



AF BIOANALYTIKER  
JANNE FØNSS MØLLER  
KLINISK MIKROBIOLOGISK AFDELING  
NÆSTVED SYGEHUS

# Ny chlamydia trachomatis-klon vækker bekymring

**I 8 ud af de 15 gamle danske amter anvendes kommercielle kits, der ikke kan påvise den muterede Chlamydia trachomatis. Mange patienter kan derfor have fået et falsk negativt svar**

Sundhedsstyrelsen oplyste den 3. april 2007 regionerne om, at der i Danmark nu er konstateret forekomst af en særlig stamme af bakterien Chlamydia trachomatis, den svenske klon. Stammen kan ikke diagnosticeres med visse af de tilgængelige diagnostiske kits, laboratorierne anvender i Danmark, og det vækker stor bekymring i Sundhedsstyrelsen.

Traditionelt undersøger man for Chlamydia trachomatis i danske rutinelaboratorier ved hjælp af forskellige DNA-amplifikationsteknikker. Oftest detekteres et kryptisk plasmid, der er meget konstant på Chlamydia trachomatis.

Den nye Chlamydia trachomatis-klon har en deletion på 377bp i det målområde, der anvendes af flere firmaer i deres diagnostiske kits. Deletionen sidder i områder mellem primersekvenserne, og det medfører, at nogle af de eksisterende diagnostiske kits ikke er i stand til at detektere bakterien.

I Danmark ved Sundhedsstyrelsen endnu ikke, hvor udbredt den nye klon er, men i nogle egne af Sverige er op til 66 % af alle klamydiatilfælde forårsaget af denne mutant (1).

I denne artikel vil jeg vurdere problemets omfang med udgangspunkt i situationen i Sverige. Ud fra eksisterende publikationer og artikler undersøger jeg, hvordan laboratorier rundt omkring i

Europa og internationale firmaer, der udvikler diagnostiske systemer, har grebet sagen an.

## Forløbet i Sverige

Den 13. oktober 2006 meddeler Smittskyddsinstitutet i Sverige, at der siden november 2005 i Halland er set en bemærkelsesværdig formindskelse i antallet af klamydiainfektioner – cirka 25 %. Den første tanke var spredning af en plasmidfri klon. Man anvendte en PCR-test mod MOMP-genet hos Chlamydia trachomatis og fandt i maj-juni 2006 3 patienter, der var positive i MOMP-test og negative i plasmid-test. Yderligere undersøgelse med primere rettet mod et andet sted på plasmidet fandt, at man fik amplificering af plasmidprodukt. Det var dermed fastslået, at der ikke var tale om en plasmidfri klon, men om noget andet (6).

Den 19. oktober, hvor mutationen endnu ikke er kendt, diskuterer Smittskyddsinstitutet i deres nyhedsbrev, hvordan man skal håndtere den nye situation i klamydiadiagnostik. For første gang nævnes forskellige firmaer og deres kommercielle diagnostiske kits. PCR-baserede systemer fra firmaerne Abbott og Roche ser ud til at have en faldende positiv procent. Samtidig ser det ud til, at ProbeTec fra Becton Dickinson ikke påvirkes af mutationen (se figur 1).

Smittskyddsinstitutet anbefaler laboratorierne at informere deres kunder om, at de kan have fået et falsk negativt resultat, hvis de har anvendt systemer fra Abbott eller Roche. Lægerne opfordres desuden til at vurdere negative resultater og eventuelt sende en ny prøve til et laboratorium, der anvender alternative testmetoder (7).

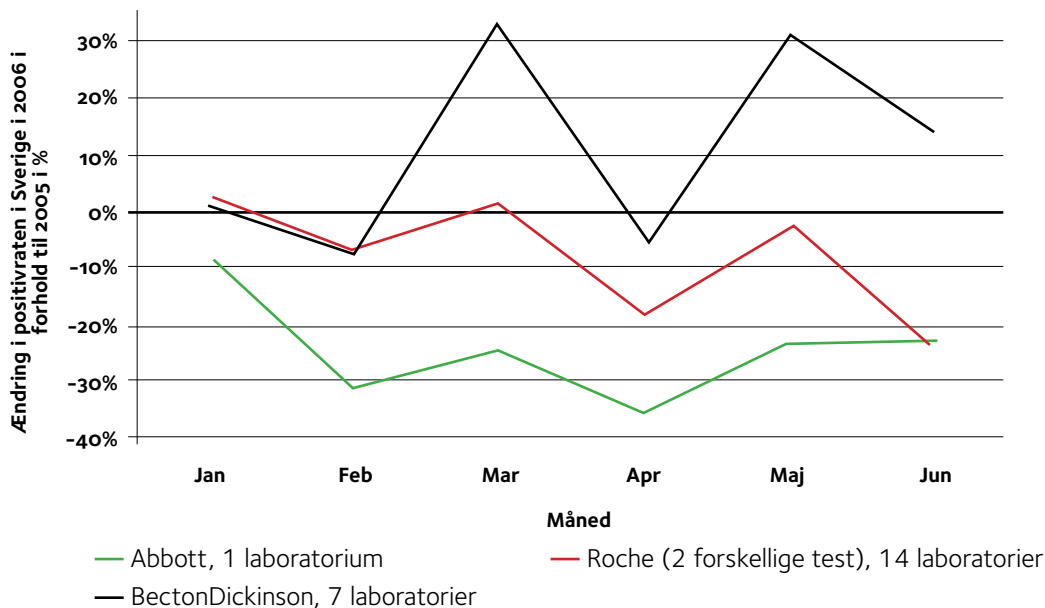
## Europæisk bevågenhed

Den 7. december 2006 offentliggøres en artikel i Eurosurveillance, europæisk overvågning og kontrol af smitsomme sygdomme. Artiklen beskriver situationen i Sverige (se figur 2).

I artiklen diskuteres konsekvensen af en spredning af den muterede klon. Der reflekteres over, om en stamme der ikke opdages, spredes hurtigere og mere end andre stammer. I områder, hvor Roche/Abbott's test har været anvendt i adskillige år, kan den genetiske variant have højere prevalens end i områder, hvor alternative testsystemer har været anvendt. Den europæiske organisation anbefaler, at de diagnostiske metoder hurtigst muligt ændres til at kunne detektere alle forekommende Chlamydia trachomatis-stammer, og at laboratorierne anvender dobbelt sæt target-gener i den samme testreaktion (8).

## Svenske forhåndsregler

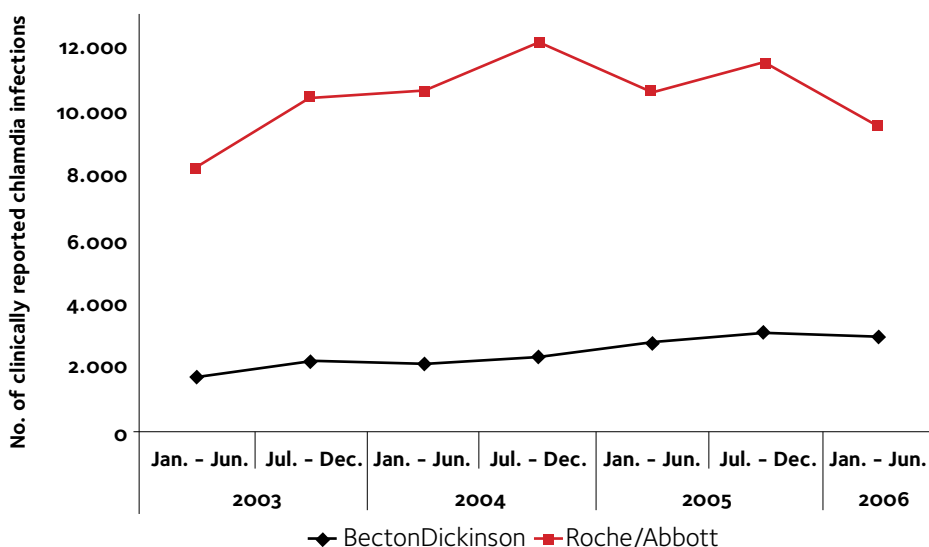
Den 15. februar 2007 meddeler Smitt-



Figur 1 viser en tendens til et fald i positive hos Roche og Abbott. Samtidig med uændret antal hos BectonDickinson.

Kilde : Smittskydds-institutet oktober 2006

Figur 2: Antallet af diagnosticerede klamydiatilfælde i perioden 2003-2006.



Figur 2 viser et fald i positive undersøgt med Roche/Abbott, mens der med BectonDickinson's test ikke ses et fald.

Kilde : Eurosurveillance 7 december 2006. Artikel om situationen i Sverige.

skyddsinstitutets nyhedsbrev, at alle svenske laboratorier nu har informeret kunderne om problemet med de falsk negative resultater.

Ni laboratorier sender negative prøver til konfirmation, hvis den behandlede læge ønsker det. Et laboratorium har skiftet til MOMP-test. Tre laboratorier planlægger at skifte til Becton-Dickinson's testsystem, et til MOMP-test, mens tre laboratorier har valgt at beholde Roche eller Abbotts test.

Fabrikanterne regner med, at de vil have løst det diagnostiske problem til sommeren 2007. Der nævnes ikke, hvordan de vil løse problemet (9).

### Er en enkelt klon

I april 2007 offentliggøres en udbrudsrapport i Eurosurveillance. Undersøgelser viser, at mellem 10 % og 66 % af fundne

Chlamydia trachomatis i Sverige tilhører den muterede stamme. Stammen karakteriseres genetisk til at være genotype E samt unik MLST sekvens type: 21, 19, 1, 2, 1. Undersøgelsen tyder på, at der er tale om én enkelt klon.

Klonen detekteres ikke med følgende diagnostiske systemer: Cobas Amplicor (Roche), Cobas TaqMan48 (Roche) og Abbott m2000 (Abbott). Af systemer, der anvender en plasmidsekvens uden for det deleterede område og dermed finder klonen, findes BD ProbeTec ET (BectonDickinson) og Apitma Combo2 (Gen-Probe) (10).

### Andre lande på vagt

Fra andre lande begynder der også at komme rapporter om mutationen. Ud over i Danmark er den svenske klon også set spredt til Norge og Finland, mens

andre europæiske lande kan melde hus forbi. En irsk undersøgelse publiceret den 1. februar 2007 viser, at de ikke har observeret tilfælde af den svenske klon (11).

Fra Holland udkommer den 8. februar 2007 en artikel om situationen på en klinik for risikopatienter i Amsterdam. Den muterede Chlamydia trachomatis blev ikke fundet hos 515 positivt testede patienter, og dermed anses den ikke for at være kommet til Holland endnu (12).

### Undersøgelse i gang i Danmark

I Danmark er der i foråret 2007 sat en undersøgelse i gang. Statens Serum Institut (SSI) i samarbejde med Hvidovre Mikrobiologiske afdeling står for undersøgelsen. Alle laboratorier, der diagnosticerer Chlamydia trachomatis, skal

indsende 50 urinprøver. Disse i alt 850 prøver skal testes for to målsteder på Chlamydia trachomatis på SSI samt på Hvidovre med Probetec. Resultaterne skal senere opgøres og rapporteres (13) (se faktabox her på siden).

### Danske laboratorier bør skifte system

I Danmark anvendes de kommercielle kits, der ikke kan påvise den muterede Chlamydia trachomatis i 8 ud af de tidligere 15 amter. Det medfører, at ca. 2,3 millioner indbyggere ikke kan regne med, at de er sygdomsfrie, selvom de har modtaget et negativt klamydiasvar. Det må derfor anbefales, at disse laboratorier overvejer, om systemet, de anvender, skal suppleres eller eventuelt udskiftes med et system, der er i stand til at påvise den omtalte mutation.

En stamme, der ikke opdages med diagnostiske kits, vil spredes hurtigere end normalt, hvis den ikke detekteres og behandles. Det forklarer måske, hvorfor Sverige har den højeste forekomst af den muterede Chlamydia trachomatis. Sverige anvender i stor udstrækning systemerne fra Roche og Abbott, som ikke er i stand til at detektere mutationen. Fordi Sverige har anvendt disse test, har det måske resulteret i en akkumulation af udetekterede og ubehandlede tilfælde, som har undgået opdagelse. Dermed vil smitteopsporing og partnerbehandling heller ikke blive fore-

taget, og det kan have store menneskelige og økonomiske konsekvenser, da infertilitet er en af følgedelserne ved en udiagnosticeret klamydiainfektion.

### Behov for nye diagnostiske systemer

Efter den nye Chlamydia trachomatis-situation er laboratorierne nødt til at tage de mange systemer, baseret på molekylærbiologiske metoder, op til overvejelse. Hvis man skal komme de udiagnosticerede Chlamydia trachomatis til livs, må diagnostiske systemer med højere sensitivitet og specificitet udvikles. Der må overvejes at udvikle systemer, der bestemmer mindst to forskellige genskvenser, for eksempel en plasmid sekvens og en kromosomal sekvens. Samtidig bør laboratorierne også overveje at indføre en inhibitionskontrol. En sådan kontrol er en nødvendighed for diagnostik af Chlamydia trachomatis og bør formentlig også overvejes ved diagnostik af andre mikroorganismer.

Alle brugere og ikke mindst producenter af diagnostiske kits bør således nøje gennemgå, hvad deres systemer egentlig undersøger for. Man finder kun det, man leder efter, og en falsk negativ er en positiv, man ikke har fundet.

### SIDSTE NYT OM KLONEN

Som beskrevet her i artiklen har Statens Serum Institut i samarbejde med Hvidovre Mikrobiologiske afdeling foretaget en undersøgelse af, hvor udbredt den svenske klon er i Danmark. Undersøgelsen startede i foråret 2007 og er nu afsluttet, men endnu ikke afrapporteret. Overlæge Jørgen Skov fra Statens Serum Institut oplyser til dbio-bladet, at de i undersøgelsen har fundet en enkelt mutant ud over den oprindelige, som forårsagede, at undersøgelsen blev sat i gang. Dermed vurderer Jørgen Skov, at der pt ikke er grund til voldsom bekymring i Danmark.

### CHLAMYDIA TRACHOMATIS

Chlamydia trachomatis er en ubevægelig, gram-negativ, obligat intracellulær bakterie (2). Chlamydia trachomatis forårsager urogenitale infektioner; non-gonorhoisk urethritis, epididymit og proctitis hos mænd og cervicitis og salpingitis hos kvinder. Mange infektioner er asymptomatiske, men kan smitte ved seksuel kontakt. Hos kvinder er den en hyppig årsag til infertilitet. Hos nyfødte er Chlamydia trachomatis den hyppigste årsag til conjunktivitis (3). I 2006 blev der i Danmark undersøgt næsten 318.000 prøver for klamydia, og diagnosen blev stillet ca. 25.000 gange.

At den er obligat intracellulær, betyder, at den ikke kan dyrkes på traditionelle dyrkningsmedier, men kun i cellekultur. Dette er en både langvarig og omkostnings tung metode, og derfor har man været nødsaget til at finde andre muligheder.

Direkte immunfluorescensfarvning på cellemateriale samt ELISA-metoder var i mange år brugt i rutinelaboratoriet. De seneste år er disse metoder blevet afløst af molekylærbiologiske metoder, som har langt højere sensitivitet og specificitet. I Danmark stilles diagnosen med forskellige molekylærbiologiske systemer. Statens Serum Institut anvender i visse tilfælde stadig dyrkning. Ved mistanke om seksuelt misbrug af børn eller voksne anvendes molekylærbiologiske metoder kombineret med dyrkning (4).

### LITTERATURLISTE

1: Sundhedsstyrelsen, Problem med diagnostik af infektion med klamydia i Danmark. 3. april 2007

j.nr.7-312-03-22/10/JAF

2: Patrick R. Murray et al. Manual of Clinical microbiology. 8th edition 2003. asm press Washington, D.C

3: Niels Ebbe Hansen Red. Medicinsk Kompendium, Bind 1. 16.udgave. 2004. Nyt nordisk forlag Arnold Busck

4: Red. Peter Henrik Andersen. EPI-NYT. Uge 19,2007. Statens Seruminstitut. Danmark

5: Vivi Kielberg Red, DNA og RNA- en håndbog. 2003. Gads forlag

6: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/publikationer/smis-nyhetsbrev/epi-aktuelt/epi-aktuelt-2006/epi-aktuelt-vol-5-nr-41-13-oktober-2006/#p9258>

7: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/publikationer/smis-nyhetsbrev/epi-aktuelt/epi-aktuelt-2006/epi-aktuelt-vol-5-nr-42/>

8: <http://www.eurosurveillance.org/ew/2006/061207.asp>

9: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/publikationer/smis-nyhetsbrev/epi-aktuelt/epi-aktuelt-2007/epi-aktuelt-vol-6-nr-7-15-februari-2007/#p10160>

10: <http://www.eurosurveillance.org/em/v12n04/1204-223.asp>

11: <http://www.eurosurveillance.org/ew/2007/070201.asp#2>

12: <http://www.eurosurveillance.org/ew/2007/070208.asp#3>

13: Følgrebrev fra Henrik Westh ( Hvidovre mikrobiologiske afd.) og Jørgen Skov Jensen (SSI) A quali control protocol for sampling for mutant CT in Denmark