

Afprøvning af ny metode for 16S/18S analysen

v/ María Kristín Björnsdóttir og Thomas Bjarnsholt

I foråret 2016 blev der implementeret en ny analysemetode for 16S/18S på KMA, med henblik på en forbedring af denne diagnostik.

Ved den nye metode bruges der UMD-SelectNA kit fra Molzym til at identificere bakterier og svampe i prøver fra patienter. Dette gøres ved at ekstrahere mikrobielt DNA fra intakte mikroorganismer i prøven (eukaryot DNA og frit mikrobielt DNA fjernes ved DNase behandling), opformere rRNA gener ved en Real-Time PCR og derefter sekventere de positive prøver.

Afprøvningen af denne metode er foregået i perioden juni-oktober 2015. I den forbindelse blev 87 prøver (57 vævsprøver, 27 væsker og 3 podninger) analyseret parallelt med den gamle metode for identifikation af bakterier og svampe. Resultatet af afprøvningen viste, at den nye metode fandt 26 positive, hvor rutinen fandt 12. Ud fra dette kan det konkluderes, at metoden er bedre end den tidligere anvendte metode til at identificere bakterier. På baggrund af disse tests blev metoden indført i rutinen i foråret 2016.

Driftsmæssigt løft

Samtidigt med indførelsen af den nye metode er der blevet hjemkøbt en maskine til DNA oprensning, SelectNA Plus instrumentet. Med denne nyanskaffelse har metoden medført en nedsat hands-on time for analysen. Maskinen kan køre 12 prøver i hver kørsel – dvs. 11 patientprøver og en negativ kontrol. 16S genet for bakterier og 18S genet for svampe opformeres efterfølgende ved en Real-Time PCR reaktion. Ved hjælp af en smeltepunktsanalyse inkluderet i PCR reaktionen kan man aflæse, om prøven er positiv. PCR produktet i de positive prøver sendes ud af afdelingen til sekventering. Negative prøver kan svares ud efter endt PCR. Dette resulterer i hurtigere svar. Real-Time PCR er desuden mere sensitiv end geler, da den kan registrere mindre mængder DNA, end man kan se med det blotte øje på geler.

Fagligt løft til diagnostikken

Metoden er mere sensitiv, hvilket vil sige, at den kan finde bakterier i et prøvemateriale med et lavere CFU. Samtidig er det meget vigtigt at gennemgå patienthistorien for at vurdere relevansen af fundene, da metoden er mere følsom over for kontaminering, netop fordi den kan detektere et meget lavt antal bakterier. En stor fordel ved metoden i forhold til den daværende metode er, at den indeholder flere kontroller, der kan fortælle, om processen er forløbet korrekt, dvs. om resultatet er pålideligt.