

Framtida testning för sars-cov-2 – inte bara mer utan smartare

Sars-cov-2 sekvenserades tidigt [1]. »In house«-test med PCR (polymeraskedjereaktion) utvecklades snabbt [2], följt av kommersiella kit. För påvisning av sars-cov-2 krävs detektion av minst en virusspecifik målgen, och många metoder innehåller flera gener. I dag har kliniska laboratorier ofta olika testplattformar för akuta frågeställningar och för stor volym. Det finns också kommersiella och fristående laboratorier med en plattform.

Vad mäter PCR-test?

Virusutsöndringen vid covid-19 har undersökts med isolering av viabelt virus i cellkultur och är högst dagarna före insjuknandet samt under de första dagarna med symtom. Under denna period är även smittsamheten som högst. Vid lindriga fall kan virus vanligen inte isoleras längre än 8-9 dagar efter symptomdebut [3, 4], men något längre vid allvarigare fall [5].

PCR-test detekterar nukleinsyra och inte infektiöst virus. PCR-positivitet kan kvarstå flera månader utan smittsamhet. En stark signal i provet indikerar hög virusmängd och ökar möjligheten att isolera infektiöst virus. Allvarlig sjukdom är associerad till längre PCR-positivitet och isolering av virus [6].

Olika indikationer för PCR-test

Provtagning med PCR görs för att utreda sjukdomssymtom, för smittspårning



Emmi Andersson, med dr, specialistläkare, klinisk mikrobiologi, Karolinska universitetetslaboratoriet; institutionen för laboriemedicin, Karolinska institutet, Stockholm
● emmi.andersson@ki.se



Anders Sönnerrborg, professor, överläkare, medicinsk enhet för infektionssjukdomar, Karolinska universitetssjukhuset; institutionen för laboriemedicin, Karolinska institutet, Stockholm

samt för att identifiera smittade icke-symtomatiska personer i vård och omsorg. Bred provtagning av individer med lätta symtom i samhället kan ge viktig epidemiologisk information, men har aldrig förut gjorts i denna skala. Ett negativt PCR-test ger en ögonblicksbild, och för ett positivt test kan smittsamheten vara svår att värdera. Det är därför inte självklart att kraven på metoderna ska vara desamma för olika indikationer. För klinisk diagnos är känslighet och specificitet viktiga, men för smittsamsbedömningar blir specificiteten alltför låg med en metod som är positiv även efter den smittsamma fasen. Då självprovtagning primärt syftar till att identifiera smittsamma individer bör man kunna tolerera lägre känslighet.

Kvalitetskontroll viktigt

PCR-test är känsligt och tekniskt specifikt men beroende av att hela provtagningskedjan är kvalitetssäkrad. Provet måste tas på rätt sätt, och provtagningspinne och medium måste vara validerade. Meto-

»PCR-test är känsligt och tekniskt specifikt men beroende av att hela provtagningskedjan är kvalitetssäkrad.«

dena måste vara noggrant utprovade och övervakas med systematisk kvalitetskontroll och externa kvalitetspaneler. Även kommersiella metoder ska verifieras och övervakas.

I en systematisk genomgång har forskare kommit fram till en generell siffra för känslighet på 87,8 procent för att ställa diagnosen covid-19, men hur länge patien-

ten haft symtom, provtagningsmaterial och PCR-metod har stor betydelse [7]. Testets tekniska prestanda är endast en del av kedjan. Av mer avgörande betydelse är processen fram till analysen: från vilken lokal provet tas, provtagningsmekaniken och provtagningsmateriel.

Provtagning görs framför allt från övre luftvägarna där viruset replikeras initialt. I sjukvården tas ofta pinnprov från nasofarynx. Andra provtagningslokaler är nashåla, saliv, sputum och svalgvägg. Resultaten från jämförelser med alternativ till nasofarynxpinne varierar [8]. I en färsk litteratursammanställning från Folkhälsomyndigheten rekommenderas saliv som fullvärdigt alternativ till nasofarynxprovtagning, men nashåla och svalgvägg endast i kombination med varandra och/eller saliv för att uppnå tillräcklig känslighet [9].

Egenprovtagning

För att öka antalet test har egenprovtagning för sars-cov-2 införts. Resultaten är acceptabla, men det är sannolikt att inte alla egentagna prov håller samma kvalitet. Den aktuella rekommendationen från Folkhälsomyndigheten är att kombinera provtagning från saliv, svalg och näsa. De flesta PCR-metoder saknar kontrollmärkor för om humant material finns i provet och kan inte skilja mellan dåligt tagna prov och frånvaro av sars-cov-2.

Provtagning av sjukhusvårdade patienter

Patienter med typisk klinisk bild under den andra fasen av covid-19 är inte alltid positiva för sars-cov-2 i övre luftvägar då virusförökningen framför allt sker längre ned i luftvägarna. Bättre är då provtagning från nedre luftvägar, vilket inte alltid är möjligt. Sputum är inte heller självklart tillgängligt. Ett positivt fecesprov kan ge diagnos, men ett negativt prov utesluter inte covid-19 då endast en mindre andel av patienterna får positivt resultat i fecesprov [10].

Positivt PCR-resultat för sars-cov-2 i blod ses hos ca 1/3 av sjukhusvårdade patienter med covid-19 och har samband med högre risk för allvarlig sjukdom och död [11]. Att följa effekten av antiviral behandling med PCR är ett potentiellt användningsområde. PCR-signalens styrka - Ct-värde (cy-

HUVUDBUDSKAP

- PCR-test för sars-cov-2 är värdefulla för patientdiagnostik och ska tolkas i klinisk kontext.
- Positivt PCR-resultat för sars-cov-2 betyder inte alltid att patienten är smittsam.
- Kvalitetskontroll av PCR-test är nödvändig för att undvika falskt positiva och falskt negativa resultat.
- Antigentest för sars-cov-2 har stor potential som epidemiologiskt instrument.



Foto: Shutterstock/TT

Kvalitetssäkring av hela analyskedjan är nödvändig för att säkerställa testens tillförlitlighet.

keltröskelvärde) – ger viss information om virusmängd [12], men för robust kvantifiering krävs utveckling av nya metoder som i dag används för monitorering av andra infektioner, exempelvis med hiv.

Risker med falskt positiva resultat

Felaktigt positiva provsvar är ett stort globalt problem [13]. För laboratorier med stor erfarenhet av PCR-diagnostik är noggranna kvalitetskontroller en självklarhet. I den pågående pandemin, där PCR-diagnostiken drastiskt skalats upp och introducerats på nya laboratorier, är detta en utmaning. Alla laboratorier ska vara medvetna om att kontamination som ger falskt positiva resultat är en ständig risk. Detta har dock inte alltid varit fallet. Risker kan vara stänk eller pipettering som överför virus-RNA från ett positivt till ett negativt prov på laboratoriet eller problem med reagens eller testkit som blivit kontaminerade i tillverkningsprocessen. Det går inte att helt eliminera risken för enstaka falskt positiva provsvar, men med noggranna rutiner för hantering av prov, kontinuerlig kvalitetskontroll och kvalificerad bedömning av resultat kan systematiska fel undvikas och därmed felaktiga svar vid ett större antal patientprov förhindras.

Felaktiga positiva resultat leder till konsekvenser för både individen och samhället. För den enskilde innebär diagnosen obehag och osäkerhet och även ett integritetsintrång, då alla positiva resultat anmäls av laboratorier enligt smittskyddslagen. Förhållningsreglerna kan leda till negativ påverkan på det dagliga livet och

arbetet för den som inte kan arbeta hemifrån. Är diagnosen felaktig riskerar detta att underminera allmänhetens förtroende

»De kommande antigen testen kan ... komma att spela en viktig roll.«

för testning. På kliniska mikrobiologiska laboratorier finns väl utvecklade rutiner för kvalitetssäkring som även bör anammas av fristående laboratorier.

Förbättra strategi för epidemibekämpning

Ett flertal utvecklingsmöjligheter finns för teststrategin. Tiden från provtagning till positiv diagnos innebär att smittsamma individer kan hinna föra smittan vidare innan smittspårning sker. Den höga känsligheten hos PCR-metoderna innebär att många får diagnosen sars-cov-2-infektion utan att vara särskilt smittsamma eller efter att ha passerat smittsamhetsstadiet. Det uppskattas att från 10 upp till 20 procent av personer infekterade med sars-cov-2, det så kallade k-talet, är de som för smittan vidare [14], och det är sannolikt dessa individer som har de högsta virusnivåerna i övre luftvägarna.

En möjlighet att optimera användning-

en av test för sars-cov-2 är att fokusera smittspårningen på potentiellt smittsamma personer med hjälp av snabbtest för virusantigen (proteiner) som ersättning för PCR. Ett flertal sådana test är utvecklade eller under utveckling. De har lägre känslighet men därmed också en potential att endast identifiera mer smittsamma personer. Testen behöver inte utföras på avancerade laboratorier utan kan göras lokalt med omedelbart svar till den testade. Efter noggrann utvärdering under kvalitetssäkrade förhållanden kan de utgöra ett viktigt tillskott i arsenalen för att snabbt identifiera och bryta spridning av sars-cov-2 i samhället [15,16].

Aldrig tidigare skådad utmaning

Det är en aldrig tidigare skådad utmaning att snabbt skala upp PCR-diagnostiken för sars-cov-2 för att möta både världens och samhällets behov och samtidigt säkerställa kvaliteten. Helt nya kedjor för provtagning med IT-lösningar för svar direkt till individen har utvecklats. Hur effektiva analyskedjorna än blir gör den ofrånkomliga logistiken runt provtagning, transport och analys att svarstiderna knappast kan nå under 1-2 dygn. Den stora volymen av prov påverkar laboratoriernas övriga verksamhet, och risken för undanträngningseffekter på världens behov av mikrobiologisk diagnostik är påtaglig. Dessutom är PCR en relativt kostsam analys. De kommande antigen testen kan därför komma att spela en viktig roll. ○

● Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

Citera som: Läkartidningen. 2020;117:20180

REFERENSER

1. Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25(3):2000045.
2. Vogels CBF, Brito AF, Wylie AL, et al. Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 RT-qPCR primer-probe sets. *Nat Microbiol.* 2020;5(10):1299-305.
3. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020;581(7809):465-9.
4. Bullard J, Dust K, Funk D, et al. Predicting infectious SARS-CoV-2 from diagnostic samples. *Clin Infect Dis.* Epub 22 maj 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa638.
5. Kampen J, van de Vijver D, Fraaij P, et al. Shedding of infectious virus in hospitalized patients with coronavirus disease-2019 (COVID-19): duration and key determinants. *Medrxiv.* Epub 8 jun 2020. doi: 10.1101/2020.06.08.20125310.
6. Meyerowitz EA, Richterman A, Gandhi RT, et al. Transmission of SARS-CoV-2: a review of viral, host, and environmental factors. *Ann Intern Med.* Epub 17 sep 2020. doi: 10.7326/M-20-5008.
7. Jarrom D, Elston L, Washington J, et al. Effectiveness of tests to detect the presence of SARS-CoV-2 virus, and antibodies to SARS-CoV-2, to inform COVID-19 diagnosis: a rapid systematic review. *BMJ Evid Based Med.* Epub 1 okt 2020. doi: 10.1136/bmjebm-2020-111511.
8. Zhurakivska K, Troiano G, Pannone G, et al. An overview of the temporal shedding of SARS-CoV-2 RNA in clinical specimens. *Front Public Health.* 2020;8:487.
9. Provtagning vid PCR-påvisning av SARS-CoV-2 i de övre luftvägarna. En litteratursammanställning. Solna/Östersund: Folkhälsomyndigheten; 2020. Artikelnr 20167.
10. Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA.* 2020;323(18):1843-4.
11. Hagman K, Hedenstierna M, Gille-Johnson P, et al. SARS-CoV-2 RNA in serum as predictor of severe outcome in COVID-19: a retrospective cohort study. *Clin Infect Dis.* Epub 28 aug 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa1285.
12. Nörz D, Frontzek A, Eigner U, et al. Pushing beyond specifications: evaluation of linearity and clinical performance of the cobas 6800/8800 SARS-CoV-2 RT-PCR assay for reliable quantification in blood and other materials outside recommendations. *J Clin Virol.* 2020;132:104650.
13. Surkova E, Nikolayevskyy V, Drobniewski F. False-positive COVID-19 results: hidden problems and costs. *Lancet Respir Med.* Epub 29 sep 2020. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30453-7.
14. Adam DC, Wu P, Wong JY, et al. Clustering and super-spreading potential of SARS-CoV-2 infections in Hong Kong. *Nat Med.* Epub 17 sep 2020. doi: 10.1038/s41591-020-1092-0.
15. Guglielmi G. Fast coronavirus tests: what they can and can't do. *Nature.* 2020;585(7826):496-8.
16. Mina MJ, Parker R, Larremore DB. Rethinking covid-19 test sensitivity - a strategy for containment. *N Engl J Med.* Epub 30 sep 2020. doi: 10.1056/NEJMp2025631.

SUMMARY

Future testing for SARS-CoV-2: not only more but smarter

Sars-cov-2 PCR is a cornerstone of COVID-19 clinical diagnostics and epidemiological surveillance. Viral shedding in COVID-19, as measured by isolation of infectious virus, is most prominent around symptom onset. Sars-cov-2 PCR, however, may stay positive for months and thereby does not reflect infectiousness. PCR tests are both specific and sensitive but the performance in clinical diagnostics depends on sampling technique, sample material and disease stage. Self-sampling in individuals with mild symptoms aims rather to assess infectiousness and a lower sensitivity of the test can be accepted. False positive tests are a global problem and may have serious consequences for both the tested individuals and society. Awareness of contamination risks and continuous quality assurance is vital in all laboratories to ensure test reliability. Rapid, less sensitive sars-cov-2 antigen tests are potential new tools in infection control.