

## Snelle diagnostiek bij bacteriëmie - van theorie naar klinische praktijk

Rapid diagnosis of bloodstream infections - from theory to clinical practice

Dr. J. Beuving

### Samenvatting

Op 26 mei 2016 promoveerde mw. dr. J. Beuving aan de Universiteit van Maastricht op het proefschrift 'Rapid diagnosis of bloodstream infections - from theory to clinical practice'. Het onderzoek werd verricht onder leiding van promotores mw. prof. dr. A. Verbon (afdeling Inwendige Geneeskunde en afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten) en em. prof. dr. C.A. Bruggeman (afdeling Medische Microbiologie, MUMC+), en copromotor dr. P.F.G. Wolfs (afdeling Medische Microbiologie, MUMC+). In dit artikel worden de belangrijkste bevindingen van het proefschrift besproken.

(Tijdschr Infect 2016;11(5):179-81)

### Inleiding

Geen infectieziekte veroorzaakt meer sterfgevallen dan bacteriëmie.<sup>1</sup> De incidentie ervan neemt toe, als gevolg van het groeiend aantal patiënten dat 'at risk' is, bijvoorbeeld door hun leeftijd, het gebruik van immuno-suppressiva of invasieve ingrepen. De prognose is de afgelopen jaren verbeterd, maar door de toenemende incidentie is het absolute sterftecijfer als gevolg van bacteriëmieën verhoogd.<sup>2,3</sup>

Snel starten met adequate antibiotica heeft een positief effect op de prognose van de patiënt.<sup>4</sup> Maar op het moment dat een infectie vermoed wordt, is nog niet bekend om welke verwekker het gaat en wordt dus blind gestart met een of meerdere breedspectrum antibiotica. Overmatig gebruik hiervan kan echter resulteren in meer bijwerkingen, hogere kosten, een verhoogd risico op infecties met *Clostridium difficile*, gisten en schimmels, en, op de lange termijn, toename van resistente micro-organismen.<sup>5</sup> Daarnaast is het mogelijk dat de verwekker niet gevoelig is voor de gekozen antibiotica, zeker in deze tijd van toenemende antibioticaresistentie.<sup>6</sup>

Daarom is het van belang zo snel mogelijk te weten om welke verwekker het gaat. Het duurt doorgaans tenminste één werkdag voordat de bloedkweek positief

wordt, en vervolgens nog één tot twee dagen voordat de resultaten van identificatie en gevoeligheidsbepaling bekend zijn. Als de resultaten hiervan sneller bekend zouden zijn, zouden patiënten eerder adequate behandeling kunnen ontvangen en kan het onnodig gebruik van (breedspectrum) antibiotica verminderd worden.

Dit proefschrift beschrijft enkele nieuwe snelle technieken voor identificatie en gevoeligheidsbepaling van bacteriën geïsoleerd uit bloed, alsmede de invloed van deze technieken op de behandeling van patiënten met een bacteriëmie.

### Versnellen van de huidige technieken

Voor de technieken die op dit moment gebruikt worden voor identificatie en gevoeligheidsbepaling dient de bloedkweek eerst te worden overgeënt op een agarplaat, wat 4-18 uur duurt. Bacteriën kunnen echter ook uit een positieve bloedkweekfles geïsoleerd worden middels een centrifugeerstep in een serumbuis. Voor het BD Phoenix Automated Microbiology System was dit echter slechts beperkt onderzocht. Dit proefschrift laat zien dat een kleine, goedkope aanpassing in het protocol, namelijk isolatie van bacteriën direct uit de bloedkweek-

Correspondentie richten aan: mw. dr. J. Beuving, arts-microbioloog, Reinier de Graaf Groep, Reinier de Graafweg 7, 2625AD Delft, e-mailadres: judithbeuving@gmail.com.

Belangenconflict/financiële ondersteuning: geen gemeld

**Trefwoorden:** diagnostiek, bacteriëmie.

**Keywords:** diagnostics, bacteraemia.

Ontvangen 22 augustus 2016, geaccepteerd 15 september 2016.

fles met een serumbuis, een snellere betrouwbare identificatie oplevert voor de meeste gramnegatieve staven. Ook de gevoeligheidsbepaling voor nagenoeg alle antibiotica, zowel voor grampositieve kokken als gramnegatieve staven, bleek op deze manier betrouwbare resultaten op te leveren.<sup>7</sup>

### Identificatie en gevoeligheidsbepaling met behulp van PCR

Met de conventionele methodes voor identificatie van bacteriën wordt gebruik gemaakt van diverse biochemische reacties om het micro-organisme te determineren, wat enige incubatietijd vereist. Met behulp van PCR zouden deze resultaten sneller verkregen kunnen worden, omdat hiervoor geen incubatietijd nodig is. In het proefschrift wordt een dergelijke PCR beschreven. Deze maakt gebruik van twee universele primers waarmee een deel van het 16S rRNA-gen geamplificeerd wordt. Met behulp van een set van diverse species-specifieke probes die aan dit stuk kunnen hechten wordt de stam vervolgens geïdentificeerd. Deze PCR kan na een verdunningsstap direct op de positieve bloedkweek worden toegepast. Alle geteste species toonden 100% overeenkomst tussen beide methoden, met uitzondering van de *Staphylococcus aureus*-probe, die ook een sensitiviteit had van 100%, en een specificiteit van 93%. Resultaten zijn binnen drie uur beschikbaar.<sup>8</sup>

Daarnaast werd een methode opgezet voor gevoeligheidsbepaling met behulp van PCR. Hiervoor worden bacteriën direct uit de gegroeide bloedkweek geïsoleerd en gedurende zes uur geïncubeerd met de te testen antibiotica. Vervolgens wordt een PCR verricht op iedere suspensie om de hoeveelheid bacteriën hierin te bepalen. Als er groei heeft plaatsgevonden in de aanwezigheid van het antibioticum, is de bacterie resistent tegen dat antibioticum. Als er geen groei wordt geconstateerd, dan is de stam gevoelig. De resultaten werden vergeleken met die van het BD Phoenix systeem, in geval van discrepanties werd met behulp van microdilutie de gevoeligheid van de stam gecontroleerd. De totale procedure duurt negen uur. Deze semi-moleculaire test bleek net zo betrouwbaar als de methode die op dit moment wordt gebruikt (het BD Phoenix systeem), maar de resultaten ervan zijn eerder beschikbaar.

De materialen die nodig zijn voor deze nieuwe testen zijn in de meeste laboratoria reeds aanwezig.

### Invloed van snelle diagnostiek op de behandeling van de patiënt

Om te onderzoeken of een snellere diagnose ook leidt

tot eerdere aanpassing van de behandeling van de patiënt is een gerandomiseerde gecontroleerde studie gedaan in het Maastricht University Medical Center (MUMC). Patiënten met een positieve bloedkweek werden gerandomiseerd voor de snelle (FAST) groep, waarin de hierboven beschreven moleculaire testen werden gebruikt voor identificatie en gevoeligheidsbepaling, of de standard-of-care (SOC) groep, waarin alleen de reguliere testen werden verricht. In de FAST-groep werden ook de reguliere testen verricht. In totaal werden 250 patiënten geïncubeerd. Resultaten van FAST-diagnostiek bleken opnieuw zeer betrouwbaar (vergeleken met de reguliere testen en, in geval van discrepantie hiermee, microdilutie). Ze waren gemiddeld 15,9 uur eerder beschikbaar dan die van SOC-testen. In totaal hadden 78 patiënten naar aanleiding van FAST-testen over kunnen stappen naar een ander antibioticum. Dit gebeurde echter slechts bij 16 patiënten. Deze aanpassing van therapie vond wel significant eerder plaats dan bij patiënten in wie SOC-diagnostiek de aanleiding was voor een aanpassing in therapie. Door de FAST-diagnostiek ontvingen significant minder patiënten inadequate of te brede antibiotica op het moment dat de resultaten van SOC-diagnostiek beschikbaar werden. Door de suboptimale implementatie van de snelle diagnostiek werden er echter geen effecten gevonden op klinische uitkomstmaten zoals mortaliteit en opnameduur.

### Conclusie

Het is van belang om met het invoeren van nieuwe, snellere diagnostiek ook aandacht te besteden aan de implementatie van de resultaten, bijvoorbeeld door het afstemmen van de testen op de behoeften van de kliniek en het voorlichten van de clinicus over het nut en de betrouwbaarheid van de testen.

### Referenties

1. Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in north america and europe. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19(6):501-9.
2. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, et al. The epidemiology of sepsis in the united states from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003;348(16):1546-54.
3. Sogaard M, Norgaard M, Dethlefsen C, et al. Temporal changes in the incidence and 30-day mortality associated with bacteremia in hospitalized patients from 1992 through 2006: A population-based cohort study. *Clin Infect Dis* 2011;52(1):61-9.
4. Paul M, Shani V, Muchtar E, et al. Systematic review and meta-analysis of the efficacy of appropriate empiric antibiotic therapy for sepsis. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(11):4851-63.
5. Afshari A, Schrenzel J, Ieven M, et al. Bench-to bedside review: Rapid molecular

## Aanwijzingen voor de praktijk

- 1.** Met een kleine aanpassing aan het protocol, namelijk isolatie van bacteriën direct uit de bloedkweek door een centrifugeerstep, kunnen resultaten van identificatie en gevoeligheidsbepaling eerder beschikbaar zijn.
- 2.** Nog meer tijdswinst kan bereikt worden door het gebruik van PCR. Een real-time PCR-assay levert snel en betrouwbare resultaten van identificatie van bacteriën in een bloedkweek, waarbij overenting op een agarplaat of uitgebreide DNA-isolatie niet nodig zijn. Alle resultaten van identificatie en gevoeligheidsbepaling kunnen hiermee, geteld vanaf het moment dat de bloedkweek positief is, binnen 9 uur beschikbaar zijn.
- 3.** Het gebruik van PCR voor identificatie en antibioticagevoeligheidsbepaling van bacteriën uit positieve bloedkweken kan resulteren in een vroegere switch naar een smaller of meer adequaat antibioticum bij patiënten met een infectie van het bloed.
- 4.** Implementatie van de resultaten van de PCR-testen bleek beperkt, waardoor de invloed van de snellere technieken op klinische uitkomstmaten beperkt was.

diagnostics for bloodstream infection--a new frontier? *Crit Care* 2012;16(3):222.

6. The Dutch Foundation of the Working Party on Antibiotic Policy (SWAB), Centre for Infectious disease control (CIb) of the National Institute for Public Health and the Environment of the Netherlands (RIVM). *NethMap 2015: Consumption of antimicrobial agents and antimicrobial resistance among medically important bacteria in The Netherlands in 2014*. 2015.

7. Beuving J, Van der Donk CFM, Linssen CFM, et al. Evaluation of direct inoculation of the BD PHOENIX system from positive BACTEC blood cultures for both Gram-positive cocci and Gram-negative rods. *BMC Microbiology*.2011;11:156.

8. Hansen WLJ, Beuving J, Bruggeman CA, et al. Molecular probes for diagnosis

of clinically relevant bacterial infections in blood cultures. *J. Clin Microbiol* 2010;48(12):4432.

9. Beuving J, Verbon A, Gronthoud FA, et al. Antibiotic susceptibility testing of grown blood cultures by combining culture and real-time polymerase chain reaction is rapid and effective. *PLoS ONE*. 6(12): e27689.

10. Beuving J, Wolffs PFG, Hansen WLJ, et al. Impact of same-day antibiotic susceptibility testing on time to appropriate antibiotic treatment of patients with bacteraemia: a randomised controlled trial. *Eur J Clin Microb Infect Dis* 2015;34(4): 831-8.