

Johan Giesecke, statsepidemiolog, Smittskyddsinstitutet, Solna (johan.giesecke@smi.ki.se)

Molekylär typning ett effektivt epidemiologiskt verktyg

Men bara om samordningen laboratorierna emellan förbättras

■ Två artiklar i Läkartidningen nyligen har beskrivit hur nya genetiska, ofta kallade »molekylärepidemiologiska«, metoder kan användas för att bättre förstå smittsamma sjukdomars epidemiologi. Artiklarna har avhandlat tuberkulos [1] och hepatit B [2]. I en tredje artikel i detta nummer koncentreras framställningen på hepatit A.

Med följande kommentar vill jag försöka sätta in de nya epidemiologiska metoderna i ett sammanhang.

Diagnostikens syfte

I bekämpningen av smittsamma sjukdomar fyller den mikrobiologiska diagnostiken två syften:

- Att fastställa vilken patogen som orsakar patientens sjukdom. Detta spelar roll för terapival och prognos.
- Att avgöra om olika fall av en viss infektionssjukdom har ett samband. Den epidemiologiska frågeställningen är: Har patienterna smittats av samma källa? Har de smittat varandra? Kunskap om sådana samband är viktig för att förstå epidemiologin och därigenom kunna förebygga fler fall.

Metoder för resistensbestämning kan ibland uppfylla bägge syftena: de kan vara direkt användbara kliniskt men även ge resultat som tyder på att prov från två patienter kan ha ett epidemiologiskt samband.

Ibland kan en enkel artbestämning enligt den första punkten ovan ge viss epidemiologisk information, speciellt om det gäller en sällan förekommande patogen. Två fall av difteri samtidigt i Malmö skulle tyda på ett epidemiologiskt samband. Flertalet patogener är dock så vanligt förekommande i befolkningen att en sådan artbestämning inte räcker för att klarlägga smittvägar: att två personer i Stockholm samtidigt upptäckts ha streptokocktonsillit är inte särskilt oväntat.

För den epidemiologiska frågeställningen kan man då utnyttja olika metoder för att avgöra om två bakterier/virus/parasiter av samma art är nära besläktade: fenotypning, serologisk typning, fagtypning, elektroforetisk typning av fragment av arvsmassa som klippts sönder med restriktionsenzym, direkt sekvensering av bitar av arvsmassan, m fl.

SAMMANFATTAT

De nya genetiska metoderna för subtypning av bakterier, virus och parasiter utgör lovande verktyg för att bättre kunna klarlägga utbrott och smittvägar.

För att öka metodernas praktiska nytta i folkhälsoarbetet återstår framför allt en övergripande samordning av verksamheten.

Ett nära samarbete krävs mellan epidemiologin och mikrobiologin.

Se även artikeln på sidan 3682 i detta nummer.

Alla dessa metoder sammanfattas här under begreppet »subtypning«.

Subtypning

Det är viktigt att inse att denna subtypning oftast är helt ointressant både för patienten och för den behandlande läkaren. Den spelar ingen roll för val av terapi, och den ger sällan information om prognosen. Det finns över 2 000 olika sero- och fagtyper av salmonellabakterien, men från klinisk synpunkt är alla utom ett fåtal likvärdiga.

Det finns en flora av enterovirustyper, men vilket nummer t ex ett ECHO-virus har saknar nästan alltid klinisk relevans.

Däremot kan sådan subtypning vara synnerligen intressant ur epidemiologisk synvinkel. Det svenska paradexemplet är salmonella, där sero- och fagtypning gör det möjligt att mot ett »bakgrundsbrus« av flera tusen salmonellafall årligen upptäcka utbrott omfattande bara några få fall av en viss stam. Det finns flera andra exempel: klarläggande av smittkedjor för gonorré, sammankoppling av spridda hepatit A-fall, studier av invandringens roll för tuberkulosspridningen, övervakning av att ryska HIV-stammar inte kommer in bland

svenska narkomaner, spridning av meticillinresistenta *Staphylococcus aureus* (MRSA) mellan sjukhus, etc.

Det finns en tendens bland forskare att betrakta de nya molekylära typningsmetoderna som något fullständigt revolutionerande. De utgör utan tvivel kraftfulla nya hjälpmedel, men de är snarast ytterligare ett steg i en utveckling som startade i slutet av 1800-talet med att man kunde skilja upp de olika bakteriearterna, och som fortsatte med fenotypning genom olika jäsningsmönster, över Lancefields serologiska typning av streptokockerna, till fagtypning, bestämning av resistensmönster, påvisning av specifika antigener osv. I varje steg har diskriminationen ökat, men det är en relativt kontinuerlig process över hela 1900-talet.

Alla olika metoder för subtypning spelar en viktig roll i den epidemiologiska utredningen och i smittskyddsarbetet. Men det finns tre problem:

- Vem skall betala?
- Hur jämför man resultat från olika laboratorier?
- Hur är det med sensitivitet och specificitet, särskilt vad gäller de nya molekylära typningsmetoderna?

Vem skall betala?

Som framhållits ovan är den epidemiologiska subtypningen, oberoende av metod, oftast ointressant när det gäller behandlingen av den enskilde patienten. Även om så inte vore fallet kommer – med dagens system för hantering och analys av prov – svaret oftast så sent att utbrottet sedan länge är över och patienterna färdigbehandlade. Det finns undantag där en subtypning kan spela klinisk roll, t ex vid val av terapi för hepatit C, men i stort sett finns sällan någon anledning för en klinik eller en vårdcentral att bekosta en analys som främst är av epidemiologiskt intresse. Med den strävan som finns att lägga ut kostnaderna för laboratorieprov alltmör perifert i vårdorganisationen skall man inte förvänta sig att särskilt många prov blir skickade för subtypning.

Landstingen har dock ett ansvar inte bara för vård utan också för det förebyggande arbetet. Med hjälp av den epidemiologiska information som kommer ur subtypning kan utbrott stoppas och smittvägar täppas till för framtiden. Det rimliga vore att smittskyddsläkarna förses med en budget som medger subtypning när den epidemiologiska frågeställningen så kräver.

Flera laboratorier i landet utför redan subtypning för olika patogener, ibland utan att ta betalt. Örebro intresserar sig för *Neisseria*, Umeå för streptokocker, Malmö för hepatit C. Vid Smittskyddsinstitutet görs subtypning inte bara av salmonella, som är den volymmässigt största verksamheten, utan även av t ex mässlingvirus, HIV och *Entamoeba*. Mycket av denna verksamhet är dock fortfarande av forskningskaraktär, och generellt saknas bl a rutiner för att snabbt kunna återföra resultaten till kliniker, smittskyddsläkare och andra smittskyddsansvariga. Här borde Socialstyrelsen ställa tydligare krav på hur en subtypningsverksamhet skall organiseras för att bäst gagna smittskyddsarbetet.

Hur jämför man resultat från olika laboratorier?

Utvecklingen är snabb på området genetisk typning, och nya metoder introduceras fortlöpande. Olika laboratorier använder olika metoder, som ofta inte är jämförbara. Kloner med identiska elektroforetiska mönster (t ex med pulsfältsmetodik) ges ett namn på ett laboratorium, ett annat på ett annat centrum. Eftersom pulsfältsmönstren inte rutinemässigt jämförs laboratorier emellan kan det dröja länge innan man upptäcker att samma klon kan ha olika namn, och att man alltså missat en epidemiologisk koppling. Situationen liknar den som skulle uppstå om det virus man i Stockholm kallade

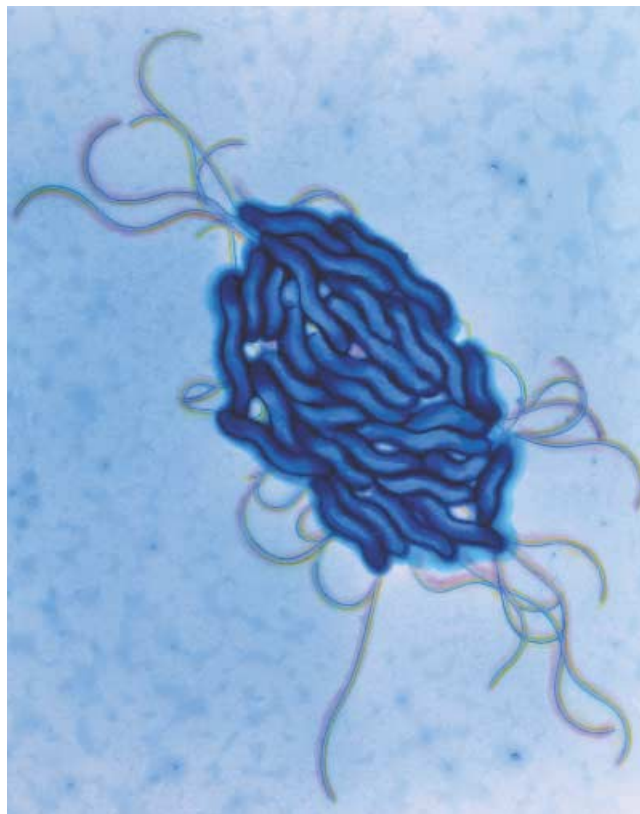


FOTO: IBL/SCIENCE PHOTO LIBRARY

Att det inte finns en samlad och aktuell bild av resultaten av genetisk subtypning av olika smittämnen i Sverige är ett slöseri med resurser: man lägger ner mycket arbete på att samla in information som sedan inte används fullt ut. Att skapa ett system som möjliggör snabb, direkt jämförelse av resultat från olika laboratorier borde ges hög prioritet av Socialstyrelsen i samarbete med Svensk förening för klinisk mikrobiologi och Smittskyddsinstitutet.

Avbildad: *Campylobacter jejuni*

»mässling« hette »coxsackie« i Umeå, och det som i Umeå hette »hepatit A« i Göteborg kallades »herpes simplex«.

Om genetisk typning skall kunna användas till sin fulla potential krävs dels en harmonisering av metoder mellan laboratorier, dels system för att direkt kunna jämföra elektroforetiska bandmönster och nukleotidsekvenser i analyser som utförts på olika platser. I USA finns sedan några år tillbaka systemet PulseNet [www.cdc.gov/pulsenet/] för jämförelse av resultat av subtypning av EHEC-bakterier. Pulsfältsmönster från laboratorier över hela landet skickas elektroniskt till en databas vid Centers for Disease Control and Prevention (CDC) i Atlanta, där man snabbt kan avgöra om en klon verkar finnas på mer än ett ställe. Liknande »bibliotek« över subtyper finns i Europa för bl a MRSA och Mycobacterium tuberculosis, men de förefaller inte vara byggda för en snabb användning av resultaten i det dagliga smittskyddsarbetet.

Att det inte finns en samlad och aktuell bild av resultaten av genetisk subtypning av olika smittämnen i Sverige är ett slöseri med resurser: man lägger ner mycket arbete på att samla in information som sedan inte används fullt ut. Att skapa ett system som möjliggör snabb, direkt jämförelse av resultat från olika laboratorier borde ges hög prioritet av Socialstyrelsen i samarbete med Svensk förening för klinisk mikrobiologi och Smittskyddsinstitutet.

Om det är svårt att jämföra resultat från humanprov blir det ännu krångligare när det gäller patogener som också subtypas på veterinärmedicinska laboratorier eller på laboratorier för livsmedelskontroll: salmonella och Campylobacter i djur- och livsmedelsprov utgör bra exempel. Genom att man använder olika metoder och genom att kommunikationen ofta är bristfällig försvåras upptäckten av epidemiologiska samband på ett sätt som utgör ett mycket dåligt utnyttjande av redan befintliga resurser. Här räcker det knappast med initiativ från den medicinska sidan för att få fram en harmonisering. Problemet måste uppmärksammas på departementsnivå och lösas i samarbete mellan Social- och Jordbruksdepartementen.

Sensitivitet och specificitet?

Genetiska typningsmetoder gör det möjligt att fastställa att patienter måste ha smittats av olika stammar eller kloner (jag tänker inte här försöka definiera dessa två begrepp). Vad som fortfarande inte är helt entydigt när det gäller flera patogener är hur lika två bandmönster eller nukleotidsekvenser måste vara för att definieras som »samma«.

Ett problem avseende sensitivitet är att de metoder som använder sig av restriktionsenzymer och/eller gelelektrofores tittar på ganska stora bitar av DNA. Det är alltså inte säkert att alla mutationer kommer att synas som skillnader i bandmönstren, även om det skulle röra sig om två olika stammar.

Det finns ett problem även med specificitet: spontana mutationer kan medföra att två patienter verkar vara infekterade med två olika stammar, även om de initialt smittats med samma stam. I studier av HIV-infektion har man visat att smittkällans och den smittades stammar divergerar genetiskt mycket snabbt efter smittillfället [3]. I analysen av EHEC-utbrott i Sverige har man med pulsältselektrofores hittat skiljaktiga bandmönster hos personer som rimligen måste ha smittats av samma källa. Vi behöver mycket mer kunskap om hur fort olika mutationer uppträder hos de patogener vi subtyper, både när de är utanför kroppen och när de utsätts för ett immunförsvar – som säkert varierar mellan patienter. Forskningsmässigt krävs ett nära samarbete mellan epidemiologin och mikrobiologin, där man väger in den osäkerhet i tolkning av data som finns hos båda dessa verksamhetsgrenar, för att klarare kunna avgöra var de nya metodernas styrkor och svagheter ligger.

*

Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

Referenser

1. Ghebremichael S, Koivula T, Hoffner S, Romanus V, Petrini B, Norén B, et al. Resistent tuberkulos sprids i Sverige. Molekylärepidemiologiska »fingeravtryck« av de infekterande organismerna kan underlätta smittspårning. Läkartidningen 2002;99:2618-23.
2. Wahlberg T, Svensson N, Gärdén B, Jonsson A, Magnus L, Norder H. Hepatit B – sexuellt överförd sjukdom bland unga. Utbrott i Skaraborg kunde lett till en epidemi. Läkartidningen 2002;99:2945-7.
3. Leitner T, Albert J. The molecular clock of HIV-1 unveiled through analysis of a known transmission history. Proc Natl Acad Sci U S A 1999;96:10752-7.