

Molekylär diagnostik av luftvägsinfektioner

SAMMANFATTNING:

Det är allmänt känt att de flesta fall av luftvägsinfektioner orsakas av virus. I enskilda fall kan det dock vara svårt att avgöra etiologin. Utvecklingen av molekylär diagnostik de senaste åren har lett fram till metoder som kan identifiera merparten av de virus (och bakterier) som orsakar luftvägsinfektion. Dessa metoder är känsliga och tillförlitliga, och kan ge etiologisk diagnos inom ett dygn. Besked om etiologin har betydelse för beslut om för att avstå från antibiotika eller att ge antiviral behandling. En korrekt diagnos är också till hjälp för att förebygga nosokomial spridning och ger kunskap om luftvägsinfektioners epidemiologi.

Magnus Lindh

är klinisk virolog och överläkare vid Viruslaboratoriet, Sahlgrenska universitetssjukhuset i Göteborg.

KONTAKTADRESS:

Magnus Lindh
Viruslaboratoriet
Sahlgrenska universitetssjukhuset
Guldhedsgatan 10B
413 46 Göteborg
magnus.lindh@microbio.gu.se

MAGNUS LINDH, Sahlgrenska universitetssjukhuset, Göteborg

Luftvägsinfektioner är de vanligaste infektionerna hos människan och har stor medicinsk och samhällsekonomisk betydelse. De har många skepnader, från lindrig snuva till allvarlig lunginflammation. Risken för allvarlig infektion är större bland små barn och hos personer över 70 år, liksom hos immunsupprimerade individer. I vissa fall är presentationen typisk och man kan med ganska stor säkerhet avgöra om infektionen är viral eller bakteriell. Ofta är detta dock svårt att avgöra, och ännu svårare är det att från den kliniska bilden avgöra vilken viral etiologi det rör sig om. Laboratorieanalys, med i första hand CRP-testning, är därför mycket värdefull. Ett negativt CRP-test talar emot åtminstone svårare bakteriell infektion, medan CRP över 100 inger misstanke om bakteriell infektion, även om virala infektioner i sällsynta fall kan inducera CRP upp mot 200. Snabbtest (Strept-A) eller bakterieodling från svalget kan vara till hjälp för att styrka diagnosen streptokocktonsillit, medan odling från sputum eller nasofarynx har begränsat värde för att bedöma orsaken till pneumoni eller övre luftvägsinfektion (ÖLI).

Tidigare har specifika virusanalyser varit långsamma eller haft otillräckliga prestanda och sällan varit till hjälp i diagnostiken. Under de senaste åren har detta förändrats i och med att PCR-tekniken utvecklats så att den nu kan identifiera merparten av möjliga virologiska agens till en rimlig kostnad. Det finns flera skäl till att denna diagnostik är värdefull. Vid influensa kan – om diagnosen identifieras tidigt – specifik antiviral behandling ges till patienten, vilket är viktigt om det rör sig om gamla eller känsliga individer. Sådan behandling kan

också vara motiverat att ge till exponerade personer i omgivningen, t.ex. familjemedlemmar eller medpatienter på sjukhussal, något som troligen ofta försummas trots att behandlingen i dessa fall är särskilt effektiv. Det kan också vara viktigt att få reda på etiologisk diagnos för att identifiera och förebygga spridning av luftvägsinfektioner i vården. Kunskap om vilka infektioner som cirkulerar är vidare av värde för smittskyddsläkare och sjukvårdspersonal i allmänhet. Påvisande av viral etiologi i enskilda fall kan antas vara till hjälp för behandlande läkare för att avstå från onödig antibiotikaförskrivning, och förbättrad diagnostik kan på så vis bidra till att minska antibiotikaresistens. Slutligen är det av värde för både läkare och patient att få reda på den exakta orsaken till symtomen, snarare än ett antagande om att det troligen är en virusinfektion.

Sedan flera årtionden har det funnits virusisolering, antikroppspåvisning i blod och antigenpåvisning i nasofarynx- eller svalgsekret. Virusisolering ger ofta svaret ganska sent (ca 4–7 dagar) och har otillräcklig sensitivitet eller kan inte alls identifiera vissa virus. Påvisning av IgG eller IgM har liknande begränsningar. Antigenpåvisning kan göras med enzyme immunoassay (EIA)-teknik eller immunfluorescens (IF), vilka båda kan ge snabba svar men har otillräcklig sensitivitet. IF-metoden bygger på mikroskopi av cellutstryk av patientprov och kräver tillgång till en van avläsare och snabbheten gäller därför bara på dagtid, och metoden är arbetskrävande om flera agens ska analyseras.

Snabbtest (EIA)

Fördelen med EIA-snabbtest avseende antigen är att de är enkla och kan ge svar



Personalen på molekylärvirologiska enheten vid Viruslaboratoriet, Sahlgrenska universitetssjukhuset framför realtids-PCR-instrumentet.

inom 1 tim även på kvällstid eftersom de kan utföras på akutmottagning eller vårdavdelning. På så vis kan de bidra till att förhindra smittspridning mellan patienter på sjukhuset. De EIA-tester som används mest är de för influensavirus och RSV. Tyvärr är sensitiviteten ganska dålig, vanligen 50-75% jämfört med PCR, vilket innebär att ca en tredjedel av de infekterade patienterna bedöms som ej smittsamma. Specificiteten är bättre, vanligen runt 90-95%. Detta innebär att ett positivt testresultat är pålitligt, medan ett negativt resultat har svagt prediktivt värde.

PCR-diagnostik

PCR-tekniken introducerades 1983 av Kary Mullis som 1993 fick Nobelpriset i kemi. Den bygger på att DNA-sekvenser kan kopieras av DNA-polymeras in vitro i närvaro av byggstenar (nukleotider) och startmolekyler, s.k. primrar. För att få en exponentiell ökning av kopiorna uppvärms och nedkyls reaktionen 40-45 gånger eller cykler. Tidigare bedömdes resultatet genom gelelektrofores av slutprodukten. Metodikens begränsningar var att den var relativt krånglig och behäftad med risk för

provkontamination, att specificiteten var osäker och att metoden inte var kvantitativ. En svårighet med PCR är att det är svårt att konstruera tester som påvisar många agens, eftersom primrarna är mycket selektiva. De senaste åren har tekniker som möjliggör identifiering av ett bredare spektrum av agens lanserats (1).

Realtids-PCR bygger på att PCR-plattan avläses varje cykel så att fluorescens i varje brunn kan registreras. Tekniken har fördelen att ge kvantitativ information, och om prover med olika färgämnen används kan flera parallella reaktioner köras i varje reaktionsbrunn. Ännu så länge kan bara 3-5 virus per reaktionslösning analyseras p.g.a. att ljusspektrum är begränsat. Om flera agens ska studeras krävs att analysen görs i flera brunnar (2, 3).

I jämförelse med antigenester har PCR mycket högre sensitivitet, ofta >100 gånger högre om man avser detektionsgräns. I realiteten slår detta inte igenom fullt ut vid luftvägsdiagnostik, eftersom viruskoncentrationen i kliniska prover ofta är högre än detektionsgränsen även för antigenester (fig 1). För prover som tas senare i förloppet

eller som påverkats av transporttid eller lagring har den högre känsligheten större betydelse.

En alternativ metodik som introducerats nyligen baseras på s.k. Luminex-teknik. Då görs först en multiplex PCR-reaktion i brunn, varefter eventuella amplifierade produkter binds till särskilda färgmärkta kulor som kan separeras och avläsas avseende fluorescens i ett flödescytometri-instrument (4). Fördelen med tekniken är att den kan separera och identifiera upp till 100 olika PCR-produkter från en reaktion, och att många prover kan analyseras parallellt avseende ett stort antal agens. Hittills har tekniken dokumenterats för HPV och luftvägsagens (5). Nackdelen jämfört med realtids-PCR är att man inte får kvantitativ information och att det är svårare att vid utveckling av metoden bedöma i vilken grad blandningen av många primrar försämrar prestanda för PCR. Flera kommersiella metoder för identifiering av luftvägsagens med denna eller liknande teknik har nyligen lanserats (tab 1). De förefaller alla ha hög specificitet och tillfredsställande sensitivitet.

Ett annat alternativ, Seeplex RV, baseras på PCR med en särskild ny typ av pri- ▶

mer som minimerar interferens vid multiplex-PCR och ger renare PCR-produkter som kan särskiljas med vanlig gelelektrofores (6). Metoden kräver inte avancerad utrustning och kan vara lämplig för mindre laboratorier, men kräver relativt mycket manuellt arbete. Tabell 1 sammanfattar spektrum för olika luftvägs-PCR-metoder.

Etiologiska agens

VIRUS

Rhinovirus

Rhinovirus är små (7500 nt) RNA-virus (picornavirus) och utgör den vanligaste etiologin till övre luftvägsinfektion (ÖLI). Rhinovirus är höljelösa, vilket gör dem robusta och underlättar indirekt spridning via t.ex. dörrhandtag och kranvred. Rhinovirus förekommer i mer än 200 subtyper, vilket troligen är främsta anledningen till att man kan reinfekteras många gånger. Tidigare förknippades rhinovirus med lindrig snuvförkylning, men det har på senare år blivit tydligt att de också kan ge allvarlig nedre luftvägsinfektion, inklusive bronkit med

svår luftvägsobstruktion (7, 8).

Coronavirus (CoV)

Coronavirus är stora (30.000 nt), höljeförsedda RNA-virus. Det har länge varit känt att coronavirus (typerna OC43 och 223E) är vanliga orsaker till ÖLI. Intresset för denna virusgrupp ökade när det blev klart att SARS-utbrottet 2002 orsakades av ett coronavirus (SARS-CoV). Därefter har (2004) två nya coronavirus beskrivits, NL63 och HKU1, och visats sig vara vanliga orsaker till ÖLI (9, 10).

Influensavirus

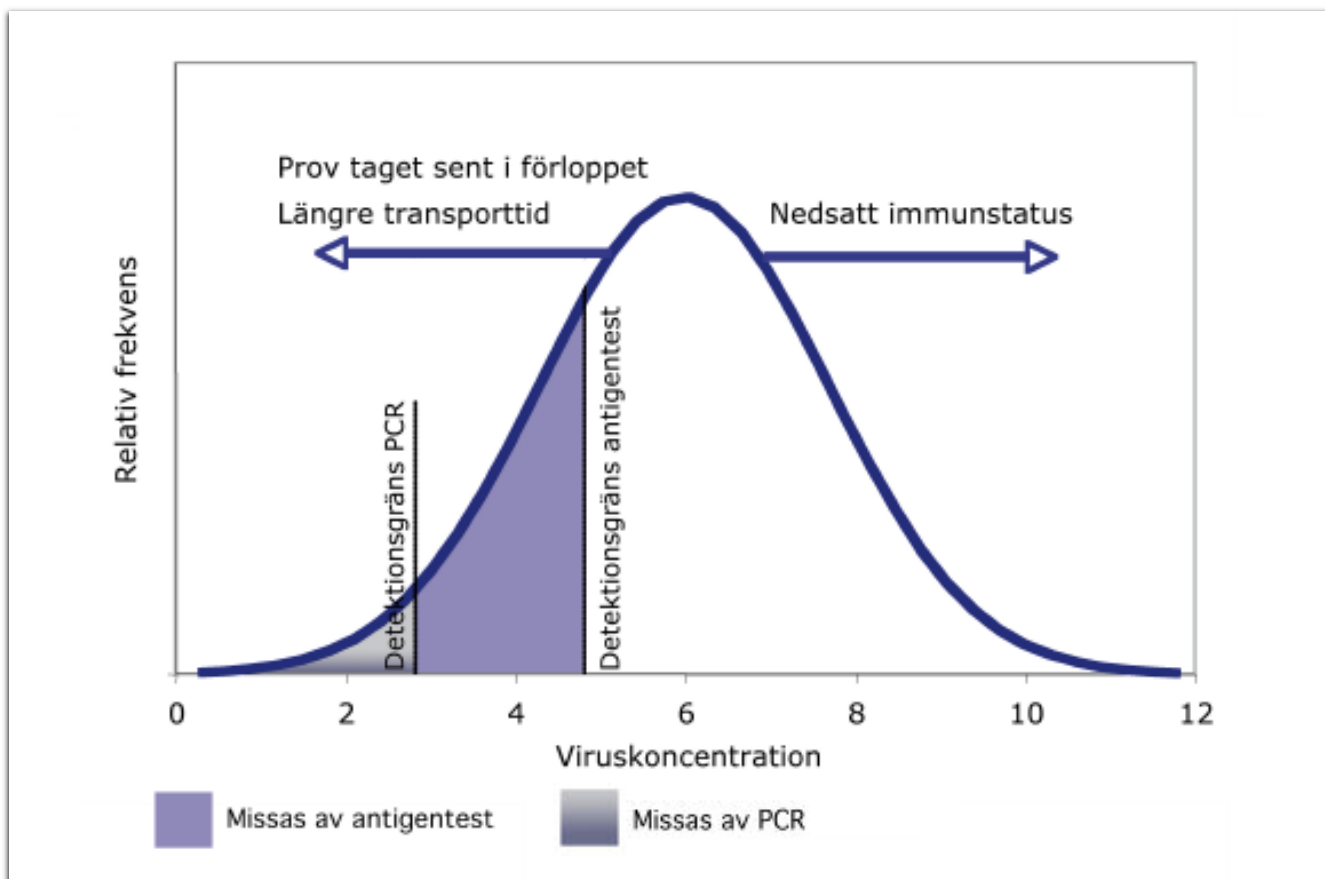
Influensavirus är RNA-virus som kan orsaka såväl lindrig ÖLI som svårare infektioner med nedre luftvägsinfektion och systemisk påverkan, det vi i dagligt tal kallar «influenza» (11). Det finns tre typer av influensavirus (A, B och C) med olika epidemiologi och presentation. Av dessa orsakar influensavirus A och B likartad sjukdomsbild, medan C tycks ge lindrigare ÖLI.

Det speciella med detta virus är att dess RNA-genom (totalt ca 14 000 nt),

vilket är uppdelat i 8 segment som kodar för var sitt protein. Om en cell infekteras av två olika influensastammar kan det bildas en ny variant med segment från bägge ursprungsvirus (reassortment, «genetic shift»). En sådan ny variant kan spridas effektivt eftersom befolkningens immunitet är svagare, och därför kan denna mekanism ge upphov till pandemier. Även om alla 8 segmenten kan bytas ut, brukar man mest diskutera och klassificera på basen av två av dem, de som kodar för höljeproteinerna neuraminidas och hemagglutinin, vilket nog beror på att dessa subtyper kunde identifieras med serologiska metoder. Man har identifierat 15 olika hemagglutintyper (H1–H15) och 9 neuraminidastyper (N1–N9), och brukar klassificera influensastammar på basen av detta. Hos mänskliga förekommer endast 3 H-typer (H1–H3) och 2 N-typer (N1–N2). Den kombination som dominerat globalt under flera decennier är H3N2, medan det i bakgrunden även funnits en H1N1-stam. Tidigare har några andra typer givit upphov till pandemier, t.ex. Asiaten på 50-talet, vilken var H2N2, medan Spanska sjukan 1918 orsakades av en tidigare variant av H1N1.

Bland fåglar förekommer alla typer av H och N, men även hos dem är vissa

FIGUR 1. Schematisk beskrivning av viruskoncentrationen i kliniska luftvägsprover i förhållande till detektionsgränsen för PCR och antigenester. PCR kan påvisa virus i låg koncentration, men genetisk variation i virus kan påverka känsligheten och förskjuta detektionsgränsen flera log-steg uppåt.



HN-kombinationer vanligare. Särskilt en av dem, H5N1, har diskuterats mycket eftersom en särskild variant av H5N1 (HPAI, hög-patogen aviär influensa) kan orsaka dödlig infektion hos fåglar, och även i sällsynta fall spridas till människa.

Även om genetic shift är intressant och mycket diskuterad, är denna typ av förändring dock ganska sällsynt. De vanliga årligen återkommande epidemierna av influensa A antas i stället till stor del bero på gradvisa förändringar av virus till följd av mutationer, s.k. «genetic drift». På så vis uppstår och sprids nya varianter av H3N2 eller H1N1 för vilka befolkningen är mottaglig. För att förebygga detta försöker WHO varje år genom analys av virus i olika världsdelar, särskilt Sydostasien, förutsäga vilken variant som kommer att dominera under nästa säsong och ta fram vaccin som inducerar skydd mot denna stam.

Parainfluensavirus (PIV)

Parainfluensavirus är besläktat med påsjukevirus, mässlingvirus och RSV som också tillhör paramyxovirusfamiljen, vars virus är ca 15000 nt stora. Det är liksom influensavirus negativsträngat RNA-virus men har inte ett segmenterat genom, och därför ses inte genetisk omkastning. PIV-infektioner är mycket vanliga hos små barn och PIV-1 är vanligaste orsaken till falsk krupp. PIV-2 anses ge mildare sjukdom, medan PIV-3 har associerats med allvarlig trakeobronkit (12, 13). PIV-infektioner förekommer under hela vinterhalvåret, och ibland förekommer utbrott av krupp orsakat av PIV-1. PIV-4 är ganska olik de andra och har osäker klinisk betydelse.

Respiratory syncytial virus (RSV)

Respiratory syncytial virus är ett annat RNA-virus i paramyxovirusfamiljen. Det förekommer i två typer, A och B, som ger likartad klinisk bild, även om B anses ge mildare sjukdom. RSV är en mycket vanlig orsak till luftvägsinfektioner hos små barn, hos vilka det ofta orsakar nedre luftvägsinfektion och kan kräva sjukhusvård (bronkiolit eller pneumonit) (13, 14). RSV inducerar inte långvarig immunitet utan liksom för PIV är reinfektioner vanliga, särskilt upp till 3-4 årsåldern. Ungdomar och vuxna får vanligen lindriga infektioner, men allvarliga infektioner har rapporterats från gamla och immunsupprimerade.

	MultiCode-PLx RV (EraGen)	ID-Tag RV (Tm Bioscience)	NGEN RVA (Nanogen)	ResPlex II (Cenaco)	Seeplex RV (Seegene)	In-house real-time PCR, SU
Rhinovirus	x	x	x	x	x	x
Coronavirus	(x) ^a	x		(x) ^b	x	x ^c
Influenza A	x	x	x	x	x	x
Influenza B	x	x	x	x	x	x
Parainfluensavirus 1-3	(x)	x	x	x	x	x
RSV	x	x	x	x	x	x
Metapneumovirus	x	x		x	x	x
Adenovirus	(x) ^c	x			x	x
Mykoplasma						x
Chlamydia						x

a Endast CoV NL63 och OC43
b Endast CoV SARS
c Endast CoV NL63, 229E och OC43
d Endast AdV grupp C

TABELL 1. Jämförelse av PCR-metoder för luftvägsinfektionsdiagnostik. Förutom dessa finns flera publicerade in-house-metoder, och dessutom finns kommersiella kit inriktade på bakterier.

Metapneumovirus

Humant metapneumovirus upptäcktes 2001 och är ett paramyxovirus besläktat med RSV (15). Det kan liksom RSV orsaka bronkiolit eller obstruktiv bronkit hos små barn, men jämfört med RSV tycks metapneumovirus mindre ofta ge andningsbesvär som kräver sjukhusvård (16).

Adenovirus (AdV)

Adenovirus är ett höjelöst DNA-virus som förekommer i 6 genogrupper (A-F) som i sin tur kan delas upp i ca 50 serotyper. Vissa serotyper har associerats till luftvägsinfektion eller konjunktivit. Luftvägsinfektioner orsakade av AdV är ganska vanliga under hela vinterhalvåret, och kan orsaka mild faryngit eller bronkit, eller svårare infektioner med utbredd pneumonit (17). Systemisk infektion med pneumonit kan vara livshotande hos transplanterade patienter. Vissa AdV-serotyper (främst 40, 41) har förknippats med gastroenterit, andra med hemorragisk cystit hos immunsupprimerade.

Enterovirus (EV)

Enterovirus är nära släkt med rhinovirus och alltså små RNA-virus utan hölje. De är resistenta mot magsyra och infekterar primärt tarmepitel, men ger sällan gastroenteritsymtom. Det finns snart 100 kända subtyper av EV, vilka delas in i fem grupper: A, B, C, D och poliovirus. Grupperna A-D delas i sin tur in i coxsackie A-, coxsackie B- och echovirus. *

EV sprids ofta hematogent till olika organ och kan orsaka meningit, meningoencefalit och myokardit. Några typer sprids till luftvägarna och kan bl.a. orsaka faryngit, hand, foot and mouth disease och pleurit (18).

Bocavirus

Bocavirus är ett litet höjelöst DNA-virus som liknar parvovirus B19. Det beskrevs nyligen av Allander och medarbetare (19), och har visat sig vara ett relativt vanligt fynd hos barn med luftvägsinfektion i många länder. Det påvisas ofta tillsammans med andra virus, men även som enda agens vilket tyder på att det orsakar symtomgivande luftvägsinfektion (20).

Epstein-Barr-virus (EBV)

EBV är ett stort DNA-virus i herpesvirusgruppen som efter en ofta asymtomatisk infektion i småbarnsåren etablerar latent infektion i B-celler. Det en välkänd orsak till körtelfeber som hos barn och ungdomar ofta presenteras som tonsillit som inte kliniskt kan skiljas från streptokocktonsillit. Cirka 95% av vuxna har IgG mot EBV och är alltså latent infekterade. Vid körtelfeber kan EBV-DNA påvisas i blodet med PCR, men i regel finns redan tidigt när patienten söker för symtomen specifikt IgM mot EBV.

BAKTERIER

Pneumokocker

Streptococcus pneumoniae är en vanlig ►

	ÖLI	Krupp	Trakeobronkitt	Bronkiolit	Pneumoni(t)	«Influensa»
Rhinovirus	+++	+	+	++	+	+
Coronavirus	+++	+				
Influensa A	+	++	+	+	+	+++
Influensa B	+	+	+	+	+	++
Parainfluensavirus 1-3	++	+++	+	++	+	+
RSV	++	+	+	+++	+	+
Metapneumovirus	+	+		++	+	
Adenovirus	+			+	+	+
Mykoplasma	+				+	+
Chlamydia	+				+	

TABELL 2. Ungefärlig beskrivning av hur den kliniska presentationen för olika agens varierar och överlappar.

orsak till pneumoni, men kan också orsaka otitis media och sinuit. En svårighet vid diagnostiken är att bärarskap hos friska är vanligt, särskilt bland barn, och att nasofarynxprov inte är relevant för att bedöma om pneumokocker är etiologi till pneumoni.

Hemophilus influenzae typ b (Hib)

Hib är liksom pneumokocker en vanlig orsak till otitis media och sinuit, men mindre vanlig som orsak till lobär pneumoni. Hib anses dock vara en vanlig orsak till bronkopneumoni och bronkioskov hos rökare. Liksom för pneumokocker försvåras diagnostiken av att bärarskap är vanligt.

Mykoplasma pneumoniae

Mykoplasma är en viktig orsak till «atypisk pneumoni», dvs. pneumoni som kliniskt och röntgenologiskt avviker från den typiska lobära pneumokockpneumonin – insjuknandet är långsammare och röntgeninfiltraten spridda (21). Dessutom orsakar mykoplasma ofta mildare men långdragen ÖLI hos äldre barn och unga vuxna. Mykoplasma är en intracellulär bakterie utan cellvägg. Den är svårödlad och därför baseras diagnostiken på PCR eller påvisande av IgM.

Chlamydia pneumoniae (TWAR)

Även Ch. pneumoniae är en viktig orsak till «atypisk pneumoni», och kan liksom mykoplasma orsaka ÖLI (22). Ch. pneumoniae är också en intracellulär bakterie

utan cellvägg, och svår att odla. En stor andel av barn och vuxna har redan påvisbart IgG sedan tidigare, så serologisk diagnostik baseras främst på IgM. Eftersom IgM ofta är svårtolkad, är serologisk diagnostik osäker, och PCR-påvisning försvåras av att mängden chlamydiabakterier i svalg och nasofarynx ofta förefaller vara låg. Om Ch. pneumoniae misstänks kan det därför vara en fördel att även analysera sputumprov.

Legionella pneumophila

Legionella är en bakterie som liksom Mykoplasma och Chlamydia kan orsaka atypisk pneumoni. Infektionen kan bli allvarlig om den drabbar individer med nedsatt immunförsvar. Den är ovanlig, men utbrott som drabbat många individer efter spridning från befuktare och duschar har beskrivits.

Bordetella pertussis

Kikhosta ger i typiska fall en klinisk bild som är lätt att identifiera. I mildare fall kan infektionen vara svår att skilja från luftvägsinfektion av annan etiologi.

Kliniska presentationer

Det finns en betydande överlappning mellan olika agens vad beträffar klinisk presentation, och det är i enskilda fall inte möjligt att från symtomen dra slutsats om etiologi. Till stor del är nog symtomen inte agensberoende utan beror på patientens ålder, vilket indirekt ger en association till agens, eftersom olika

infektioners förekomst är åldersberoende. Så är troligen RSV:s starka association till bronkiolit med andningsbesvär förmodligen både ett uttryck för att RSV särskilt infekterar små barn och att svullnad av små luftvägar hos små barn lätt ger obstruktiva besvär.

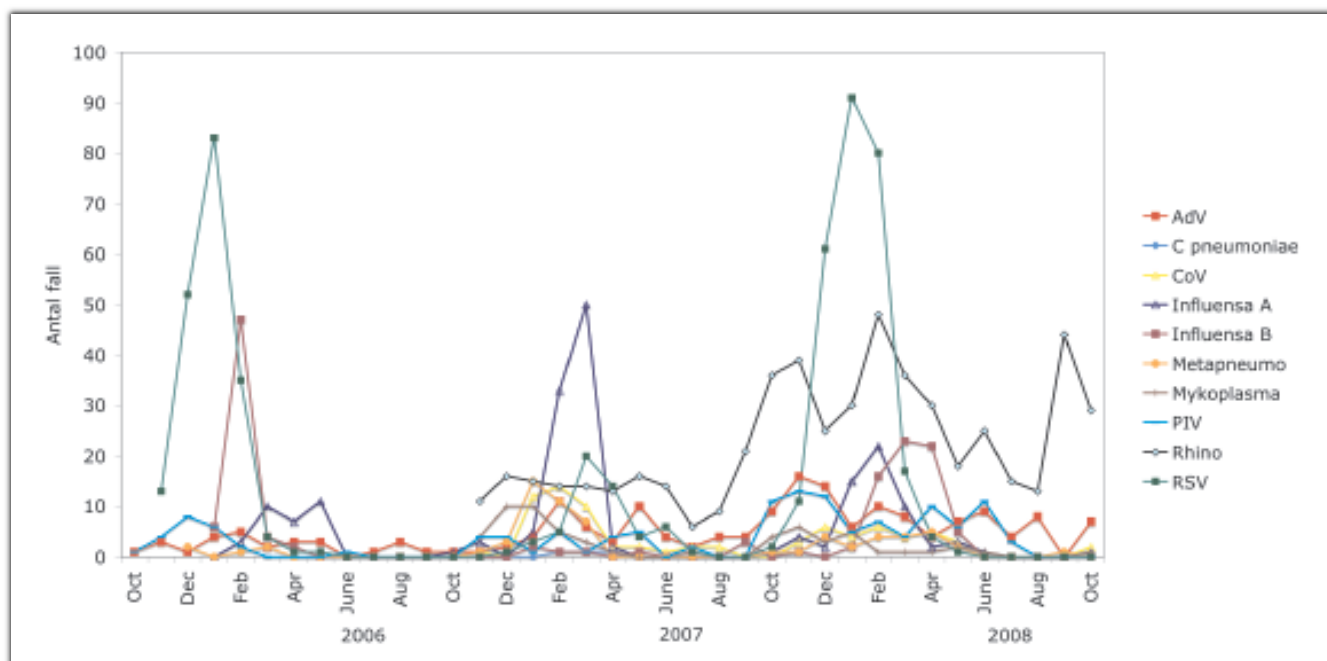
Diagnostik med «luftvägsblock»

Vid viruslaboratoriet, Sahlgrenska universitetssjukhuset påbörjades utveckling av molekylär diagnostik avseende luftvägsagens 2004. Vi har använt realtids-PCR på ett instrument som kan detektera 3–4 parallella analyser (ABI 7500) och startade med inriktning på enbart influensavirus A och B, RSV och PIV. Efterhand har vårt test utvecklats till att omfatta 15 agens: 13 virus och 2 bakterier. Analysen görs i 6 reaktionsbrunnar med detektion av 2–3 agens per brunn. En svårighet har varit att det ofta blivit interferens mellan olika PCR-system när de blandats i samma reaktion, och vi har behövt testa många kombinationer för att finna system som inte medfört nedsatt sensitivitet.

Efterhand har «luftvägsblocket» som vi kallar analysen blivit alltmer efterfrågad. Det är särskilt vissa barnmottagningar och vårdcentraler som tar många prover, och de tycks ha lärt sig hur och när provet ska tas, för andelen med positiva resultat är hög, över 70%. Vi räknar med att efterfrågan kommer att fortsätta öka, både i öppenvård och slutenvård, när klinikerna får erfarenhet av hur de kan ha nytta av fynden. Vi är medvetna om att det i dagens ekonomiskt pressade situation finns en tvekan att ta prover vars resultat inte säkert påverkar handläggningen, och särskilt inte vid luftvägsinfektioner som vanligen går över spontant utan komplikationer. Vi har därför försökt minimera kostnaderna och lyckats få ner priset till ca 300 kr, något som var otänkbart för några år sedan när priset snarare skulle ha varit 5000 kr. Vi har bedömt att ett lågt pris gör att klinikerna anser att analysen ger ett tillräckligt mervärde och att vi på så vis får in tillräckligt många prover för att kunna köra luftvägsblocket varje dag på ett för oss kostnadseffektivt sätt.

FIGUR 2. Pinne med mjuk borst för nasofarynxprovtagning.

503CS01



FIGUR 3. Påvisade infektioner (n=1889) under tre säsonger (första säsongen saknades mykoplasma, chlamydia pn., rhinovirus och coronavirus i testet).

Vi rekommenderar att man tar pinnprov från både nasofarynx och svalget och stoppar bägge pinnarna i ett rör med steril NaCl eller speciellt transportvätska från Copan. Anledningen till att vi föreslår pinnprov även från svalget är det anses öka chansen att identifiera bl.a. mykoplasma och chlamydia. Vi rekommenderar pinnar med mjuk borst («flocked swabs»), t.ex. dem från Copan som visas i figur 2.

Hittills har vi under tre säsonger analyserat drygt 4000 prover. Andelen positiva är ca 70% för barn under 5 år, och ca 40% för åldrarna 5–90 år. I figur 3 visas en sammanställning av fynden vid analys med luftvägsblocket under de första tre säsongerna (2005/2006, 2006/2007 och 2007/2008). Den visar att Influenza A, Influenza B och RSV uppträder epidemiskt med koncentrerad förekomst vissa år och låg förekomst andra år, troligen på grund av att andelen mottagliga i befolkningen vissa år är för låg för att möjliggöra effektiv spridning.

Sammanfattande synpunkter

De molekylära metoderna har radikalt förändrat förutsättningarna för diagnostik av luftvägsinfektioner. Man kan nu snabbt och med hög känslighet klargöra etiologin, vilket har klinisk betydelse eftersom det kan påverka handläggningen ur smittskyddsperspektiv ställningstagandet till antibiotika eller antiviral behandling. Även om påvisande av en viral etiologi inte utesluter bakteriell in-

fektion eller komplikation, är det troligt att identifiering av ett specifikt virus kan vara ett stöd för att avstå från antibiotika. Frågan om antiviral behandling är nog mer kontroversiell. Idag finns effektiv behandling mot influensavirus (A och B), men den används ofta inte, delvis av okunskap, delvis därför att man är osäker på nyttan i det enskilda fallet och delvis av rädsla för resistens. Utvecklingen av snabb och exakt diagnostik öppnar möjligheter för behandling av även andra virus, men det är oklart om sådana läkemedel kommer att utvecklas med tanke på kostnaderna att utveckla läkemedel och att det är svårt för bolagen att förutsäga användningen (marknadsläget). Det man kan hoppas på i första hand är medel mot RSV, men antiviral behandling av rhinovirus och adenovirus skulle nog kunna vara motiverad i svårare fall.

Den nya diagnostiken möjliggör också bättre kartläggning av epidemiologiska mönster och studier av nosokomial spridning, liksom kliniska studier av infektioner hos immunsupprimerade. Även frågan om luftvägsinfektioners betydelse för astmatiska besvär kan undersökas på ett bättre sätt (23–25). Finns det samband mellan vissa agens och utveckling av obstruktiva besvär? Är tidig debut av astma i samband med en specifik infektion associerat till senare utveckling av astma, och finns det i så fall orsakssamband?

I framtiden kan diagnostiken utvecklas ytterligare. Fler virus kan introduceras i

panelen. Vi planerar t.ex. att lägga till CoV HKU1 och eventuellt även bocavirus och influenza C. Dessutom kan det vara intressant att lägga till fler bakteriella komponenter som legionella och kikhosta. Möjligen vore det också av värde att ha med pneumokocker och H. influenzae typ B, men deras cellvägg och kapsel kan göra det svårt extrahera DNA med samma teknik som används för virus. Fynd av dessa bakterier kan även vara svårtolkade eftersom de ofta kan påvisas hos friska barn, och dessutom kan deras relativa betydelse minska när vaccination mot dem får mer genomslag. Möjligen kan kvantitativ bedömning av PCR-resultatet underlätta värderingen av klinisk relevans, och kanske kan genetisk analys av antibakteriell resistens leda till att pneumokocker och H. infl. finns med i framtida paneler. Vi tror att utvecklingen av molekylär luftvägsdiagnostik kommer att fortsätta så att den blir en självklar och viktig komponent i såväl diagnostik som klinisk forskning.

Referenser

1. Mahony JB. Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21: 716–47.
2. Bellau-Pujol S, Vabret A, Legrand L, Dina J, Gouarin S, Petitjean-Lecherbonnier J, et al. Development of three multiplex RT-PCR assays for the detection of 12 respiratory RNA viruses. *J Virol Methods* 2005; 126: 53–63.
3. Brittain-Long R, Nord S, Olofsson S, Westin

- J, Anderson LM and Lindh M. Multiplex real-time PCR for detection of respiratory tract infections. *J Clin Virol* 2008;41: 53–6.
4. Merante F, Yaghoubian S and Janeczko R. Principles of the xTAG respiratory viral panel assay (RVP Assay). *J Clin Virol* 2007; 40 Suppl 1: S31–5.
 5. Pabbaraju K, Tokaryk KL, Wong S and Fox JD. Comparison of the Luminex xTAG respiratory viral panel with in-house nucleic acid amplification tests for diagnosis of respiratory virus infections. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 3056–62.
 6. Roh KH, Kim J, Nam MH, Yoon S, Lee CK, Lee K, et al. Comparison of the Seplex reverse transcription PCR assay with the R-mix viral culture and immunofluorescence techniques for detection of eight respiratory viruses. *Ann Clin Lab Sci* 2008;38:41–6.
 7. Peltola V, Waris M, Osterback R, Susi P, Hyytia T and Ruuskanen O. Clinical effects of rhinovirus infections. *J Clin Virol* 2008.
 8. Renwick N, Schweiger B, Kapoor V, Liu Z, Villari J, Bullmann R, et al. A recently identified rhinovirus genotype is associated with severe respiratory-tract infection in children in Germany. *J Infect Dis* 2007; 196: 1754–60.
 9. van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJ, Wolthers KC, et al. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med* 2004; 10: 368–73.
 10. Lau SK, Woo PC, Yip CC, Tse H, Tsoi HW, Cheng VC, et al. Coronavirus HKU1 and other coronavirus infections in Hong Kong. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 2063–71.
 11. Nicholson KG, Wood JM and Zambon M. Influenza. *Lancet* 2003; 362: 1733–45.
 12. Counihan ME, Shay DK, Holman RC, Lowther SA and Anderson LJ. Human parainfluenza virus-associated hospitalizations among children less than five years of age in the United States. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 646–53.
 13. Hall CB. Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. *N Engl J Med* 2001; 344: 1917–28.
 14. Collins PL, Graham BS. Viral and host factors in human respiratory syncytial virus pathogenesis. *J Virol* 2008; 82: 2040–55.
 15. van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, Kuiken T, de Groot R, Fouchier RA, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* 2001; 7: 719–24.
 16. van den Hoogen BG, Osterhaus DM and Fouchier RA. Clinical impact and diagnosis of human metapneumovirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23: S25–32.
 17. Rocholl C, Gerber K, Daly J, Pavia AT and Byington CL. Adenoviral infections in children: the impact of rapid diagnosis. *Pediatrics* 2004; 113: e51–6.
 18. Sawyer MH. Enterovirus infections: diagnosis and treatment. *Semin Pediatr Infect Dis* 2002; 13: 40–7.
 19. Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A and Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 12891–6.
 20. Esposito S, Bosis S, Niesters HG, Tremolati E, Sabatini C, Porta A, et al. Impact of human bocavirus on children and their families. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1337–42.
 21. Atkinson TP, Balish MF and Waites KB. Epidemiology, clinical manifestations, pathogenesis and laboratory detection of Mycoplasma pneumoniae infections. *FEMS Microbiol Rev* 2008.
 22. Kumar S, Hammerschlag MR. Acute respiratory infection due to Chlamydia pneumoniae: current status of diagnostic methods. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 568–76.
 23. Jackson DJ, Gangnon RE, Evans MD, Roberg KA, Anderson EL, Pappas TE, et al. Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 178: 667–72.
 24. Bosis S, Esposito S, Niesters HG, Zuccotti GV, Marseglia G, Lanari M, et al. Role of respiratory pathogens in infants hospitalized for a first episode of wheezing and their impact on recurrences. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 677–84.
 25. Stein RT, Sherrill D, Morgan WJ, Holberg CJ, Halonen M, Taussig LM, et al. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. *Lancet* 1999; 354: 541–5.