

Multiplexanalys av luftvägspatogener

FoU-anslag beviljad hösten 2008.

Bakgrund: Under vintern 2008-2009 kommer en influensastudie att genomföras på Kärnjukhuset i Skövde med tidigare erhållna FoU-medel. Under denna period ska 200 patientprover samlas in. De nasofarynxprover som utfaller negativt med PCR för Influensa A/B eller RSV, ska i denna studie användas för vidare diagnos av luftvägsbakterier och övriga luftvägsvirus, både med realtids-PCR och PCR-baserade multiplexanalyser.

Mål: Att starta upp ytterligare tre separata PCR-metoder för de luftvägsbakterier som vi inte kan erbjuda analyser av idag, samt utvärdera nya multiplexanalyser, både traditionell PCR följt av gelanalys (Seeplex) samt analys baserad på Luminexteknologi för både detektion av virus och bakterier från nedre luftvägarna. Vi vill i framtiden även kunna erbjuda multiplexanalyser för luftvägspatogener som ett komplement till singelanalyserna.

Metoder: Inom ramen för influensastudien kommer 200 nasofarynxprover att samlas in och avkodas (nasofarynxpinne i 1 ml natriumklorid fryses vid -80 grader). Analys på dessa kommer att utföras med avseende på virusförekomst. I denna studie antas ca 150 prover vara negativa för Influensa A/B och RSV. Dessa 150 prover kommer att användas för vidare analys och påvisning av bakterier. Under våren 2009 ska materialet analyseras med avseende på 6 organismer, varav tre är befintliga PCR-analyser (*M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *B. pertussis*) och tre är nystartade (*Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae* och *Haemophilus influenzae*). Multiplexanalys av samma 6 patogener kommer också att utföras under våren.

Alla prover i studien kommer också att användas för analys av övriga luftvägspatogener, både virus och bakterier, med Luminex baserad teknik under hösten 2009. Med denna kompletterande studie kommer förekomsten av minst 12 olika luftvägsvirus och 6 arter av luftvägsbakterier att ha

detekterats med tre olika metoder i patientmaterialet från influensastudien. Detta kommer att sammanställas och, om möjligt, publiceras som en vetenskaplig studie.

Referenser kommersiella multiplexa luftvägskit:

www.seegene.com (Penumobacter ACE, RV12 ACE, Seeplex, Screentape gelanalys)

www.qiagen.com (ResPlex I Panel, ResPlex II Panel på Luminex)

www.luminexcorp.com (xTAG Respiratory Viral Panel på Luminex, samarbete Abbott)

Referenser:

Morozumi M et al, Simultaneous detection of pathogens in clinical samples from patients with community-acquired pneumoniae by real-time PCR with pathogen specific molecular beacon probes. J Clin Mico 2006; 44(4): 1440-1446.

Templeton KE et al. Development and clinical evaluation of an internally controlled, single-tube multiplex real-time PCR assay for detection of Legionella pneumophila and other Legionella species. J Clin Microbiol 2003; 41(9): 4016-4021.