

# Patientnära mikrobiologisk testmetodik

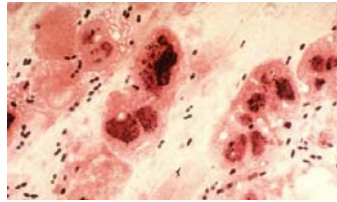
Håkan Janson

Klinisk mikrobiologi  
Labmedicin Skåne

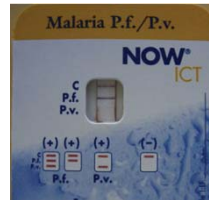


# Snabb mikrobiologisk diagnostik

- Direktmikroskopi



- Antigendetektion



- Nukleinsyraamplifiering (PCR)



- Antikroppsdetektion

- Kemiska tester (urinsticka)

# Nya molekylärbiologiska snabbtest

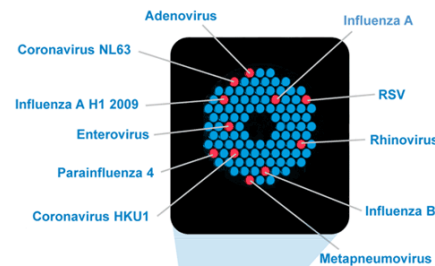
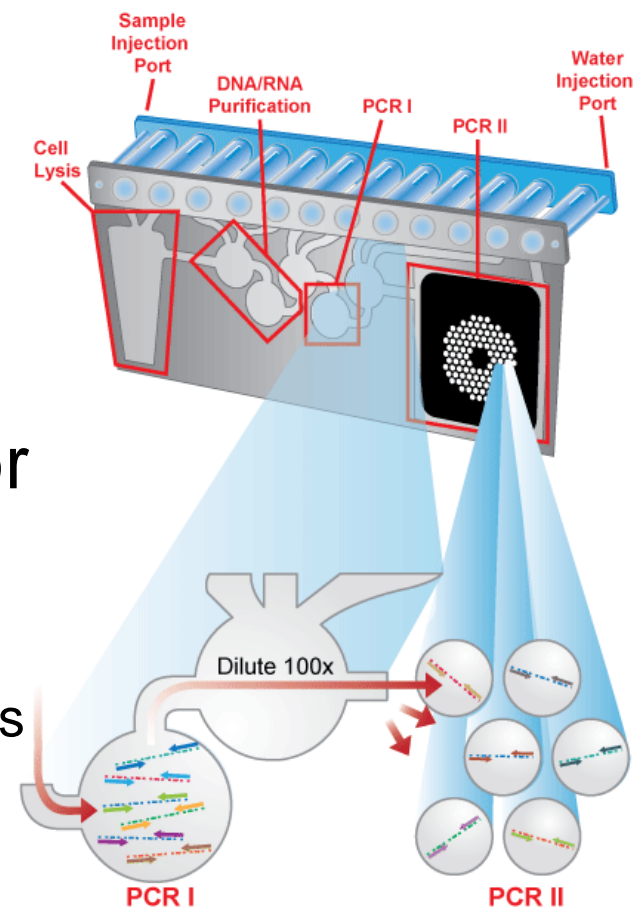


- 3M™
  - Liten realtids-PCR med en roterande skiva
  - Kommer snart med kit för:
    - Herpesvirus typ 1 och 2
    - Influenza A/B och RSV
  - Plats för 8 prov
  - Svar på 30 min inklusive extraktion
- Biomerieux
  - Har en multiplex PCR-snabbtest på gång



# Idaho technology Film array®

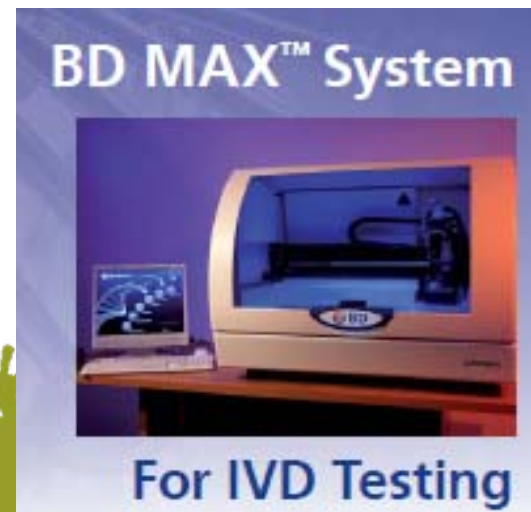
- Multiplex-PCR (och extraktion) för 15 virala luftvägsagens
  - 1 timme till svar
  - Sensitivitet på 87-100% beroende på agens
- Kommer med breda paneler för
  - Positiva blododlingar
  - Tarmpatogener
  - Sexuellt överförbara infektioner
  - Biologiska stridsmedel



# BD Max™

## Mikrofluiditets realtids-PCR

- Öppet system där man även kan köra egenutvecklade analyser
  - Ett FDA-godkänt test för *Streptococcus agalactiae* (GBS) från buljonganrikning
  - Kit för MRSA och *Clostridium difficile* på gång



# Cepheid® GeneXpert®

## PROCESSING CHAMBERS

Contains reagents, filters, and capture technologies necessary to extract, purify, and amplify target nucleic acids.

## OPTICAL WINDOW

Enables real-time optical detection.

## REACTION TUBE

Thin chamber enables very rapid thermal cycling.

## VALVE

Enables fluid transfer from chamber to chamber, may contain nucleic acids lysis and filtration components.



1

Insert swab into  
Sample Reagent vial  
and break



2

Vortex and dispense  
Sample into Port 5



3

Insert Cartridge and  
start assay



# Cepheid® GeneXpert®



- Har 12 IVD-godkända tester
  - Influenza A & B (inklusive A H1N1 2009)
  - *Clostridium difficile* (inklusive 027/NAP1/BI)
  - *Staphylococcus aureus* (inklusive MRSA)
    - *S. aureus* och MRSA från näsa
    - *S. aureus* och MRSA från hud och sår
    - *S. aureus* och MRSA från positiva blododlingsflaskor
    - MRSA från näsa
  - Enterovirus
    - Från cerebrospinalvätska
  - *Streptococcus agalactiae* (GBS)

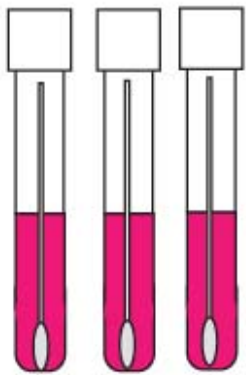
# Lokal utvärdering av GeneXpert®

- TB (*M. tuberculosis* samt rifampicin)
  - Bra korrelation med befintlig PCR
- Enterovirus
  - Bra korrelation med befintlig PCR
- *Clostridium difficile*
  - Bra känslighet men ett antal falskt positiva
- Influenza
  - 85-90% sensitivitet (ffa svagt positiva missas)
- MRSA / *S. aureus*
  - 80% sensitivitet

Ej IVD-godkänd

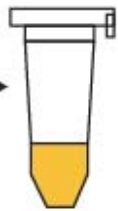
# MRSA screening i Skåne

CAMSA-buljonganrikning



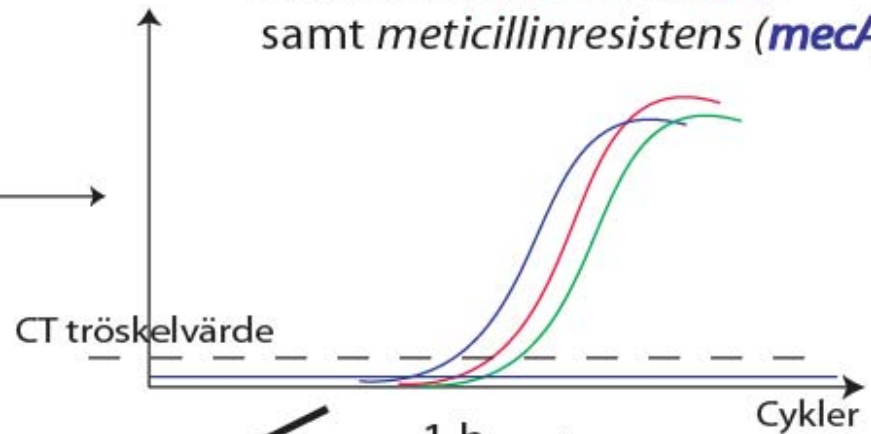
16 h

Automatiserad  
DNA extraktion



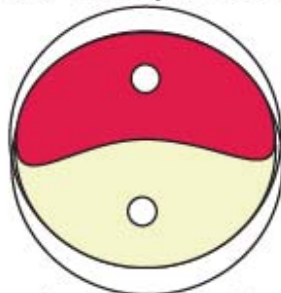
1 h

Multiplex realtids-PCR för  
*S. aureus* (**Sa442** och **nuc**)  
samt *meticillinresistens* (**mecA**)



Prov positiva för ***S. aureus***  
och ***mecA*** odlas ut på agar

Blod + Ampicillinlapp



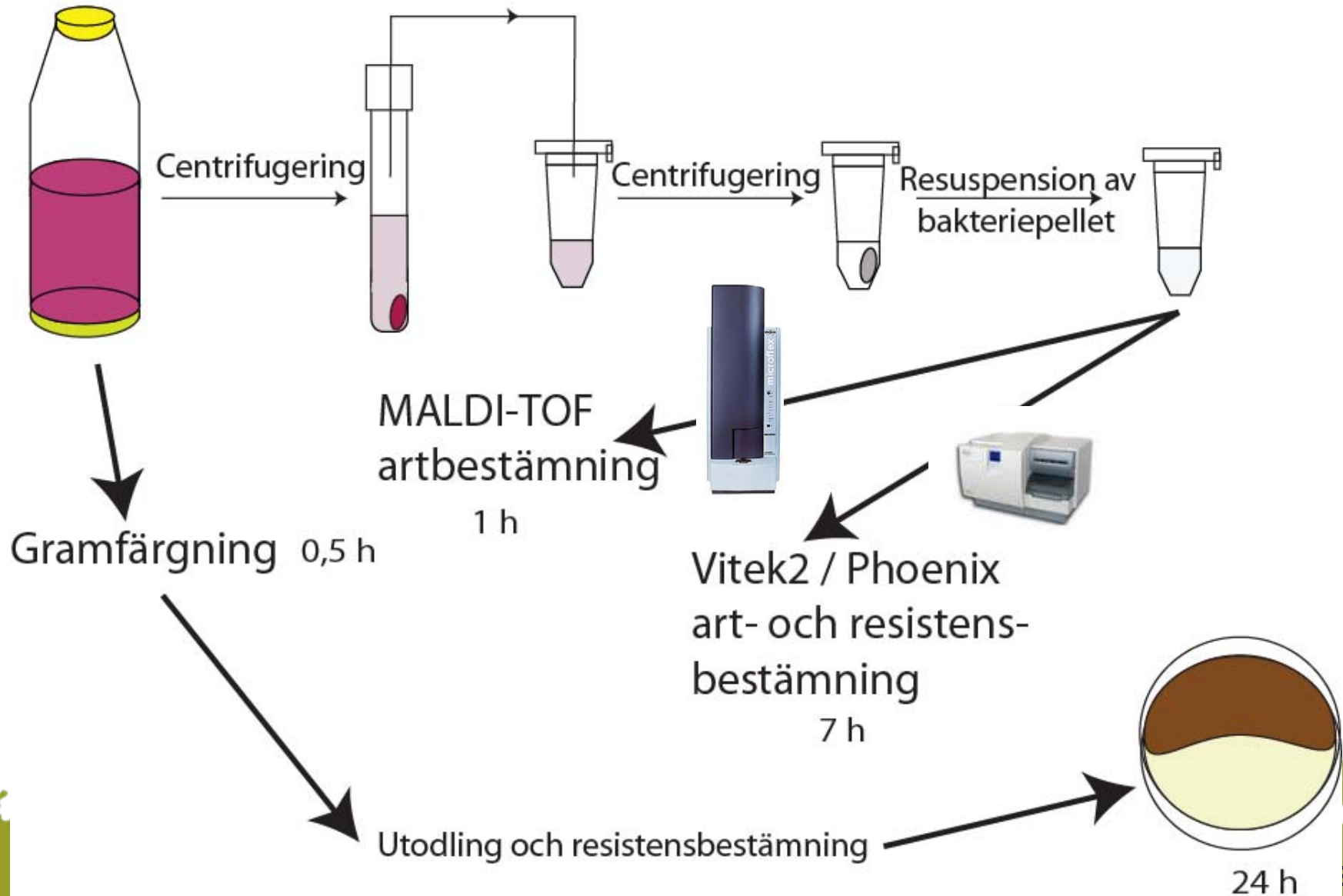
Staph Chrome + cefoxitinlapp

>95 % av negativa prov  
besvaras efter 1 dygn

# Snabbtester för positiva blododlingar

- Gramfärgning
- Traditionella snabbtester
  - Koagulas, agglutination, immunokromatografi
- Nya snabbtester
  - Prove-IT sepsis (MOBIDIAG) – Array
  - CLART SeptiBac (Genomica) – Array
  - PNA FISH (AdvanDx) – FISH
  - MALDI-TOF (Bruker respektive Biomerieux) - Masspektrometri

# Snabbdetektion av positiva blododlingar (1 timme till artbestämning)



# Dygnetruntöppna blododlings-skåp

## ett effektivt sätt att få snabbare svar

- Helsingborg och Kristianstad har kortare svarstider på blododlingar än Lund och Malmö
  - Tack vare blododlings-skåp som är tillgängliga dygnet runt
  - I Lund och Malmö är de endast öppna under kontorstid
- < 50% av blododlingar från Malmöområdet sätts in samma dag som proven tas

# Point of care lab (POC)

## Exempel från Marseille

- 19 m<sup>2</sup> med operatoroberoende test
  - Analyser som innebär en modifiering av patienthandläggandet görs på POC
  - Meningit-, Pneumoni-, Gynekologi- diagnostik görs lokalt och svaras via telefon till provtagaren.
  - Övriga prov går till centrallabbet
  - POC-labbet ligger i anslutning till akuten

Cohen-Bacrie et al. 2011.PLoS ONE, 6:e22403

# Ritning på mikrobiologiskt POC – lab

från Cohen-Bacrie et al. 2011.PLoS ONE, 6:e22403

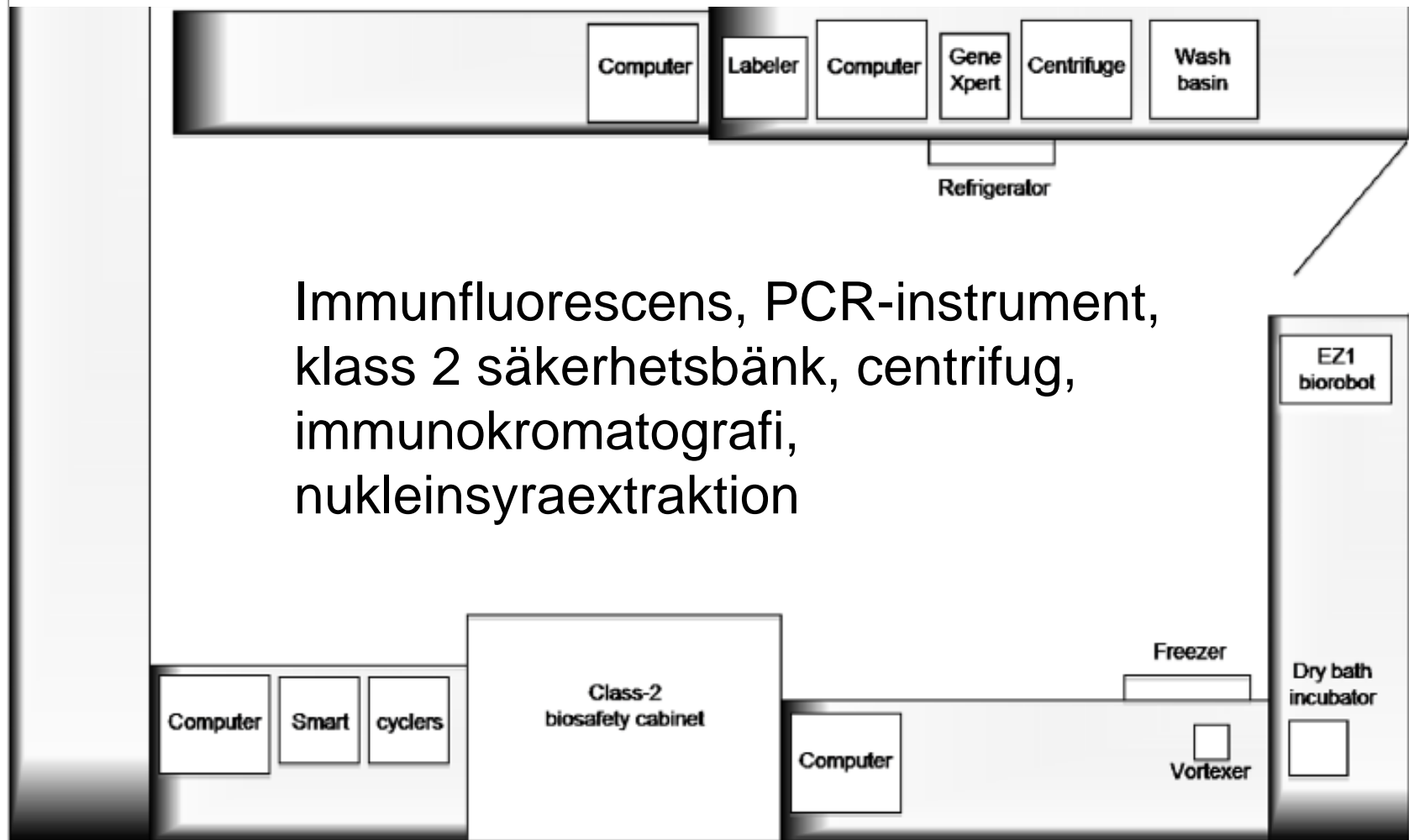


Figure 1. Layout of the POC-lab and equipment.

doi:10.1371/journal.pone.0022403.g001

# De mest lovande molekylära snabbtesten

- GBS på vaginalpinne från kvinnor med vattenavgång
  - Ger svar inom en timme, vilket oftast ger tid för att ge antibiotikaprofylax
  - 92% sensitivitet och 96% specificitet, vilket är överlägset screening i vecka 35-37.
  - Återstår att besluta om allmän GBS-screening
- *Clostridium difficile*
  - Något billigare än de andra testen
  - Nackdel att det inte finns calicivirus (norovirus) som snabbtest
- *Mycobacterium tuberculosis*



# Den ideala lösningen?

Isoterm amplifiering med kontinuerligt inflöde av prov

