

Patientens resrutt sträcker sig över flera kontinenter

Spåra hepatit C

En patient får diagnosen hepatit C. Hur har hen blivit smittad? Undersök om virusets arvs massa ger några ledtrådar.

En månad efter jorden-runt-resan är diagnosen klar: hepatit C. Patientens vänner hade påpekat att solbrännan var lite gulaktig. Urinet hade blivit lite mörkare än vanligt men det berodde kanske på att hen druckit för lite vatten? Till sist sökte patienten vård och hepatit C-infektionen är ett faktum. Men varifrån kommer smittan?

Patienten har varit ute och rest (se bilden ovan) och läkaren ställer många frågor. Efter en lång resa är det svårt att svara säkert på allt. Patienten mindes en influensa-vecka med feber i London. Magsjukan andra veckan i Indien slutade på ett sjukhus eftersom hen tappade så mycket vätska att det behövdes dropp ett par dagar. Patienten berättar att de testade akupunktur med nålar sista veckan i Kina och undrar om smittan kan spridas med säkerhetsnålar? När hen råkade trampa på en sjöborre under en snorklingskurs i Australien hjälpte en av deltagarna både patienten och två andra snorklare med att pilla ut taggar ur fotsulorna. Läkaren säger att det är svårt att veta men att de har en smittväg kvar att prata om: sexuella kontakter. Patienten berättar att hen haft sex en gång med en från Tyskland (de träffades i Brasilien) och med en ny förälskelse för någon vecka sedan.

De försöker reda ut var och när smittan skett. Tänkbara smittspridare och personer som kan ha blivit smittade av patienten själv måste kontaktas.

Prover från patientens virus har skickats in för sekvensering. På nästa sida visas resultatet, en nukleotid-sekvens för en del av hepatit C-virusets arvs massa.

Din uppgift är att ta reda på om viruset liknar något tidigare funnet virus i en stor databas. Förhoppningen är att det ska hjälpa till i smittspårningen.

Fakta om hepatit C

Inkubationstiden är normalt 1-3 månader från smittotillfället.

Vanliga symptom är illamående, feber eller huvudvärk.

En av de främsta spridningsvägarna för hepatit C är orena stickverktyg. I Sverige sprids hepatit C främst via delning av verktyg vid droginjektion.

De flesta som får hepatit C idag kan botas med läkemedel om infektionen upptäcks tidigt.

Hepatit C är en allvarlig sjukdom som ska smittspåras.

Uppgift 1 - Troligaste smittvägen?

I den inledande texten får du en hel del information utifrån läkarens frågor och patientens svar. Sammanställ informationen från förra sidan på tidsaxeln nedan för att ringa in misstänkta situationer och/eller personer som tänkbara smittotillfällen. Går något alternativ på smittotillfälle att utesluta? Varför?

Formulera ett par tänkbara hypoteser för när patienten blivit smittad.

Vecka

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

 Nu

Var i världen?

Sjukdomssymptom?

Händelse med risk för smitta?

>Patientens virussekvens

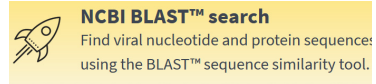
```
TCTATGTCGTA CTCTCGGTTCCGGCGCCTTGATAACACCATGTAGTGCTGAGGAGGAGAACTGCCCATTA
GCCCACTCAGCAACTCTTTGCTGAGACATCATAACCTAGTCTATTCAACGTCGCTAGAAAGCGCTTCTCA
GCGTCAGAAGAAGGTTACTTYYGACAGGCTGCAGGTGCTCGACGACCATTACAAGACTGCATTAAAGGAG
GTAAAGGAGCGAGCGTCCAGGGTAAAGGCTCGCATGCTCACCATCGAGGAAGCGTGC GCGCTCGTCCCTC
CTCACTCTGCCGTTTCGAAGTTCGGGTATAGTGCGAAGGACGTTGCTCCTTGTCAGCARGGCCATTAA
CCAGATCCGCTCCGCTCGGGAGGACTTGCTGGAAGACACCACAACCTCAATTCCAACCACCATCATGGCG
AAAAACGAGGTGTTTTGCGTGACCCCGCAARGGGGGCCGAAGCCGCTCGCCTCATAGTATACCCTG
ACCTGGGAGTGCGTGTCTGTGAGAAACGCGCTCTATATGATGTGATACAGAAGTTGTCAATTGAGACGAT
GGGTTCCGCTTATGGATTCCAATATTTCGCTCAGCAGCGGGTGAACGCTGTTGAAGATGTGGACCTCA
AAGAAAACCCCTTGGGGTTCTCATATGACACCCGCTGCTTTGACTCAACTGTCACTGAACAGGACATCA
GGGTAGAAGAGGAGATATACCAATGCTGTAACCTGAACCGGAGGCCAAAAAAGTGATCTCCTCCCTCAC
GGARCGGCTTTACTGCGGGGGCCCCATGTTAACAGCAAAGGAGCCAGTGTGGTTATCGCCGTTGTGCT
GCCAGTGGAGTTTTGCTACCAGCTTCGGCAACACGATCACTTGTACATCAAGGCCACAGCGGCTGCGA
GGGCCGAGCCCTCCGGGACCCGACTTTCTCGTCTGCGGAGATGATCTAGTGTGGTGGCTGAGAGTGA
CGGCGTCGCGYAGGATAAAGCAGCCCTGGGAGCCTTACGGAGGCTATGACCAGGTATTCTGCTCCACCC
GGAGATGCTCCACAGCCTACCTACGACCTTGAGCTCATTACATCCTGCTCCTAACGTCTCCGTGGCAC
AGGACAACAAGGGGAAGAGGTAATTACCTACCCGTGATGCCACTACTCCCCTTGCCCGCGCGGCTTG
GGAGACAGCTCGTCACTCCAGTTAACTCCTGGTTGGGTAACATCATCATGTACGCGCCTACCATCTGG
GTGCGCATGGTAATGATGACACATTTCTTCTCCATACTCCAGTCCCAGGAGATACTTGATCGACCCCTTG
ATTTGAAATGTACGGGGCCACTTACTCTGTCACTCCGCTGGATTTACCAGCTATCATTGAAAGACTCCA
TGGTCTAAGCGGTTACGCTCCACAGTTACTCTCCAGTAGAGCTCAATAGGGTTGCGGGGACACTCAGG
AACTTGGGTGCCCCCCTACGAGCTTGAGACATCGGGCACGAGCAGTGC GCGCCAAGCTTATCGCTC
AGGGAGGGAGGGCCAAAACATGCGGCCTCTATCTTTAATTGGGCGGTACGCACCAAGACCAATCTCAC
TCCATTGCCAGCCGTGGCCARTTGGATTTATCCAGTTGGTTTACGGTTGGCGTCCGCGGGAACGACATT
TATCACAGCGTGTACGTTGCCGAACCCGCCATTTGCTGCTCCGCTACTCTACTAACAGTAGGGGTAG
GCATCTTTCTCCTACCAGCACGG
```

Uppgift 2 - Virusets ursprung?

För att pröva om virusets arvs massa kan säga något om vilket/vilka smittovägar som är mer sannolika ska virusets sekvens jämföras med information lagrad i NCBI´s virusdatabas med stöd av verktyget BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*).

Så här gör du

1. Öppna NCBI´s virusdatabas: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/virus/vssi/#/>
2. Klicka på gul ruta "NCBI BLAST search".
3. Kopiera sekvensen för patientens virus (ctrl+C).



Klistra in (ctrl+V) i rutan där det står "Enter sequence...".

Klicka på "Start search". Programmet jämför den inmatade sekvensen med det bibliotek av sekvenser som finns i databasen.

Träffarna presenteras i en tabell med många kolumner (se bild nedan).

- Klicka på *Select columns* (se röd pil i bilden) och ta bort alla kolumner utom *Accession*, *Coverage*, *Identity*, *Score*, *Geo Location*. Klicka på *Apply* (långt ner).
- Fliken "Nucleotide" visar alla presenterade träffar (antalet inom parentes).
- "Coverage" visar andelen (%) av patientens virussekvens som matchats. Klicka på "Coverage" för att sortera till 100% matchning överst i tabellen.

Accession	Coverage	Identity	Release Date	Species	Length	Geo Location
NC_009824	99%	93%	2007-10-01	Hepacivirus C	9456	New Zealand: Aucklan
MT995316	100%	94%	2020-10-12	Hepacivirus C	9066	Denmark
MT995317	100%	94%	2020-10-12	Hepacivirus C	9066	Denmark

4. Klicka på "Identity" (se bild ovan vid "4"). Träffarna sorteras utifrån största likhet med patientens virus-sekvens.

Scrolla åt höger till kolumn "Geo Location" som talar om varifrån provet i da-tabasen kommer ifrån.

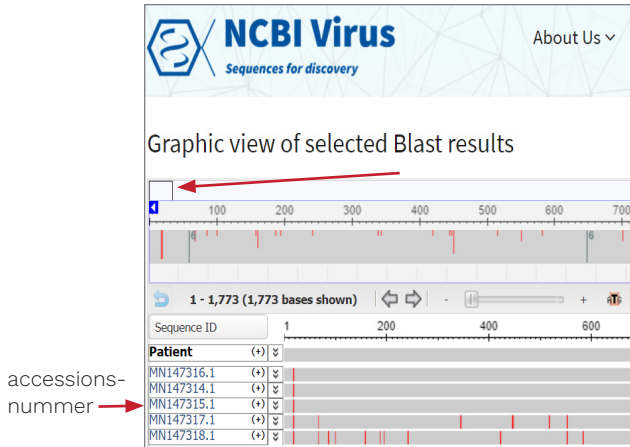
Varifrån kommer sekvenserna som liknar patientens virussekvens?

5. Den röda ringen vid "5" (se bild ovan) visar boxar (rutor) framför så kallade accessionsnummer (*Accession numbers*). Markera (klicka i) boxar för fem träffar du fått med hög % likhet.
6. Klicka på "View BLAST Alignment" (se bild ovan vid "6").

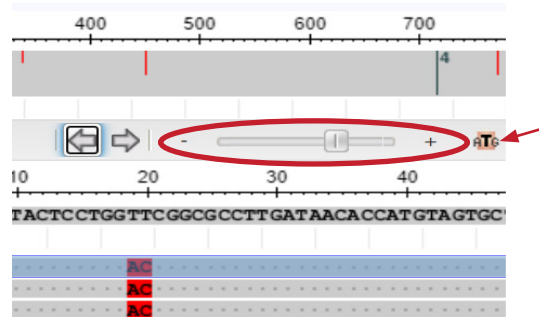
OBS! En ny flik i webbläsaren öppnas med resultaten.

7. Skillnader mellan den sekvens du laddat upp ("Patient") och de träffar du valt att jämföra med visas med röda streck (se bild nedan till vänster). Ju fler röda streck som skiljer sig åt, desto mer olika är sekvenserna.

Vilka sekvenser verkar mest lika patientens? Notera deras accessionsnummer!



Röd pil här ovanför visar var du kan dra för att flytta området på sekvensen som ska visas.



Röd inringning visar verktyg för att förstora och flytta sig längs sekvensen. Röd liten pil pekar på en knapp "ATG" som gör att man zoomar in till att man ser enskilda nukleotider.

8. Använd knappen "ATG" (se röd pil i bild till höger ovan) för att zooma in på nukleotidnivå. Lång röd pil i bilden till vänster ovan visar var du kan ta tag och flytta inzoomningen längs med sekvensen. Zooma in på ett område där det finns en markerad skillnad (rött streck) för någon av de mest liknande sekvenserna. **I vilka positioner i sekvensen hittar du skillnader? På vilket sätt är de olika, vilka kvävebaser skiljer sig åt? Anteckna dina resultat.**

OBS! Förutom A, T, G, C förekommer symbolerna R (som motsvarar A/G) och Y (som motsvarar T/C). R och Y används vid osäkerhet i sekvenseringen.

9. Gå tillbaka till webbfilen med träfflistan. Titta på värden i kolumnen "Score". **Vilken träff är mest lik patientens virussekvens?**
10. Klicka på "Build a phylogenetic tree" (se "10" i bilden nedan). **Var i släkträdet vi hittar sekvenserna som är mest lika patientens virus? Hur skulle man kunna rita in patientens virus i släkträdet?**

Accession	Coverage	Identity	Release Date	Species	Length	Geo Location
NC_009824	99%	93%	2007-10-01	Hepacivirus C	9456	New Zealand: Auckland
MT995316	100%	94%	2020-10-12	Hepacivirus C	9066	Denmark
MT995317	100%	94%	2020-10-12	Hepacivirus C	9066	Denmark

NCBI Virus
Sequences for discovery

Your search: **MN147303**
Length: 1773 nt

View BLAST of selected sequences

Refine Results Reset

Virus +
Accession +
Sequence Length +
Sequence Type +
RefSeq Genome Completeness +

Selected Results: 0

Nucleotide (500)		Protein (0)
Accession	Coverage	
<input type="checkbox"/> NC_009824	99%	
<input type="checkbox"/> MT995316	100%	
<input type="checkbox"/> MT995317	100%	

28) **RefSeq Genome (1)**

Species	Nucleotide Details
Hepacivirus C	LC435023 Hepatitis C virus subtype 6e N1 for polyprotein, complete cds (Ya
Hepacivirus C	Attributes Nuc Completeness: partial Length: 9341 Mol Type: RNA Geo Location: Cambodia Collection Date: 2012-08-22
Hepacivirus C	
Hepacivirus C	

I den ruta som kommer fram finns olika slags information kopplad till den sekvens som lagrats i databasen.

11. Klicka på "Accession", ID-beteckningen (t.ex. KY994577).

Vad finns det slags för information? Är någon information till hjälp för att spåra smittan? Varför/varför inte?

12. **Sammanfatta** vad den bioinformatiska analysen säger **om viruset** som infekterat patienten.

Uppgift 3 - Värdering av resultat

Diskutera resultatens användbarhet genom att ta ställning till påståendena nedan. Stämmer de, ja eller nej? Motivera!

- Om patientens virussekvens är mycket lik en sekvens i databasen visar det att patienten blivit smittad av den person som lämnat prov till databasen.
- Om patientens virussekvens är mycket lik en sekvens i databasen visar det att patienten blivit smittad av en person som kommer från samma geografiska område som den som lämnat prov till databasen.
- Om flera virussekvenser från samma geografiska område liknar patientens virussekvens stärker påstående II.
- Om det var möjligt att få fram nukleotidsekvensen för det hepatit C-virus som infekterat den person som de facto har smittat patienten skulle man få 100 procent överensstämmelse mellan sekvenserna.

Uppgift 4 - Diskutera vilken smittväg som är mest trolig

Vilken/vilka smittvägar är mest sannolika?

Motivera med stöd av slutsatserna utifrån analysen av virussekvensen tillsammans med sjukdomens biologi och det du vet om patientens resa och olika händelser.

Uppgift 5 - Smittspårning - planera samtal

Inför ett smittspårning behöver man fundera igenom flera saker. Här följer några frågor att tänka på:

- Vilka personer är viktiga att kontakta för att hindra fortsatt smitta av hepatit C?
- Vilken information behöver tas upp i ett samtal som är en del av smittspårning?
- Hur kan man bidra till ett bra samtal?

Uppgift 6 - Utvärdera övningen

I övningen har du använt en virusdatabas och verkyget BLAST. Har övningen påverkat dina kunskaper i och om bioinformatik? Berätta!

Har arbetet väckt några frågor? Berätta!

Tips!

Studera Sveriges statistik över hepatit C-fall via Folkhälsomyndighetens webbplats. Sök på hepatit C (<https://www.folkhalsomyndigheten.se/>)