexa metoder – bättre handläggning

J Clin Virol. 2018 Nov;108:90-95. doi: 10.1016/j.jcv.2018.09.009. Epub 2018 Sep 14.

**Clinical impact of rapid molecular detection of respiratory pathogens in patients with acute respiratory infection.**

Echavarría M<sup>1</sup>, Marcone DN<sup>2</sup>, Querci M<sup>3</sup>, Seoane A<sup>4</sup>, Ypas M<sup>4</sup>, Videla C<sup>5</sup>, O'Farrell C<sup>6</sup>, Vidaurreta S<sup>7</sup>, Ekstrom J<sup>7</sup>, Carballal G<sup>2</sup>.

**432 patienter – akut luftvägsinfektion**

Multiplex snabbdiagnostik  
(17 virus + 3 bakt)

**81 % positiva**  
Svarstid: 1h 52 min

- ↓ Minskad ab-användning
- ↑ Ökad användning oseltamivir
- ↓ Minskade följdundersökningar

Traditionell diagnostik  
(8 virus)

**31 % positiva**  
Svarstid: 26 h

# Exempel: Svårighet bedömning av klinisk relevans - luftvägsvirus

[Thorax](#). 2015 Sep;70(9):847-53. doi: 10.1136/thoraxjnl-2015-206933. Epub 2015 Jun 15.

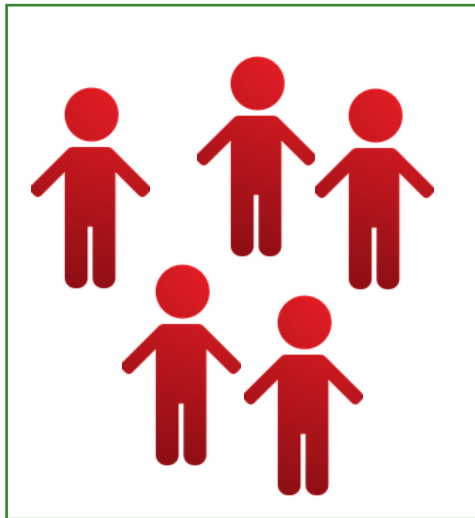
## Respiratory viruses associated with community-acquired pneumonia in children: matched case-control study.

[Rhedin S](#)<sup>1</sup>, [Lindstrand A](#)<sup>2</sup>, [Hjelmgren A](#)<sup>1</sup>, [Ryd-Rinder M](#)<sup>3</sup>, [Öhrmalm L](#)<sup>1</sup>, [Tolfvenstam T](#)<sup>4</sup>, [Örtqvist Å](#)<sup>5</sup>, [Rotzén-Östlund M](#)<sup>6</sup>, [Zweygberg-Wirgart B](#)<sup>6</sup>, [Henriques-Normark B](#)<sup>6</sup>, [Broliden K](#)<sup>1</sup>, [Naucner P](#)<sup>1</sup>.

Barn < 5 år, PCR 15 luftvägsvirus

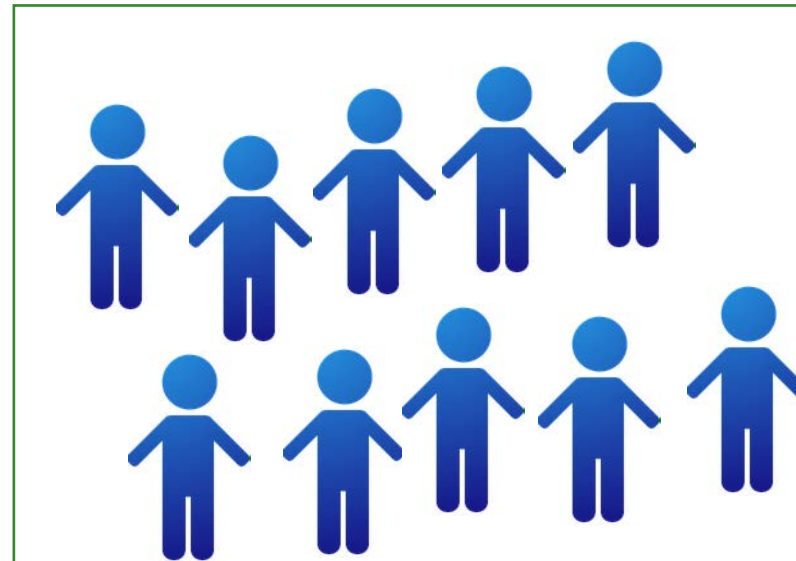
121 pneumoni patienter

hMPV  
RSV



81 % virus +

240 barn i kontrollgrupp



56 % virus +

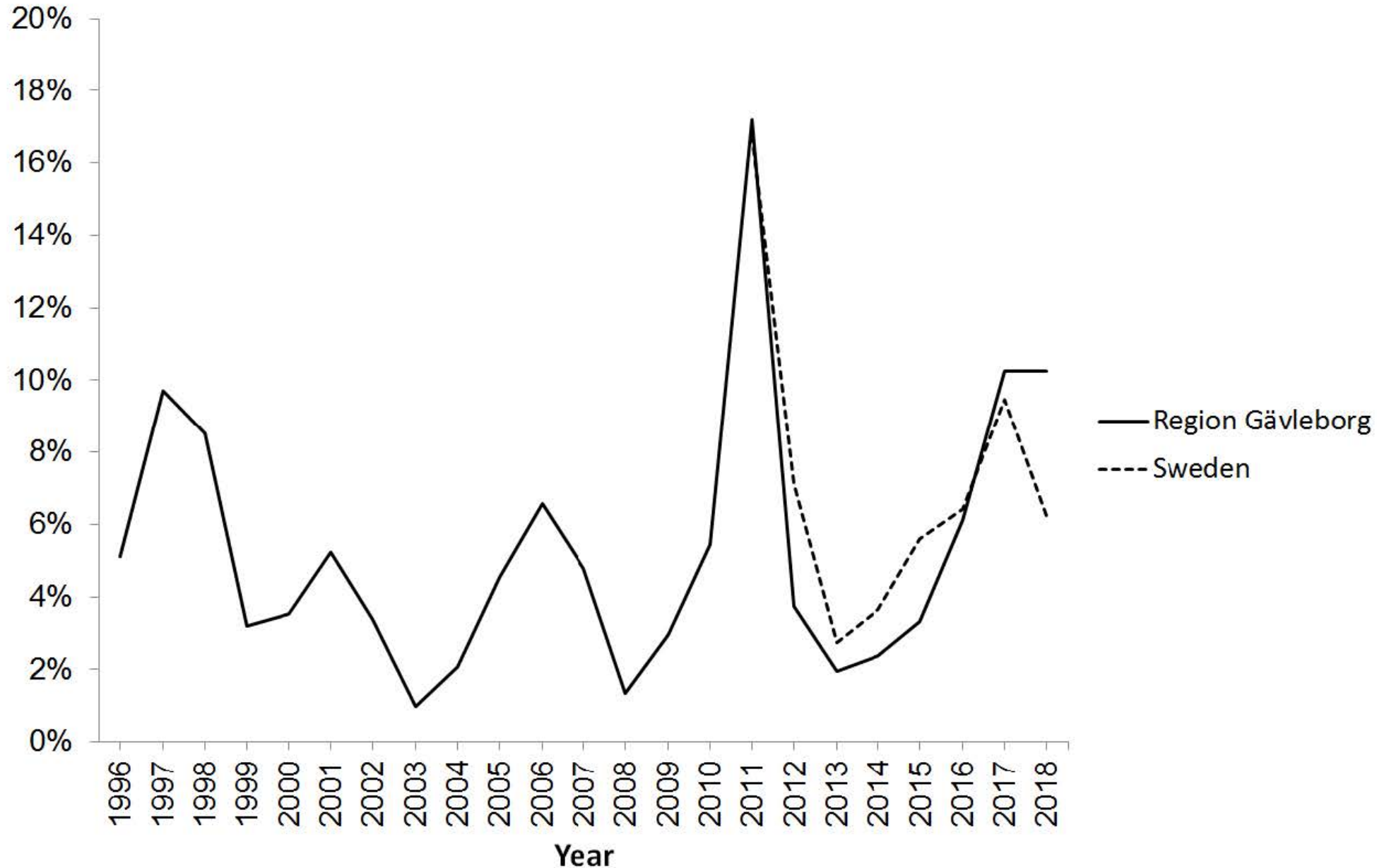


# Epidemiologiska studier/uppföljningar

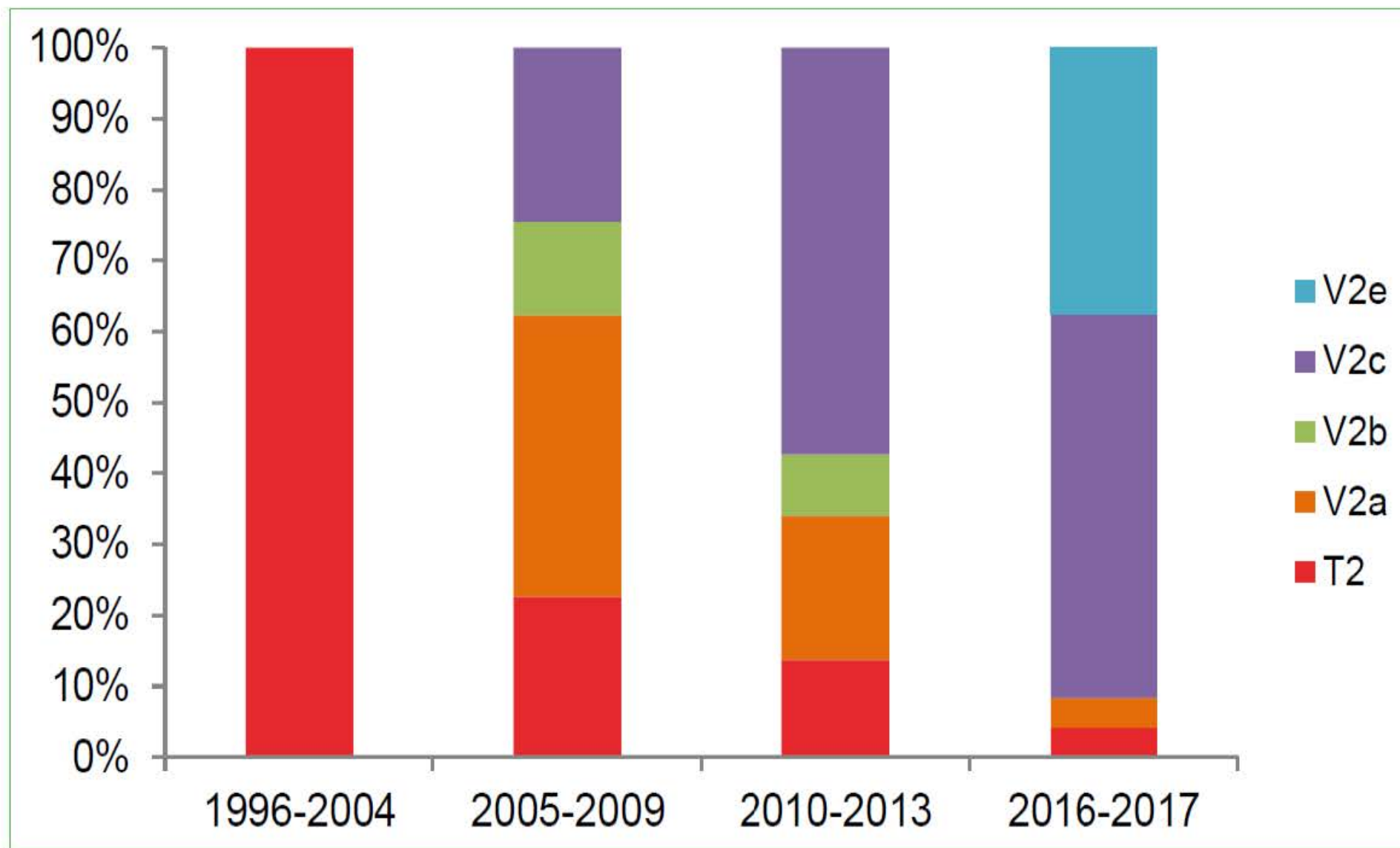
- Monitorera spridning
- Följa och förutse framtida epidemier
- Uppföljning av vaccinationsprogram



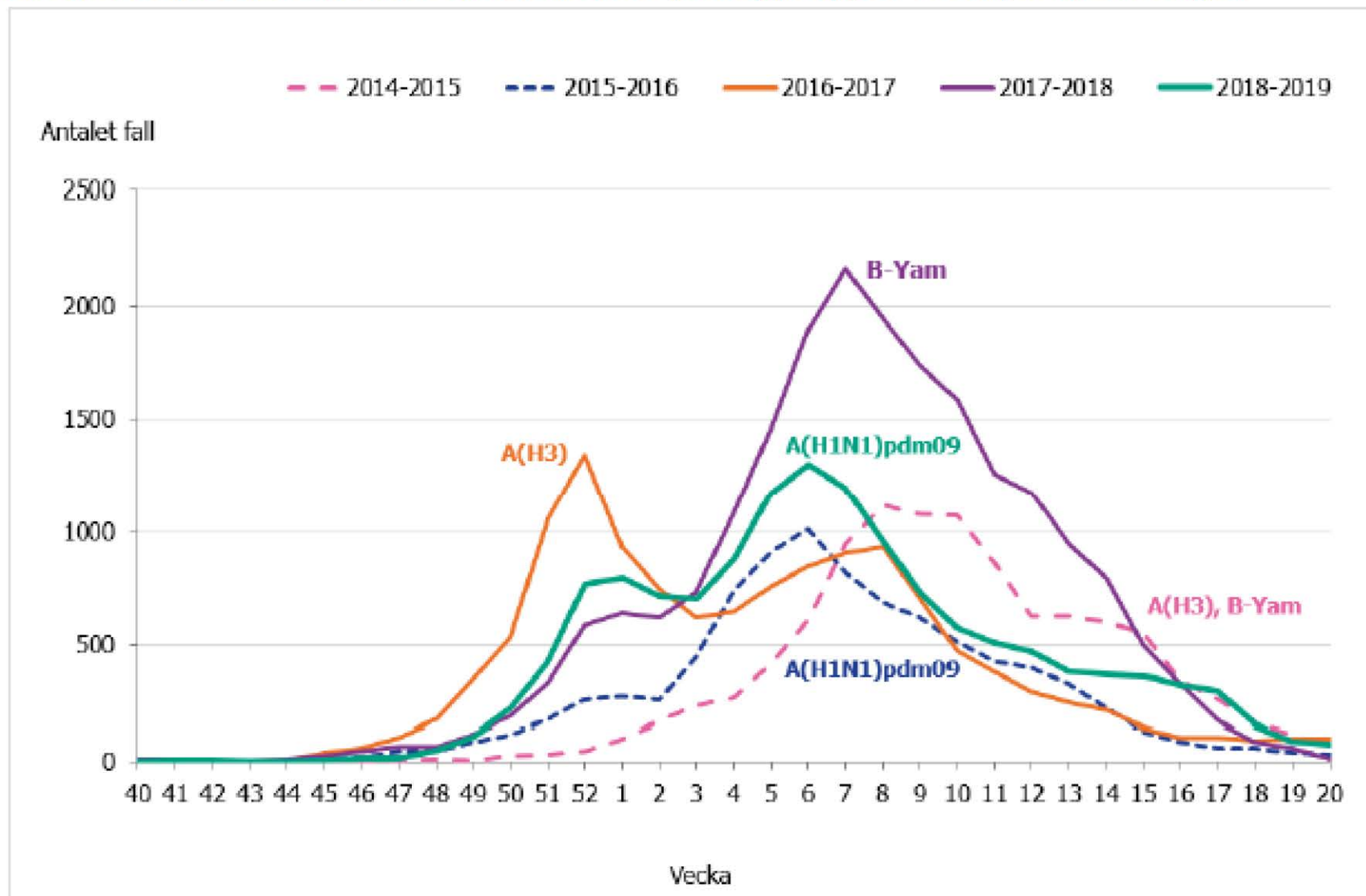
# Andel PCR-positiva *Mycoplasma pneumoniae*



# P1-typning av *Mycoplasma pneumoniae*



## Antal laboratorieverifierade influensafall (alla typer) per vecka, fem säsonger



För varje säsong anges vilken subtyp (av influensa A) alt. linjetyp (av influensa B) som dominerade.  
Figuren inkluderar inte fall diagnosticerade inom sentinelövervakningen.

# Sammanfattning

- Viktigt med bra diagnostik → rätt behandling av patienten
- Viktigt att bevaka och övervaka diagnostiken/metodiken
- Validera och verifiera metoder – hela flödet!
- Metoder med hög sensitivitet och specificitet
- Mikroorganismer förändras och anpassar sig
- Viktigt med epidemiologiska studier – följa utvecklingen
- Bred diagnostik – flera fynd
  
- **BEDÖMNING OM KLINISK RELEVANS!**
- Viktigt med bra dialog mellan lab och vårdgivare

Tack!

Frågor?

