



Kjersti Haugum

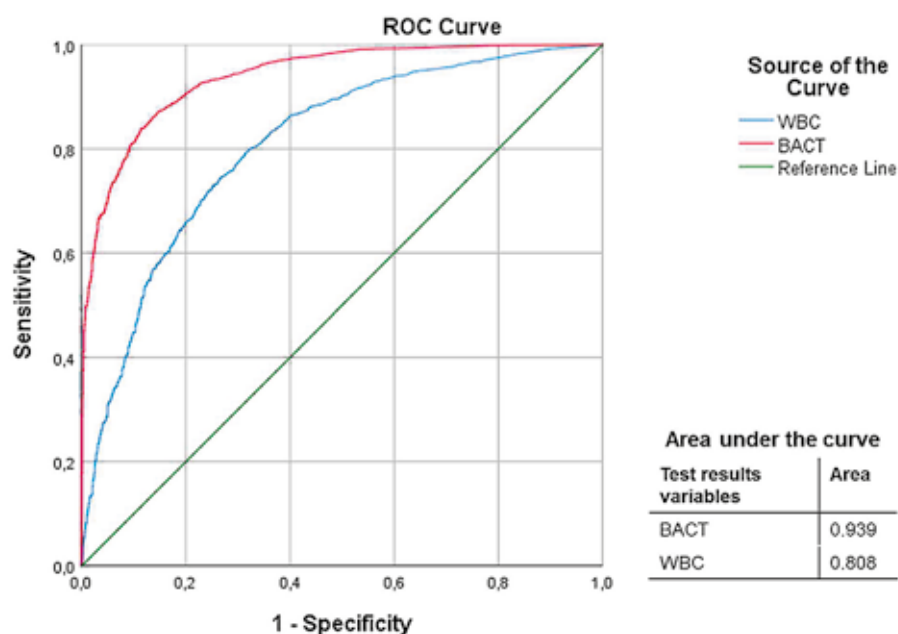
Spesialbioingeniør, avdeling for medisinsk mikrobiologi, St. Olavs hospital og Institutt for klinisk og molekylær medisin, NTNU

Bruk av flowcytometri ved diagnostikk av urinveisinfeksjoner

I 2019 vurderte Avdeling for medisinsk mikrobiologi ved St. Olavs hospital flowcytometri som hurtig screeningsverktøy for å utelukke bakteriuri. Urin fra pasienter med mistenkt urinveisinfeksjon ble analysert med Sysmex UF-5000.

Urinveisinfeksjon er en av de vanligste bakterieinfeksjonene både i Norge og i andre deler av verden. Urindyrkning er gullstandard for å identifisere og kvantitere tilstedeværelse av bakterier i urin, men er tidkrevende. En alternativ metode er flowcytometri, som raskt kan differensiere og kvantitere ulike partikler i urin, inkludert bakterier og leukocytter. Metoden er tatt i bruk i flere europeiske laboratorier og kan brukes til screening av urinprøver for å utelukke bakteriuri, slik at antall urindyrkninger i laboratoriet reduseres. Grenseverdien for bakterietall må vurderes ved hvert enkelt laboratorium.

I denne studien ønsket vi å undersøke om flowcytometri egnet seg som screeningmetode for å identifisere urinprøver som ikke trenger å dyrkes, samt hvorvidt det var mulig å identifisere blandingskulturer. Vi ønsket også å undersøke grad av carryover i instrumentet, og krysskontaminering mellom prøver.



ROC-kurve for bakterietall (BACT/mL, rød linje) og leukocyt-tall (WBC/ μ L, blå linje) analysert ved hjelp av flowcytometri versus dyrkningsresultater i 3468 urinprøver (gravide kvinner ekskludert). Figuren er hentet fra (1) (CC BY-NC 4.0, <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

Flowcytometri versus dyrkning

Vi analyserte 3919 urinprøver med UF-5000 parallelt med kvantitativ urindyrkning i henhold til avdelingens prosedyrer. Prøvene var fra både inneliggende og polikliniske pasienter av begge kjønn. ROC-kurveanalyser (Receiver operator characteristics) ble brukt for å analysere samsvar mellom metodene i forhold til positive versus negative kulturer og blandingskulturer versus renkultur.

ROC-kurveanalyse (figur 1) viste at flowcytometri-parametere bakterietall (BACT/ μ L) og leukocytall (WBC/ μ L) kunne benyttes til å skille mellom urinprøver med og uten behov for dyrkning. På grunn av dårlig overensstemmelse mellom metodene i urinprøver fra gravide kvinner, hvor flowcytometri viste høye bakterietall som ikke samsvarte med dyrkningsfunn, ble denne gruppen ekskludert (n = 451). For det resterende

materialet (n = 3468) var arealet under ROC-kurven 0,94 (95 % CI 0,93-0,95) for bakterier og 0,81 (95 % CI 0,79-0,82) for leukocytter. Grenseverdi for dyrkning ble satt til 30 BACT/μl, og dette ga sensitivitet på 95,2 % og negativ prediktiv verdi på 91,2 %. Dette førte til at ca. 30 % av urinprøvene kunne rapporteres som negative uten dyrkning. Det var ikke mulig å identifisere blandingskulturer ved analyse av plateepitelceller (SquaEC/μl) eller epitelceller (EC/μl), hverken alene eller i kombinasjon med BACT/μl ved hjelp av flowcytometri.

Kontaminering

Prøve-til-prøve carryover kan forekomme i UF-5000. Det vil si feilaktig forhøyet måling av bakterietall i en prøve på grunn av kontaminasjon fra foregående prøve med høyt bakterietall. Carryover fører ikke til kontaminering av selve prøvematerialet og kan unngås ved å justere automatiske vaskesykluser mellom prøver i instrumentet. I laboratorier med lavt definert grenseverdi for bakterietall, kan man erfare at bakterietallet i enkelte urinprøver feilaktig måles høyere enn grenseverdien på grunn av carryover hvis ikke det skylles nok mellom prøvene. Det er derfor viktig å tilpasse vaskesyklusene i forhold til lokal grenseverdi for bakterietall. I denne studien ble både carryover i instrumentet og krysskontaminering observert. Vi fant at for å unngå carryover var det nødvendig å benytte et høyere antall automatiske vaskesykluser enn opprinnelig, noe som medfører forlenget analysetid. Krysskontaminering kan unngås ved å bruke separate prøverør for flowcytometri og dyrkning.

Oppsummering

Studien viste at flowcytometri er rask, nøyaktig og robust og kan i stor grad redusere antall dyrkninger i laboratoriet. Negative prøver kan besvares kort tid etter ankomst laboratoriet, ofte samme dag, som er en stor forbedring sammenlignet med dyrkning. ■

Originalartikkel:

Haugum K, Haugan MS, Skage J, Tetik M, Jakovljevic A, Schjelderup Nilsen HJ, Afset JE. Use of Sysmex UF-5000 flow cytometry in rapid diagnosis of urinary tract infection and the importance of validating carryover rates against bacterial count cut-off. J Med Microbiol. 2021;70(12):001472.



Karianne S. Enerstvedt

Bioingeniør med doktorgrad i biologisk kjemi. Spesialbioingeniør ved Seksjon for molekylærdiagnostikk, Avdeling for medisinsk mikrobiologi, Stavanger universitetssykehus.
email: karianne.skogland.enerstvedt@sus.no



Caroline H. Tollefsen

Fagbioingeniør ved Seksjon for molekylærdiagnostikk, Avdeling for medisinsk mikrobiologi, Stavanger universitetssykehus.



Hilde Fardal

LIS3-lege ved Avdeling for medisinsk mikrobiologi, Stavanger universitetssykehus.

Feil analyseresultat førte til at pasient ble utsatt for koronasmitte

Hendelsen som omtales, fant sted i januar 2021. På dette tidspunktet i pandemien hadde smittetrykket i vår region nådd nye høyder gjennom julen, og alfa-variantens inntog var ventet når som helst.

Ved sykehusets akuttmottak hadde vi nettopp etablert en etterlengtet instrumentpark for PCR-hurtigdiagnostikk av SARS-CoV-2, som skulle betjenes av akuttmottakets eget personell. Analyse-resultatet vises i form av «påvist» eller «ikke påvist», og det er ifølge produsent ikke nødvendig å vurdere prøvens amplifikasjonskurve. Når akuttmottaket analyserer PCR-hurtigtestene selv kan smittestatus avklares forløpende ved innkomst, samtidig som laboratoriet får frigjort eget personell til øvrig analysedrift.

Falsk positiv prøve

Denne formiddagen fikk vi beskjed om en øvre luftveisprøve som måtte følges

opp ved laboratoriet. Pasienten hadde testet positivt for SARS-CoV-2 med PCR-hurtigtest kvelden før, og var dermed blitt kohortisolert sammen med to andre pasienter med bekreftet covid-19. I etterkant av innleggelsen hadde det imidlertid kommet frem informasjon fra pårørende og fastlege om at dette prøvesvaret måtte være feil. Sykdomsbildet var heller ikke typisk for covid-19. En ny øvre luftveisprøve ble tatt for å avklare smittestatus. Analysen hastet siden pasienten var kohortisolert med pasienter som hadde påvist SARS-CoV-2. PCR-analyse med in-house-metoden på laboratoriet ble gjennomført, og resultatet var «SARS-CoV-2 ikke påvist».

Behandlingsansvarlig lege ble umiddelbart kontaktet om en mulig falsk positiv primærprøve, og pasienten ble lagt på eneisolat inntil videre avklaring. Primærprøven ble så analysert på nytt, både med in-house PCR og det samme kommersielle PCR-hurtigtestinstrumentet, og resultatet fra begge analysene viste da «SARS-CoV-2 ikke påvist». Det aktuelle analyseinstrumentet i akuttmottaket ble umiddelbart tatt ut av drift. Neste