

Dyrkningsnegativ *Streptococcus pneumoniae* endokarditis diagnosticeret med polymerasekædereaktion

Reservelæge Rasmus Vedby Rasmussen, overlæge Michael Kemp, overlæge Jette M. Bangsborg, afdelingslæge Anne Vinther Kjerulf, overlæge John Brochorst Christensen & overlæge Niels Eske Bruun

Gentofte Hospital, Kardiologisk Afdeling P og Thoraxkirurgisk Afdeling R, Statens Serum Institut, Afdeling for Bakteriologi, Mykologi og Parasitologi, og Herlev Hospital, Klinisk Mikrobiologisk Afdeling

Resume

I sygehistorien omtales en 60-årig mand, der blev indlagt med dyspnø, sepsis og meningitis af ukendt bakteriel ætiologi. En transtorakal ekkokardiografi viste ekskrescenser på aortaklappen og svær aortainsufficiens. Patienten blev akut opereret med indsættelse af en mekanisk aortaklap. Ved en polymerasekædereaktion (PCR)-undersøgelse af væv fra den bortopererede native klap blev der påvist *Streptococcus pneumoniae*-DNA. PCR til påvisning af bakteriel DNA på bortopererede hjerteklapper er blevet mere tilgængelig og kan i mange tilfælde give den bakterielle ætiologi ved dyrkningsnegativ endokarditis.

Endokarditis er en forholdsvis sjælden sygdom med ca. 500 tilfælde årligt i Danmark [1]. Incidensen er stigende især blandt mænd og ældre. Selv i dag medfører endokarditis lange og ofte komplicerede indlæggelser. Ca. 50% af de patienter, der bliver henvist til et tertiært center, opereres, og mortaliteten under indlæggelse er 10-25% [1]. Påvisning af den mikrobiologiske ætiologi er af største vigtighed både for diagnose og behandling af endokarditis.

Vi præsenterer et tilfælde af dyrkningsnegativ endokarditis, som viser brugbarheden af DNA-baseret diagnostik med polymerasekædereaktion (PCR) udført på væv fra den bortopererede hjerteklap.

Sygehistorie

En 60-årig mand, der havde reumatoid arthritis og pacemaker, blev indlagt med almen sygdomsformemmelse gennem flere uger. Patienten var forinden af egen læge sat i behandling med penicillin på mistanke om pneumoni, og han var ved indlæggelsen konfus, rodende og højfebril med en temperatur på 38,6 grader, hypotensiv (blodtryk 90/38 mmHg) og takykard (puls 175/min). Der blev initialt taget et enkelt sæt (en aerob plus en anaerob kolbe) til bloddyrkning før påbegyn-

delse af antibiotisk behandling med penicillin, gentamicin og metronidazol. Pga. de cerebrale symptomer blev patienten lumbalpunteret. Lumbalpunkturen viste purulent meningitis med > 6.000 leukocytter, lav glukoseværdi og forhøjet proteinværdi i spinalvæsken. En røntgenundersøgelse af thorax viste højresidig pneumoni. Transtorakal ekkokardiografi (TTE) blev udført, da der var kardial mislyd og lungestase. Man fandt en normal systolisk pumpefunktion med oscillerende ekskrescenser på aortaklappen og svær aortainsufficiens. Ved supplerende transøsofageal ekkokardiografi bekræftede man TTE-fundene (Figur 1). Både bloddyrkning og spinalvæske var uden vækst af bakterier.

Patienten blev akut opereret, og der blev indsat en mekanisk aortaklap. Ved operationen fandt man delvis destruktion og prolaps af højre semilunær fleg med en ca. 10 mm. lang ekskrescens. En lignende ekskrescens blev fundet i kommissuren mellem den højre og venstre klapfleg. Da der ikke forelå positive bloddyrkningsresultater, blev væv fra den native klap sendt til PCR. DNA blev ekstraheret fra makroskopisk forandret væv, og der blev udført PCR med amplifikation af de første ca. 530 bp af det bakterielle 16 S rRNA-gen. Amplifikationsproduktet blev DNA-sekventeret, og ved sammenligning af basesekvensen med kendte sekvenser i National Center for Biotechnology Information (NCBI) databasen stillede vi diagnosen *Streptococcus pneumoniae*. Rutinemæssig dyrkning og mikroskopi af vævet var negativ. Patienten blev sat i intravenøs behandling med sammenlagt to ugers gentamicin og seks ugers penicillin og kunne udskrives i velbefindende ca. halvanden måned efter indlæggelsen.

Diskussion

Bakteriel endokarditis er en alvorlig infektionssygdom, der ud over destruktion af hjerteklapper kan medføre en række komplikationer: hjerteinsufficiens, embolier (især til hjernen), arytmier, nyreinsufficiens, mykotiske aneurismer og ved høj-

Figur 1. Transøsofageal ekkokardiografi fra patienten i sygehistorien. Ekkokardiografien viser svært destrueret aortaklap med ekskrescens (pilen).



residig endokarditis; pulmonale embolier/infiltrat. I den her omtalte sygehistorie er det overvejende sandsynligt, at den påviste endokarditis var opstået som følge af den pneumoni, som patientens praktiserende læge havde diagnosticeret. Meningitten har været en del af sygdomsbilledet, opstået enten på septisk baggrund eller på basis af inficerede mikro-embolier fra aortaklappen. Ud over beskadigelse af endotelet med dannelse af mikrotromber spiller også immunologiske processer en vigtig patofysiologisk rolle ved endokarditis. På grund af den kroniske bindevævslidelse og tilstedeværelse af fremmed materiale i hjertet havde patienten derfor været prædisponeret til at få endokarditis.

I Danmark er 5-10% af alle endokarditstilfælde dyrkningsnegative, og i nogle lande er dette tal væsentligt højere [1]. Årsagen er oftest, at patienterne har fået antibiotisk behandling før bloddyrkningen. Negative resultater kan også skyldes, at infektionen er forårsaget af mikroorganismer, der ikke kan dyrkes eller er meget langsomt voksende. Det er af største vigtighed at stille den mikrobiologiske diagnose både for valg af den rette antibiotiske behandling og for prognosen.

Siden starten af 1990'erne har det været muligt at lave PCR med efterfølgende DNA-sekventering på bortopererede hjerteklapper fra endokarditispatienter [2]. Det er en metode, der er under forsat udvikling, men inden for de seneste år er metoden blevet mere tilgængelig. I flere studier har man evalueret brugbarheden af PCR til at påvise bakterie-DNA på bortopererede hjerteklapper. Der er ikke fundet nævneværdige kontaminationsproblemer, og i disse mindre opgørelser er der fundet en sensitivitet på 41-65% og en specificitet på > 90% [2-4]. Dette overgår resultater af almindelig dyrkning af klapmateriale. Man kan ved PCR også detektere vanskeligt dyrkbare bakterier blandt andet *mycoplasma*-species, *coxiella burnetii* og svampe.

Bloddyrkning vil forsat være det vigtigste redskab til påvisning af bakteriel ætiologi i forbindelse med endokarditis, og det er derfor af største vigtighed, at disse patienter får foretaget et sufficient antal bloddyrkningsprøver med sufficient blodvolumen før påbegyndelse af antibiotisk behandling. PCR er kun relevant ved dyrkningsnegativ endokarditis. PCR foretages på vævsprøver, og metoden er derfor foreløbig forbeholdt endokarditispatienter, der undergår hjerteklapoperation. På-

visning og identifikation af bakterielt DNA i blod er kasuistisk omtalt, men metoden har begrænset følsomhed og er aldrig blevet valideret ved endokarditis. Nye DNA-oprensningsteknikker og præamplifikation åbner mulighed for, at man i fremtiden mere generelt vil kunne anvende PCR-metoden på prøvematerialer med ekstrem lav koncentration af bakterielt DNA, herunder blod [5].

Summary

Rasmus Vedby Rasmussen, Michael Kemp, Jette Bangsborg, Anne Kjerulf, John Christensen & Niels Eske Bruun:

Streptococcus pneumoniae endocarditis diagnosed with PCR

Ugeskr Læger 2008;170(39):3070

A 60-year old man was admitted with sepsis and meningitis of unknown aetiology. Underlying aortic valve endocarditis was diagnosed by echocardiography and severe insufficiency led to aortic valve replacement. Application of broad-range PCR to cusp tissue revealed a DNA product, and a diagnosis of *Streptococcus pneumoniae* endocarditis was obtained by DNA sequencing.

Korrespondance: Niels Eske Bruun, Kardiologisk Afdeling P, Gentofte Hospital, DK-2900 Hellerup. E-mail: nibru@geh.regionh.dk

Antaget: 27. februar 2007
Interessekonflikter: Ingen

Artiklen bygger på en større litteraturgennemgang. En fuldstændig litteraturliste kan fås ved henvendelse til forfatterne.

Litteratur

1. Bruun NE, Elming H, Furrsted K et al. Infektios endokardit: diagnose og behandling. *Cardiologisk Forum* 1 (suppl):2007.
2. Kotilainen P, Heiro M, Jalava J et al. Aetiological diagnosis of infective endocarditis by direct amplification of rRNA genes from surgically removed valve tissue. *Ann Med* 2006;38:263-73.
3. Breitkopf C, Hammel D, Scheld HH et al. Impact of a molecular approach to improve the microbiological diagnosis of infective heart valve endocarditis. *Circulation* 2005;22:1415-21.
4. Greub G, Lepidi H, Clarisse R et al. Diagnosis of infectious endocarditis in patients undergoing valve surgery. *The Am J Med* 2005;118:230-8.
5. Zucol F, Ammann RA, Berger C et al. Real-time quantitative broad-range PCR assay for detection of the 16S rRNA gene followed by sequencing for species identification. *J Clin Microbiol* 2006;44:2750-9.