

Nationellt referenslaboratorium för hantavirus

Klinisk mikrobiologi, Norrlands universitetssjukhus, är tillsammans med Folkhälsomyndigheten, Solna, nationellt referenslaboratorium för hantavirus. Norrlands universitetssjukhus diagnostiserar vårt inhemska hantavirus, Puumalavirus och Folkhälsomyndigheten erbjuder diagnostik för hantavirus som förekommer i andra delar av världen. Folkhälsomyndigheten utför även diagnostik för Puumalavirus vid förfrågan.

Puumalavirusdiagnostik

Författare: Lisa Pettersson, ledare av NRL för hantavirus, specialistläkare klinisk virologi och mikrobiologi, Klinisk mikrobiologi, Laboratoriemedicin, Norrlands universitetssjukhus, Umeå. lisa.pettersson@regionvasterbotten.se.

Bakgrund

Sorkfeber orsakas av Puumalavirus (PUUV)(familjen Bunyaviridae, genus hantavirus). I Sverige orsakar PUUV årligen hundratals diagnostiserade fall av sorkfeber, tidigare kallad Nephropathia epidemica (NE). Puumalavirus sprids till människan via inhalation av utsöndrade partiklar (faeces/urin/saliv) som kommer från asymtomatiskt infekterade skogssorkar. Inkubationstiden är från en vecka upp till sex veckor. Den kliniska bilden vid sorkfeber hos människa karakteriseras av influensaliknande insjuknande, hög feber, allmän sjukdomskänsla, magont samt initialt minskade och senare ökade urinmängder på grund av njurpåverkan; ibland kan blödningar uppträda och i sällsynta fall disseminerad intravasal koagulation (DIC). I labstatus noteras ofta förhöjt CRP (ibland mer än 200), hematuri, proteinuri, trombocytopeni, leverenzymstegring och efter några dagars sjukdom tilltagande kreatininstegring. Sjukdomen varar ett par veckor och läker vanligtvis utan bestående skador (dödligheten är ca 0.2%). Dialysbehandling kan dock krävas. Vaccin eller antiviralbehandling finns inte för närvarande. Flera andra hantavirus orsakar liknande sjukdomar t.ex i Centraleuropa, Ryssland och i Kina och dessa sjukdomar kallas, gemensamt med NE, för hemorragisk feber med renalt syndrom (HFRS).

PCR - PUUV-RNA är detekterbart i serum hos nästan alla (hos ungefär 98%) sorkfeberpatienter där prov är taget inom 8 dagar efter symtomdebut med hjälp av PUUV -PCR, medan ungefär hälften av patienterna som provtas dag 9 eller senare efter symtomdebut testas positivt för PUUV-RNA(1). PUUV har hög genomisk diversitet, även över små geografiska avstånd (skogssorkarna rör sig över mindre ytor). De primers och prober som används i Sverige bör därför vara framtagna baserade på sekvenser från Puumalavirus från hela Sverige(1).

Serologi - De flesta patienter är positiva för PUUV specifikt IgM och IgG redan då de söker sjukvården för symtom (2). De första dagarna efter insjuknande kan dock serologi vara negativ hos en minoritet av patienterna (2). En vecka efter symtomdebut har i princip alla utvecklat antikroppar men det kan finnas undantag, till exempel immunosupprimerade patienter och patienter med antikroppsbrist.

Rekommendationer för diagnostik

Tidigt i sjukdomsförloppet (ungefär första veckan efter insjuknande) rekommenderas PCR-analys och/eller serologi. Om serologi är negativ och PCR ej är utförd rekommenderas uppföljande prov vid fortsatt klinisk misstanke.

Senare i sjukdomsförloppet rekommenderas serologi eller PCR med kompletterande serologi om PCR är negativ.

Snabbtest IgM – det finns ett snabbtest för Puumalavirus (IgM ReaScan+Puumala IgM). Vi rekommenderar att verifiera både positivt och negativt IgM med annan metod (PCR alternativt närvaro av IgG eller serokonversion av IgG i uppföljande prov).

Aviditetstest av Puumala IgG. Referenslaboratoriet i Umeå har ett aviditetstest som kan vara av värde i vissa fall, prover tagna sent i förloppet där PCR-analys är negativt och det finns ett IgG men inget IgM. Ett fåtal patienter utvecklar inte påvisbart IgM och hos vissa försvinner IgM ganska snabbt, därför kan aviditetstest av IgG vara av värde för att skilja på aktuell eller tidigare infektion.

Diagnostik vid referenslaboratoriet för hantavirus, avdelningen för klinisk mikrobiologi, Laboratoriemedicin, Norrlands Universitetssjukhus, Umeå

Remittenten behöver inte själv välja om denna vill ha serologi eller PCR, alla prover följer ett förutbestämt flöde. Vid beställning av Puumaladiagnostik sker analysen i 2 steg (gäller endast om provmaterialet är serum):

Steg 1) Screening sker med **Puumala PCR** (utförs dagligen vardagar). Vid positivt svar på PCR går slutsvar ut direkt.

Steg 2) Vid negativt svar på PCR skickas preliminärsvaret ut, därefter utförs **serologi** med analys för PUUV specifikt IgG och IgM.

Om provmaterialet är plasma utförs endast PCR då den serologiska metoden inte är utvärderad för plasma.

PCR: Primer och prober beskrivna i referens av Lagerqvist et.al. (1).

Serologisk metod: Kommersiellt tillgänglig ELISA-metod, Reagentia Puumala IgG och IgM EIA.

Snabbtest för PUUV IgM; ReaScan+ Puumala IgM. Skriv att ni önskar snabbtest eller ring till oss för att beställa detta. Glöm inte att skriva ert telefonnummer på remissen om ni önskar telefonsvar. Vi verifierar sedan resultatet av snabbtestet med ordinarie analyser (se ovan).

Aviditetstest: För aviditetstest av Puumala IgG antikroppar används en inhouse IFA (baserad på Puumalavirusinfekterade celler fixerade på objektglas).

OBS! För att en så korrekt tolkning av provsvaret som möjligt ska kunna ges måste insjukningsdatum anges på remissen!

Diagnostik vid referenslaboratoriet för hantavirus, Folkhälsomyndigheten

Puumalavirus-diagnostik utförs även vid referenslaboratoriet, Folkhälsomyndigheten och de har även diagnostik för övriga hantavirus (förutom Puumala), var god se Folkhälsomyndighetens hemsida för information om deras diagnostik av dessa virus: <https://www.folkhalsomyndigheten.se/>.

Utveckling och samverkan

Norrlands universitetssjukhus har moderniserat rutindiagnostiken för Puumalavirus, vilket innebär att PCR utförs i första hand på de stora flertalet prover i syfte att öka sensitiviteten och specificiteten. Serologianalyser som tidigare utfördes med IF-metoden för detektion av PUUV specifikt IgG och IgM utförs nu med ELISA (Reagena EIA-test) där avläsningen sker med spektrofotometer. Tillsammans med forskare vid Umeå universitet och Totalförsvarets forskningsinstitut, FOI, har laboratoriet utvecklat en NGS-metod för detektion och helgenomsekvensering av hantavirus. Metoden ger möjlighet att detektera och sekvensera hela genom från alla kända hantavirus som kan ge sjukdom hos människa. Metoden är designad för att även kunna detektera och sekvensera hittills okända hantavirus och metoden kan även användas vid utbrottsutredning och vid misstanke om icke-endemiska hantavirus från övriga världen. Sekvenseringsmetoden är under utveckling och kan ännu inte beställas som rutinprov.

Referenser

1. Lagerqvist N, Hagström Å, Lundahl M, Nilsson E, Juremalm M, Larsson I, et al. Molecular Diagnosis of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome Caused by Puumala Virus. *J Clin Microbiol.* 2016;54(5):1335-9.
2. Pettersson L, Thunberg T, Rocklöv J, Klingström J, Evander M, Ahlm C. Viral load and humoral immune response in association with disease severity in Puumala hantavirus-infected patients--implications for treatment. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(3):235-41.



Foto: Arne Pettersson