

Mikrobejægerne på vej med hurtigdiagnostik

Ulrik Stenz Justesen, Marianne N. Skov, Gitte Nyvang Hartmeyer, Michael Kemp, Thøger Gorm Jensen & Anette Holm

STATUSARTIKEL

Klinisk Mikrobiologisk
Afdeling, Odense
Universitetshospital

Ugeskr Læger
2018;180:V10170734

Det er over 90 år siden, at *Paul de Kruif* skrev sin berømte bog »Microbe hunters«, på dansk »Mikrobejægerne«, hvor store videnskabsmænd og deres opdagelser inden for den mikrobiologiske verden blev beskrevet [1]. Der er sket meget siden da, og specielt inden for de seneste ti år er den teknologiske udvikling gået meget stærkt, og der er sket flere små revolutioner i den diagnostiske mikrobiologi [2].

De gamle dyrkningsmetoder erstattes af eller suppleres i stigende grad med molekylærbiologiske teknikker. Hvor disse teknikker for få år siden var meget dyre, arbejdstunge og stillede store krav til laboratoriets indretning, har dette ændret sig fuldstændigt. Teknikkerne er i dag blevet billigere, nemmere og mere robuste. Mange undersøgelser kan nu udføres uden de helt store krav om teknisk viden og kunnen eller omfattende oplæring.

Verden over ses der stigende problemer med antibiotikaresistens, der medfører øget sygelighed og dødelighed. I slutningen af 2016 kom der en revideret udgave af Nationale Infektionshygiejniske Retningslinjer (NIR) om supplerende forholdsregler ved infektioner og bærertilstand i sundhedssektoren [3]. Retningslinjerne har medført et stigende behov for isolation af patienter, der enten er diagnosticeret med resistente bakterier, herunder især methicillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA), eller har været i en risikosituation (f.eks. indlæggelse på et udenlandsk sygehus).

Det sker på et tidspunkt, hvor det danske sundhedsvæsen er under konstant pres for effektiviseringer, og antallet af sengepladser forventes at falde. Det betyder, at patienterne skal udredes og behandles hurtigere end nogensinde før. Isolation af patienter er meget dyrt, og det optager ekstra sengepladser samt forsinket udredning, hvilket kan være skadeligt for patienterne [4]. Det er estimeret, at meromkostningerne til isolation er over 3.000 kr. pr. dag [5].

Ud over resistente bakterier er der mange andre mikroorganismer eller infektionssygdomme, hvor et hurtigt svar har stor betydning for isolationsforanstaltninger og behandling, f.eks. norovirus (Roskildesyge) og meningitis.

På de klinisk mikrobiologiske afdelinger i Danmark stræber man efter at yde den bedst mulige diagnostik og rådgivning til kollegerne på de kliniske afdelinger, så de kan hjælpe patienterne bedst muligt. Det lyder flot, men sådan er det.

HOVEDBUDSKABER

- ▶ Svar på nogle traditionelle mikrobiologiske undersøgelser kan være flere dage undervejs.
- ▶ Hurtigdiagnostik baseret på molekylærbiologiske metoder er blevet billigere, nemmere og mere robust.
- ▶ Mikrobiologisk hurtigdiagnostik vil bidrage til bedre og mere effektive patientforløb.

Med den teknologiske udvikling vil de klinisk mikrobiologiske afdelinger i stigende grad kunne bidrage væsentligt til både at afkorte tiden til udredning af patienter for akutte infektioner og afklare en eventuel bærertilstand af resistente bakterier, og dermed kan patienterne potentielt komme hurtigere ud af isolation.

I denne artikel beskrives argumenter for hurtigdiagnostik og de tiltag, der er sat i gang på en klinisk mikrobiologisk universitetsafdeling med støtte fra sygehusledelsen for at imødekomme de stigende krav om hurtigere og mere effektive patientforløb. På denne måde gøres der også opmærksom på, hvordan de klinisk mikrobiologiske afdelinger kan bidrage til bedre patientforløb med hurtigdiagnostik.

UNDERSØGELSERNE

Screening for methicillinresistente *Staphylococcus aureus*, vancomycinresistente enterokokker og carbapenemaseproducerende organismer

Udbrud med multiresistente bakterier kan lukke afdelinger og hele hospitaler og er meget dyrt [6]. I Danmark har vi set en stigende forekomst af meget resistente bakterier, herunder carbapenemaseproducerende organismer (CPO), hvoraf en stor del har kunnet relateres til udlandet, bl.a. fra patienter, der overflyttes fra udenlandske sygehuse [7]. Derudover ses en stigende forekomst af vancomycinresistente enterokokker (VRE) og MRSA. I den omtalte NIR anbefales det, at: »Patienter, som indlægges på hospital, bør undersøges for multiresistente bakterier, såfremt patienten: Overflyttes fra udenlandsk hospital uden for Norden«. Det har tidligere været praksis, at disse patienter som minimum blev screenet for MRSA, typisk med dyrkningsbaserede metoder og svartider på mindst 48 timer. Sundhedsstyrelsen skriver derudover i vejledningen om forebyggelse af spredning af MRSA, at patienter, der har »haft arbejde ugentligt eller hyppigere i en svinestald eller på anden måde haft hyppig og tæt kontakt med levende svin«, skal

TABEL 1

Eksempler på de forskellige hurtigttest, der er tilgængelige og kan blive tilgængelige på danske klinisk-mikrobiologiske afdelinger.

Undersøgelse	Prøvemateriale	Svartid, t. ^a	Svar på	Teknik	Sensitivitet/specificitet, %	Reference
MRSA	Overfladepodning, rektalpodning, sekreter, urin	1-2	mecA, mecC ^b	PCR	88-95/92-99	[9]
VRE	Rektalpodning	1-2	VanA og VanB	PCR	61-100/14-99 ^d	[10]
CPO	Rektalpodning	1-2	NDM, KPC, OXA, VIM, IMP	PCR	92-100/95-100	[11]
Influenzavirus	Primært svælgpodning	1-2	Influenza A, 2009 H1N1, influenza B	PCR	53,3-100/98-100	[12, 13]
Norovirus	Fæcesprøve	1-2	Norovirus GI, norovirus GII ^c	PCR	62-100/95-100	[14, 15]
Malaria	EDTA-blod	1	<i>Plasmodium</i> -species	LAMP	90,7-100/84,8-100	[16, 17]
Syndrombaseret hurtigdiagnostik, f.eks. meningitis og encefalitis	Cerebrospinalvæske	1	<i>Escherichia coli</i> K1, <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>S. agalactiae</i> , cytomegalovirus, enterovirus, herpes simplex-virus 1 og 2, humant herpesvirus 6, humant parechovirus, varicella-zoster-virus, <i>Cryptococcus neoformans</i> /C. gatti	PCR	Generelt > 85/98,7-100	[18]

2009 H1N1 = svineinfluenza der var ny i 2009 og dengang gav anledning til en pandemi; CPO = carbapenemaseproducerende organismer; EDTA = ethylendiamintetraeddikesyre; IMP = imipenemase; KPC = *Klebsiella pneumoniae*-carbapenemase; LAMP = *loop-mediated isothermal amplification*; MRSA = methicillinresistent *Staphylococcus aureus*; NDM = New Delhi-metallobetalaaktamase; OXA = oxacillinase-betalaaktamase; PCR = polymerasekædereaktion; VIM = Verona-integron-kodet metallo-betalaaktamase; VRE = vancomycinresistente enterokokker.

a) Fra prøven er ankommet til den klinisk-mikrobiologiske afdeling.

b) MRSA-resistensmekanismen mecA eller mecC skal påvises integreret i *S. aureus*-kromosom.

c) Norovirus, også kendt som roskildesygge, tilhører oftest de 2 genotyper GI og GII.

d) VanB-genet findes naturligt hos andre tarmbakterier, hvilket forklarer den lave specificitet.

podes og isoleres ved indlæggelse [8]. På Odense Universitetshospital har dette medført et stort pres på sengepladser, idet flersengsstuer har skullet bruges til isolation af en enkelt patient.

Med indførelse af hurtigdiagnostik til screening (polymerasekædereaktion (PCR)-test direkte på podninger) for MRSA, VRE og CPO kan laboratorietiden skæres ned til 1-2 timer (Tabel 1). Med metoderne påviser man de gener, der medfører resistens.

Under optimale omstændigheder vil man kunne vिसitere en patient korrekt fra den akutte sygehusmodtagelse til enten en normal sengestue eller isolation, da man kender patientens status inden flytning til sengeafdelingen. For hovedparten af patienterne vil dette betyde, at isolation helt kan undgås.

Undersøgelse for influenzavirus

Ved mistanke om influenza skal indlagte patienter isoleres, indtil mistanken er be- eller afkræftet. Det er uvist, hvor mange patienter der isoleres på denne basis. Ca. 15% af de patienter, der undersøges, har influenza og skal forblive isolerede. Der mangler i høj grad dokumentation for effekten af hurtigdiagnostik, men enkelte studier har vist hurtigere iværksættelse af korrekt behandling og reduceret hospitalsindlæggelse [19, 20].

Med en specifik PCR-hurtigttest til påvisning af influenza kan man få svar i løbet af 1-2 timer, efter at prøven er ankommet (Tabel 1).

Ud fra resultatet af en hurtigttest vil man kunne vísitere en patient korrekt fra den akutte modtagelse, evt.

allerede i lægevagten, til enten en normal sengestue eller isolation, da man kender patientens status. Hvad angår mere alvorlige differentialdiagnoser, vil diagnosen influenza formentlig også bidrage til, at flere patienter helt undgår indlæggelse.

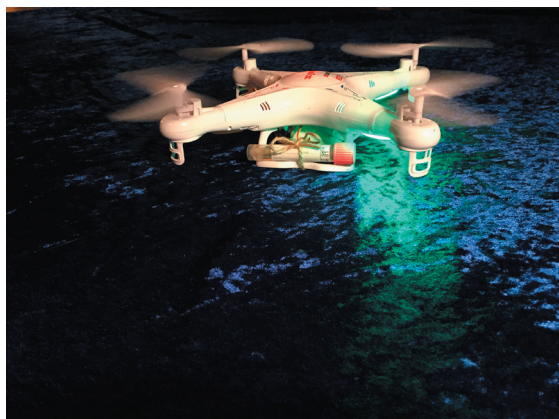
Undersøgelse for norovirus

Flere undersøgelser har vist, at hurtigdiagnostik af norovirus giver lavere dødelighed og begrænser smittespredning [21, 22]. Norovirusgastroenteritis har et meget stort smittepotentiale og kan forårsage store hospitalsudbrud, der rammer både patienter og ansatte med store omkostninger til følge [21, 22]. Forholdsreglerne i forbindelse med indlagte patienter med diarré er også beskrevet i NIR [3]. Hvorledes man i praksis ud-mønter forholdsreglerne kan variere fra landsdel til landsdel baseret på forskel i prævalens og heraf forskel i resultat af risikovurderingen. På Fyn bliver indlagte patienter med diarré undersøgt for flere forskellige diarréfremkaldende mikroorganismer og får som udgangspunkt enestue. I højsæson for norovirus samt ved klinisk og anamnestic mistanke om norovirus skal patienten isoleres alene på mistanken og have taget en prøve med henblik på undersøgelse for norovirus.

Med indførelse af hurtigdiagnostik til påvisning af norovirus i en fæcesprøve kan analysetiden skæres ned fra 1-2 døgn til 1-2 timer (Tabel 1).

Da kun ca. 10% af de undersøgte patienter får påvist norovirus, vil ca. 90% af patienterne hurtigere kunne tages ud af egentlig isolation. Ydermere vil man

Mikrobiologisk hurtigdiagnostik kræver hurtig prøvetransport og døgnbemanding på den klinisk mikrobiologiske afdeling: Drone på vej over vandet om natten med mikrobiologisk prøve.



i forbindelse med udbrud hurtigt kunne identificere patienter, der er en del af udbruddet, og dermed hurtigere kunne tage forholdsregler mhp. at hindre yderligere spredning.

Undersøgelse for malaria

Malaria kan være en akut livstruende sygdom. Akut undersøgelse for malaria er ofte indiceret, men positiviteten er meget lav. Undersøgelser for malariaparasitter udføres traditionelt med mikroskopi af dråbe- og udstrykningspræparater af kapillærblod [23]. Prøvetagning og efterfølgende håndtering volder ofte problemer, og fremsendelse til laboratoriet sker notorisk med forsinkelser.

Sensitiviteten af nye molekylærbiologiske test er meget høj, højere end ved mikroskopi, hvilket gør dem velegnede til screening, hvor man med stor sikkerhed kan frasortere negative prøver [23]. En af disse test er *loop-mediated isothermal amplification* (LAMP) [16, 17]. Undersøgelserne kan udføres på en almindelig blodprøve, som kan afsendes til laboratoriet, så snart den er taget (Tabel 1). Testen er hurtig og nem og kan indføres som rutinescreening ved modtagelse af prøver, der ønskes undersøgt for malaria, såvel i dag- som vagttid. Positive prøver skal fortsat mikroskoperes for at fastlægge species og parasitæmigrad.

Det forventes, at indførelse af molekylærbiologisk undersøgelse for malaria vil kunne resultere i, at mistanken om malaria i de fleste tilfælde hurtigt vil kunne afvises.

Syndrombaseret hurtigdiagnostik

Under denne og lignende betegnelser markedsføres systemer, hvormed man hurtigt kan undersøge prøver for et antal af de hyppigste årsager til infektioner. Betegnelsen er noget misvisende, idet testene typisk er rettet mod bestemte prøvematerialer og ikke er relateret til den kliniske situation. Endvidere er sammensætningen af analyser i de enkelte prøvepaneler ikke altid relevante for danske forhold.

Især undersøgelser af cerebrospinalvæske ved mistanke om meningitis og encefalitis er en oplagt og klinisk vigtig situation med behov for akutte undersøgelser (Tabel 1). Hurtig og sikker identifikation af den ætiologiske årsag giver mulighed for omgående initiering af målrettet behandling, undersøgelser for primært infektionsfokus (f.eks. ved pneumokokker), stillingtagen til profylaktiske foranstaltninger på hospital og i samfundet (f.eks. ved meningokokker) og tilvejebringelse af relevant materiale til overvågning (f.eks. ved enterovirus). Da man ved brug af systemerne kun undersøger for de specifikke agens, der indgår i panelerne, udelukker negative resultater ikke infektioner i centralnervesystemet med andre agens.

Hurtig påvisning af årsager til infektioner i centralnervesystemet forventes at bidrage til hurtigere og mere rationel patientbehandling, jf. ovenstående. Patienter med milde tilfælde af enterovirusmeningitis, der ikke kræver specifik behandling, vil kunne udskrives uden at afvente mere tidskrævende diagnostik, og ved påvisning af f.eks. herpes simplex-virus vil antibakteriel behandling kunne undlades i en række tilfælde.

DISKUSSION OG KONKLUSION

Sensitiviteten af hurtigdiagnostik er ikke 100% og kan ved nogle hurtigtest og agens være så lav, at det giver udfordringer for tolkning af svar og beslutning om ophør af isolation. For de fleste hurtigtest opvejes dette dog af den meget store gevinst, der ligger i at mange patienter hurtigt kan komme ud af isolation. Det er også vigtigt at understrege, at systemerne ikke erstatter f.eks. dyrkning. Der vil fortsat være behov for videre undersøgelse af positive prøver med fænotypisk resistensbestemmelse af bakterier og typning (både bakterier og virus).

Ud over det rent laboratoriemæssige arbejde skal helt generelle forhold være på plads, for at patienterne oplever det fulde udbytte af hurtigdiagnostik. Hurtig transport af prøverne til den klinisk mikrobiologiske afdeling er helt afgørende (akutpiccoliner, rørpost og i en formentlig nær fremtid droner!). Det giver ikke mening at udføre hurtigdiagnostik, hvis prøven i øvrigt har været mange dage undervejs fra den kliniske afdeling. Derfor er døgnbemanding på den klinisk mikrobiologiske afdeling også afgørende. Når prøven er nået frem, skal der være personale til at udføre analysen.

Svaret på hurtigtesten skal være lettilgængeligt for alle patientens behandlere, også ved afdelingsskift og sygehuskift. Dette er kun tilfældet, hvis det bliver vist sammen med de øvrige laboratoriedata i svarmodulet i den elektroniske patientjournal (EPJ) og i den danske mikrobiologidatabase (MiBa). Anmeldelse og overvågning af epidemiske sygdomme og sygehuserhvervede infektioner er ved at blive omlagt til en elektronisk overvågning og elektronisk anmeldelse baseret på de

mikrobiologiske it-systemers automatiske indsendelse af svar til MiBa. Patientnære systemer (*point of care testing* (POCT)) kan indtil videre hverken sende elektroniske svar direkte til EPJ eller MiBa. Det bør derfor være en forudsætning ved anvendelse af POCT-udstyr, at det kan sende svar til det lokale mikrobiologiske it-system, der så kan videresende svaret til EPJ og MiBa, ellers mistes overblikket.

Som konklusion kan man sige, at under de rette betingelser kan mikrobiologisk hurtigdiagnostik i høj grad være med til at forbedre og effektivisere patientforløb i et tiltagende dynamisk hospitalsvæsen.

SUMMARY

Ulrik Stenz Justesen, Marianne N. Skov, Gitte Nyvang Hartmeyer, Michael Kemp, Thøger Gorm Jensen & Anette Holm:

Microbe hunters are advancing within rapid diagnostics
Ugeskr Læger 2018;180:V10170734

Rapid diagnostics within clinical microbiology is more required, as hospitals need to be more effective. Tests for multi-resistant organisms, influenza virus and life-threatening diseases such as malaria and meningitis are warranted. This review describes the advances within rapid diagnostics and the impact on patient care. To achieve the full potential of rapid diagnostics, logistics such as transportation and personnel around the clock is necessary. However, with the right set-up, clinical microbiology rapid diagnostics will contribute to better and more effective patient care.

KORRESPONDANCE: Ulrik Stenz Justesen.

E-mail: ulrik.stenz.justesen@rsyd.dk

ANTAGET: 12. december 2017

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 16. april 2018

INTERESSEKONFLIKTER: ingen. Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR

- Kruif PD. Mikrofejægerne. Nyt Nordisk Forlag, 1949.
- Kemp M. Klinisk betydende forandringer i mikrobiologisk diagnostik. Ugeskr Læger 2011;173:264-6.
- Central Enhed for Infektionshygiejne, Statens Serum Institut. Nationale Infektionshygiejniske retningslinjer – om supplerende forholdsregler ved infektioner og bæreritilstand i sundhedssektoren. 5. udgave 2016. www.ssi.dk/NIRsupplerende (5. jan 2018).
- Abad C, Fearday A, Safdar N. Adverse effects of isolation in hospitalized patients: a systematic review. J Hosp Infect 2010;76:97-102.
- Jakobsen M, Skovgaard CM, Jensen ML et al. Omkostninger ved husejendoms-MRSA for sundhedsvæsenet i Danmark. KORA Det Nationale Institut for Kommuner og Regioners Analyse og Forskning, 2015.
- Giani T, Pini B, Arena F et al. Epidemic diffusion of KPC carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Italy: results of the first countrywide survey, 15 May to 30 June 2011. Euro Surveill 2013;18:20489.
- Wang M, Ellermann-Eriksen S, Hansen DS et al. Epidemisk stigning i forekomsten af carbapenemaseproducerende enterobakterier i Danmark. Ugeskr Læger 2016;178:V06160422.
- Sundhedsstyrelsen. Vejledning om forebyggelse af spredning af MRSA. 3. udgave 2016. www.sst.dk/da/sygdom-og-behandling/smit-somme-sygdomme/mrsa/vejledning (5. jan 2018).
- French GL. Methods for screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage. Clin Microbiol Infect 2009;15(suppl 7):10-6.
- Faron ML, Ledebøer NA, Buchan BW. Resistance mechanisms, epidemiology, and approaches to screening for vancomycin-resistant *Enterococcus* in the health care setting. J Clin Microbiol 2016;54:2436-47.
- Viau R, Frank KM, Jacobs MR et al. Intestinal carriage of carbapenemase-producing organisms: current status of surveillance methods. Clin Microbiol Rev 2016;29:1-27.
- Linehan E, Brennan M, O'Rourke S et al. Impact of introduction of xpert flu assay for influenza PCR testing on obstetric patients: a quality improvement project. J Matern Fetal Neonatal Med 2. apr 2017 (e-pub ahead of print).
- Li-Kim-Moy J, Dastouri F, Rashid H et al. Utility of early influenza diagnosis through point-of-care testing in children presenting to an emergency department. J Paediatr Child Health 2016;52:422-9.
- Mason J. Point-of-care testing for influenza. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health, 2016.
- Bruning A, Leeftang M, Vos J et al. Rapid tests for influenza, respiratory syncytial virus, and other respiratory viruses: a systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis 2017;65:1026-32.
- Kambhampati A, Koopmans M, Lopman BA. Burden of norovirus in healthcare facilities and strategies for outbreak control. J Hosp Infect 2015;89:296-301.
- Franck KT, Fonager J, Ersbøll AK et al. Norovirus epidemiology in community and health care settings and association with patient age, Denmark. Emerg Infect Dis 2014;20:1123-31.
- Chhabra P, Gregoricus N, Weinberg GA et al. Comparison of three multiplex gastrointestinal platforms for the detection of gastroenteritis viruses. J Clin Virol 2017;95:66-71.
- Cleary O, McNerney R, Yandle Z et al. Evaluation of the Xpert Norovirus assay for the rapid detection of norovirus genogroups I and II in faecal specimens within a routine laboratory setting. Br J Biomed Sci 2017;74:144-7.
- Mathison BA, Pritt BS. Update on malaria diagnostics and test utilization. J Clin Microbiol 2017;55:2009-17.
- Marti H, Stalder C, González JI. Diagnostic accuracy of a LAMP kit for diagnosis of imported malaria in Switzerland. Travel Med Infect Dis 2015;13:167-71.
- Rypien C, Chow B, Chan WW et al. Detection of plasmodium infection by the illumigene malaria assay compared to reference microscopy and real-time PCR. J Clin Microbiol 2017;55:3037-45.
- Leber AL, Everhart K, Balada-Llasat JM et al. Multicenter evaluation of BioFire FilmArray meningitis/encephalitis panel for detection of bacteria, viruses, and yeast in cerebrospinal fluid specimens. J Clin Microbiol 2016;54:2251-61.