

**RAPPORT**

2023

STRATEGIMØTE 2021

# Mikrobiologisk diagnostikk av ortopediske infeksjoner

Program • Oppsummering • Bakgrunnsinformasjon

Redaktører:

Kjersti Wik Larssen

Dag Harald Skutlaberg

Therese Johansen

Karianne Wiger Gammelsrud

Anne Torunn Mengshoel

Strategimøte nr. 34, 2021

# MIKROBIOLOGISK DIAGNOSTIKK AV ORTOPEDISKE INFEKSJONER

27. oktober 2021, kl. 09.30 – 16.00

FHI, Marcus Thranes gt 6

## *Programkomité*

Dag Harald Skutlaberg

Karianne Wiger Gammelsrud

Therese Johansen

Kjersti Wik Larssen (leder)

Utgitt av Folkehelseinstituttet  
Område for smittevern  
Avdeling for bakteriologi  
Januar 2023  
Tittel: Mikrobiologisk diagnostikk av ortopediske infeksjoner

**Redaktører**

Kjersti Wik Larssen  
Dag Harald Skutlaberg  
Therese Johansen  
Karianne Wiger Gammelsrud  
Anne Torunn Mengshoel

**Publikasjonstype:**

Strategirapport

**Oppdragsgiver:**

Nasjonalt forum for medisinsk mikrobiologi ved Referansegruppen for ekstern kvalitetsvurdering i bakteriologi, mykologi og parasittologi

**Bestilling:**

Rapporten kan lastes ned som pdf  
på Folkehelseinstituttets nettsider: [www.fhi.no](http://www.fhi.no)

**ISBN elektronisk utgave**

**Sitering:** Wik Larsen K, Skutlaberg DH, Johansen T, Gammelsrud KW, Mengshoel AT. Mikrobiologisk diagnostikk av ortopediske infeksjoner. Rapport 2023. Oslo: Folkehelseinstituttet.

## **Forord**

Det 34. Strategimøte i regi av Referansegruppen for eksterne kvalitetsvurderinger i bakteriologi, mykologi og parasittologi omhandlet ortopediske infeksjoner og ble avholdt 27.10.2021 i FHIs lokaler i Marcus Thranes gt 6 i Oslo. På møtet deltok 34 personer fra landets medisinsk-mikrobiologiske laboratorier. I tillegg var 24 personer fra landets laboratorier påmeldt som digitale observatører.

Ansvarlig programkomité, som også har ferdigstilt denne avsluttende rapporten, var Dag Harald Skutlaberg, Karianne Wiger Gammelsrud, Therese Johansen og Kjersti Wik Larsen (leder).

Rapporten inneholder sammendrag med anbefalinger samt bakgrunnsinformasjon med innleggene som ble holdt på møtet. I tillegg er resultat av quest-back utsendt før møtet vedlagt rapporten. Sammendrag med anbefalinger er ført i pennen av program-komiteen i forståelse med de ansvarlige for innleggene i etterkant av møtet. Bakgrunnsinformasjonen er ført i pennen av de ansvarlige for innleggene i forståelse med programkomiteen, og ble sendt ut til deltakerne i forkant av møtet.

Programkomiteen arbeidet på oppdrag fra Referansegruppen for ringtester og strategimøter i bakteriologi, mykologi og parasittologi. Bak sistnevnte står Nasjonalt forum for medisinsk mikrobiologi, som er et kollegialt forum for mikrobiologer med medisinsk ansvar ved landets laboratorier, forankret i avtaler om nasjonalt samarbeid mellom Folkehelseinstituttet og de enkelte mikrobiologiske laboratoriene i Norge.

Rapporten gjenspeiler det samlede norske medisinsk-mikrobiologiske miljøets beste kunnskap og praksis for å sikre god kvalitet av diagnostikk av ortopediske infeksjoner i Norge.

Vi håper rapporten blir nyttig for de enkelte laboratoriene.

***Oslo, februar 2023***

***For Referansegruppen***

***Anne Torunn Mengshoel***

**Heidi C Villmones, Astri L Larsen, Kjersti Wik Larsen**

# INNHOOLD

<b>0. PROGRAM FOR MØTET</b> .....	<b>5</b>
<b>1. INNLEDNING</b> .....	<b>6</b>
<b>2. GENERELLE ANBEFALINGER</b> .....	<b>6</b>
2.1 PRØVETAKING .....	6
2.2 PRØVEFORSENDELSE OG OPPBEVARING .....	7
2.3 PRØVEPROSESSERING .....	8
2.4 DIREKTE MIKROSKOPI.....	8
2.5 DYRKINGSMEDIER OG INKUBASJON.....	8
2.6 BRUK AV ANRIKNING PÅ BLODKULTURMEDIE .....	10
2.7 BRUK AV PCR .....	11
2.8 SONIKERING.....	12
2.9 ANBEFALTE ANTIBIOTIKAPANELER .....	12
2.10 TROPISKE INFEKSJONER I BEIN OG LEDD .....	15
<b>3. INFEKSJONSSPESIFIKKE ANBEFALINGER</b> .....	<b>15</b>
3.1 PROTESEINFEKSJONER.....	15
3.2 DIABETEISKE FOTSÅR .....	17
3.3 AKUTT ARTRITT.....	18
3.4 OSTEOMYELITT .....	19
3.5 SPINALE INFEKSJONER .....	20
3.6 FRAKTURRELATERTE INFEKSJONER .....	21
3.7 BITTINFEKSJONER.....	22
<b>4. INNLEGGENE/BAKGRUNNSINFORMASJON</b> .....	<b>23</b>
4.1 PCR ANALYSER VED INFEKSJONER I BEN OG LEDD: NÅR OG MOT HVA? .....	23
4.2 PROTESEINFEKSJONER - MIKROBIOLOGISK DIAGNOSTIKK VED ORTOPEDISKE IMPLANTATINFEKSJONER .....	28
4.3 INFEKSJONER I DIABETISKE FOTSÅR - KLINISK DIAGNOSTIKK .....	33
4.4 MIKROBIOLOGISK DIAGNOSTIKK AV INFEKSJONER I DIABETISKE FOTSÅR.....	38
4.5 AKUTT ARTRITT HOS BARN OG VOKSNE.....	43
4.6 AKUTT OG KRONISK OSTEOMYELITT HOS VOKSNE OG BARN .....	47
4.7 MIKROBIOLOGISK DIAGNOSTIKK VED SPINALE INFEKSJONER .....	52
4.8 MIKROBIOLOGISK DIAGNOSTIKK VED FRAKTURRELATERTE INFEKSJONER.....	57
4.9 BITTINFEKSJONER.....	62
4.10 RESISTENSPANELER OG RESISTENSTESTING VED ORTOPEDISKE INFEKSJONER .....	67
4.11 TROPISKE/IMPORTERTE INFEKSJONER I BEIN OG LEDD. HVA MÅ MAN TENKE PÅ, OG HVOR OG HVORDAN STILLE DIAGNOSEN? .....	72
<b>5. VEDLEGG</b> .....	<b>78</b>
5.1 DELTAGERLISTE OG OBSERVATØRER.....	78
5.2 RESULTAT AV QUEST BACK.....	80

**PROGRAM STRATEGIMØTE 27.10.2021**  
**MIKROBIOLOGISK DIAGNOSTIKK AV ORTOPEDISKE INFEKSJONER**

<b>Tid</b>	<b>Tema</b>	<b>Innleder</b>
0930-0940	Velkommen og innledning	Kjersti Wik Larssen, St. Olav
0940-0950	Gjennomgang av spørreundersøkelse	Karianne W Gammelsrud, OUS
0950-1000	PCR analyser ved infeksjoner i bein og ledd: Når og mot hva.	Truls Leegaard, AHUS
1000-1015	Diskusjon	
1015-1030	<b>Kaffe</b>	
1030-1040	Proteseinfeksjoner- Mikrobiologisk diagnostikk ved ortopediske implantatinfeksjoner	Kåre Bergh, St. Olav
1040-1055	Diskusjon	
1055-1100	Infeksjoner i diabetiske fotsår - klinisk diagnostikk	Vegard Osland, ortoped, St. Olav
1100-1110	Mikrobiologisk diagnostikk av infeksjoner i diabetiske fotsår	Kjersti Wik Larssen, St. Olav
1110-1130	Diskusjon	
1130-1140	Akutt artritt hos barn og voksne	Therese Johansen, Bodø
1140-1150	Diskusjon	
1150-1200	Akutt og kronisk osteomyelitt hos voksne og barn	Kyriakos Zaragkoulias, Levanger
1200-1210	Diskusjon	
1210-1300	<b>LUNCH</b>	
1300-1310	Spinale Infeksjoner	Dag Harald Skutlaberg, Haukeland
1310-1325	Diskusjon	
1325-1335	Frakturrelaterte infeksjoner	Olaf Strømme, St.Olav
1335-1350	Diskusjon	
1350-1400	Bittinfeksjoner	Jørgen V Bjørnholt, OUS
1400-1415	Diskusjon	
1415-1425	Resistenspaneler og resistenstesting ved ortopediske infeksjoner	Arnfinn Sundsfjord, AFA
1425-1440	Diskusjon	
1440-1500	<b>Kaffe</b>	
1500-1510	Tropiske/importerte infeksjoner i bein og ledd. Hva må man tenke på, og hvor og hvordan stille diagnosen.	Frank Pettersen, OUS Kompetansesenter i tropemedisin
1510-1520	Diskusjon	
1520-1600	Oppsummering av dagen Anbefalinger og kontroverser	Programkomiteen

# 1 Innledning

Infeksjoner som blir omtalt her er infeksjoner relatert til bein og ledd, samt bløtdelsinfeksjoner hos diabetikere og etter bitt.

Anbefalingene er av praktiske årsaker denne gangen delt inn i to hovedkategorier.

Avsnitt 2 er generell og omhandler tematikk som er relevant for alle de ulike infeksjonene, inklusive PCR metodikk og importerte/ tropiske infeksjoner. Dette for å presisere hva som gjelder uavhengig av infeksjonstype eller lokalisasjon, og for å unngå mye overlapp/ repetisjon i anbefalingene. I avsnitt 3 kommer utdypende anbefalinger som er mer tilpasset ulike infeksjonstyper. Del 3 inneholder vedlegg med de opprinnelige innleggene samt resultater av spørreundersøkelse og deltagerliste.

## 2 Generelle anbefalinger

### 2.1 Prøvetaking

Det er for alle typer ortopediske infeksjoner anbefalt å ta rikelig med prøvemateriale.

Biopsier bør være store, gjerne ca. 1g/ 1cm<sup>3</sup>. I tillegg til økt sensitivitet ved dyrkning, vil større biopsier bevare anaerobe forhold bedre dersom prøvematerialet sendes på sterilt glass. For fremmedlegemeassosierte infeksjoner som proteseinfeksjoner og frakturrelaterte infeksjoner, er det konsensus internasjonalt om at 5 biopsier bør tas, hvor én av prøvene eventuelt kan være synovialvæske. Dette for å gi økt sensitivitet og forenkle tolkning av signifikant vekst versus kontaminasjon. Også for øvrige infeksjoner vil flere biopsier gi økt sensitivitet og forenkle tolkning, så 3-5 biopsier bør være en generell anbefaling ved biopsier også fra andre typer ortopediske infeksjoner. Rekvirent må merke hver enkelt prøve med hvor de er tatt fra.

For aspirat (leddvæske eller abscesser) anbefales også størst mulig volum, minimum 1 ml, helst > 2 ml. Større volum vil bedre overlevelse av anaerobe bakterier.

Ulike biopsier skal legges på separate glass for å unngå kontaminasjon mellom prøver. Det anbefales også bytte av prøvetakingsutstyr mellom hver biopsi.

For CT veiledede biopsier som ofte er små, er det viktig at disse legges i ulike glass dersom ulike analyser som sopp og mykobakteriediagnostikk ønskes.

Prøve fra fistelåpninger eller andre ikke-sterile områder anbefales ikke på grunn av lav representativitet med hensyn til dypereleggende infeksjon.

Penselprøver anbefales generelt ikke for ortopediske infeksjoner da sensitiviteten er lav på grunn av lite prøvevolum. I tillegg er fare for kontaminasjon med hudflora større.

Penselprøve med flytende Amies transportmedium er dog vist å kunne bevare levedyktige anaerobe i opptil 24 t. Penselprøve kan aksepters i situasjoner der det ikke er mulig å benytte annet transportmedium, som for eksempel bittinfeksjoner fra primærhelsetjenesten.

## 2.2 Prøveforsendelse og oppbevaring

Det anbefales at prøver sendes laboratoriet raskest mulig etter prøvetaking. Viktige prøver på alvorlige infeksjoner bør fortrinnsvis avtales/varsles på forhånd.

Prøver sendes på sterile glass tilsatt litt fysiologisk saltvann for å forhindre uttørking dersom rask forsendelse og utsæd er mulig (optimalt).

Prøver på anaerobt transportmedium (ATM) anbefales dersom prøveutsæd innen 2 timer ikke er mulig. Disse sås ut så fort som mulig og innen 24 timer. Opptil 48 timer kan aksepteres ved bruk av ATM. Optimale anaerobe transportmedier er oksygenfrie transportrør/ beholdere med pre-reduerte og anaerobt steriliserte medier (PRAS). Hvis dette ikke er tilgjengelig kan Stuart eller Amies transport medier (gel form) produseres i lab, og tas på sterile transportbeholdere med skrukork. Flere kan også kjøpes kommersielt, men merk at mange av disse kun tilbys på rør for pensler og er mindre hensiktsmessige for biopsier. Biopsier skal dyttes dypt ned i agaren. Eksempler på transportmedier er vist i Tabell 1. Fordeler og ulemper ved ulike agarer må vektes i forhold til hva slags prøvematerialer man eventuelt ønsker å benytte de til utover biopsier fra muskel og skjelett.

Aspirat kan sendes på igjenkorket sprøyte eller på sterilt glass, eventuelt også inokulert på blodkulturmedium (aerobt og eventuelt anaerobt). Sistnevnte vil særlig være viktig og en stor fordel ved lang avstand til laboratoriet.

**Tabell 1 Eksempler på anaerobe transport medier (ATM)**

Navn	Leverandør	Kommentar
Stuarts medium	Produseres på lab etter oppskrift	Bl.a Thermo Fisher Scientific dehydrert pulver (CM0111)
Amies medium	Produseres på lab etter oppskrift	Bl.a Thermo Fisher Scientific dehydrert pulver (CM0425)
Anaerobic Transport System	Anaerobe systems	Prereduserte anaerobt steriliserte beholdere (PRAS). Ikke kommersielt tilgjengelig i Norge eller Europa per sept 2022. Fins i ulike beholdere tilpasset biopsier, væsker og pensler.
Port-A-cul Transport System	Beckton Dickinson	Redusert transportmedium med indikatorsystem. Bevarer anaerobe, aerobe og fakultative i opptil 72t ved 20-25°C. Fins med skrukork for biopsier, beholdere for væsker og rør for pensler. Foreløpig ikke markedsført i Norge, men fins og er godkjent i Europa.

Prøver bør oppbevares i romtemperatur dersom rask utsæd innen oppgitt anbefaling er mulig. Dersom prøver ikke kan sås ut raskt bør de oppbevares i kjøleskap, men dette vil forringe dyrkning av anaerobe og sopp. Det vises også til anbefaling fra Strategimøtet i 2009 om anaerob diagnostikk, [Strategimøte 2009: Anaerob diagnostikk - FHI](#), Tabell 2 er modifisert fra denne.

For sopp og mykobakterier vises i tillegg til egne strategirapporter:

<https://www.fhi.no/publ/strategimoter/strategimote-nr-27-2013-soppinfeksjoner/>

<https://www.fhi.no/publ/strategimoter/strategimote-nr-30-2016-mykobakteriediagnostikk/>



**Tabell 2 Anbefalt prøveforsendelse**

Prøvemateriale	Optimal transporttid	Kommentarer
<b>Aspirat</b> Steril beholder/sprøyte med kork < 1ml 1-2 ml >2ml	≤ 10 min ≤ 30 min ≤ 2-3 timer	Luft kan i løpet av 30 min. gradvis diffundere gjennom plastsprøyten. Mindre volumer bør derfor transporteres i egnet anaerob transportsystem. Send penselprøve i tillegg dersom anaerob transportsystem ikke benyttes.
<b>Vev eller biopsi</b> I steril beholder I anaerobt transportsystem	≤ 30 min ≤ 2-3 timer	Større vevsbiter og aspirat > 2ml aksepteres for anaerob dyrkning i inntil 24 timer

## 2.3 Prøveprosessering

Prøver tatt sterilt bør håndteres i BSL2 kabinett for å unngå kontaminasjon av prøvematerialet.

Homogenisering av vev er viktig før utsæd. Homogeniseringen (mekanisk) kan utføres i Fast-prep eller tilsvarende, eller manuelt i steril morter.

For eventuell soppdyrkning må vevet tas av til dyrkning før homogenisering.

Leddvæske sentrifugeres (1200xg i 5-10min) før utsæd og mikroskopi, dersom adekvat volum (minimum 1 ml) og den ikke er for seig eller purulent.

## 2.4 Direkte mikroskopi

Direkte mikroskopi har begrenset sensitivitet, særlig ved kroniske infeksjoner, men god spesifisitet. Analysen er rask og rimelig, og kan være et nyttig supplement til dyrkning forutsatt at prøven ankommer i laboratoriets åpningstid eller laboratoriet har vaktordning. Mikroskopi gir mulighet til å korrelere vekst med mikroskopifunn (mikrober og leukocytter). Det var konsensus om at mikroskopi utføres ut fra klinisk informasjon heller enn ut fra rekvisitens ønske. Penselprøver er mindre egnet til direkte mikroskopi og her utføres dette kun unntaksvis dersom annet prøvemateriale ikke foreligger og klinikken tilsier at det er aktuelt.

Direkte mikroskopi utføres:

- Alltid ved akutte infeksjoner og alvorlig klinikk
- Som regel ikke på lavgradige, kroniske infeksjoner eller revisjonsproteser
- Se Tabell 3 under avsnitt 2. 5.

## 2.5 Dyrkingsmedier og inkubasjon

Det var konsensus om valg av standard aerobe og anaerobe medier for de ulike infeksjonstypene, se Tabell 3. I tillegg kan **supplerende agarer** vurderes ved enkelte infeksjoner ut fra tilgjengelighet og klinikk.

Selektiv stafylokokk agar kan vurderes som supplement der polymikrobiell infeksjon er vanlig, men er ikke obligatorisk. Selektive anaerobe agarer kan vurderes som et supplement på bittinfeksjoner og alvorlige diabetes fot infeksjoner. Dette vil kunne lette identifikasjon/ren-dyrkning og spare tid i videre arbeid med prøvene.

Selektive soppmedier må vurderes som supplement, også når det ikke er rekvirert, ved alvorlige infeksjoner, åpne frakturer og hos immunsupprimerte pasienter.

Anrikingsbuljong anbefales sterkt på vevsbiopsier og leddvæsker. Det bør benyttes en thioglycolatbuljong (med hemin og vitaminK) eller tilsvarende som gir anaerobe forhold ved deponering av materialet i bunnen. Det fins flere kommersielle leverandører som selger medier tilsatt thioglycolat (reduserer oksygen til vann) sammen med litt agar (begrenser også O<sub>2</sub> diffusjon) og en pH indikator (ofte Resazurin).

**Tabell 3 Dyrkingsmedier og atmosfære**

Infeksjonstype	Direkte mikroskopi <sup>1</sup>	Primære dyrkingsmedier og atmosfære			
		Aerob, 5-10%CO <sub>2</sub>	Anaerob	Anrikning Luft/CO <sub>2</sub>	Subkultur <sup>7</sup>
<b>Proteseinfeksjon</b>	Ved akutt infeksjon	Blod Sjokolade	Uselektiv <sup>2</sup>	Buljong <sup>5</sup> Blodkultur <sup>6</sup>	Aer: Sjokolade Ana: Blod <sup>8</sup>
<b>Diabetiske fotsår</b>	Ved akutt infeksjon/ ut fra klinikk	Blod Sjokolade Selektiv Gram-negativ Vurder: Selektiv stafylokokk	Uselektiv <sup>2</sup> Vurder selektiv <sup>3</sup>	Buljong	Aer: Sjokolade Ana: Uselektiv <sup>2</sup>
<b>Akutt artritt</b>	Ved akutt infeksjon/ ut fra klinikk	Blod Sjokolade	Vurder uselektiv <sup>4</sup>	Buljong <sup>5</sup> og/eller Blodkultur <sup>6</sup>	Aer: Sjokolade + blod Ana: Uselektiv <sup>2</sup>
<b>Osteomyelitt</b>	Ved akutt infeksjon/ ut fra klinikk	Blod Sjokolade Selektiv Gram-negativ	Uselektiv <sup>2</sup>	Buljong <sup>5</sup>	Aer: Sjokolade Ana: Uselektiv <sup>2</sup>
<b>Spinale infeksjoner</b>	Ut fra klinikk og tilgjengelig materiale	Blod Sjokolade	Uselektiv <sup>2</sup>	Buljong <sup>5</sup> Blodkultur <sup>6</sup>	Aer: Sjokolade Ana: Uselektiv <sup>2</sup>
<b>Fraktur relatert infeksjon</b>	Ved akutt infeksjon/ ut fra klinikk	Blod Sjokolade Selektiv Gram-negativ	Uselektiv <sup>2</sup>	Buljong <sup>5</sup> Leddvaske på Blodkultur <sup>6</sup>	Aer: Sjokolade Ana: Uselektiv <sup>2</sup>
<b>Bittinfeksjon</b>	Ved akutt infeksjon/ ut fra klinikk	Blod Sjokolade Selektiv Gram-negativ Vurder: Selektiv stafylokokk	Uselektiv <sup>2</sup> Vurder selektiv <sup>3</sup>	Buljong <sup>5</sup> Blodkultur <sup>6</sup>	Aer: Sjokolade Ana: Uselektiv <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Nedprioriteres dersom lite eller ikke adekvat prøvemateriale

<sup>2</sup> Fastidious anaerobic agar (FAA) eller tilsvarende med metronidazol lapp, se [Strategimøte 2009: Anaerob diagnostikk - FHI](#)

<sup>3</sup> Som over med tilsetning av for eksempel Kanamycin-Vankomycin i en agar og Neomycin i en annen.

<sup>4</sup> Behøver ikke alltid inngå i stadardutsæd. Se avsnitt 3.3 Akutt artritt.

<sup>5</sup> Anrikningsbuljong som gir anaerobe forhold ved deponering i bunn av buljongen: For eksempel Thioglycolat buljong

<sup>6</sup> Leddvæske eller homogenisert vev deponeres (0,5-1 ml) i aerob og anaerob blodkulturflaske (m/ supplement ihht leverandør) Ved lite materiale prioriteres aerob flaske på septisk artritt og anaerob flaske på bittinfeksjoner.

<sup>7</sup> Subkultur fra anrikningsbuljong ved synlig vekst og/eller terminal subkultur dersom ingen synlig vekst etter inkubasjonstid

<sup>8</sup> For proteseinfeksjoner velges blod fremfor uselektiv anaerob agar (FAA) ved subkultur for lettere å kunne identifisere småkolonvarianter (Small colony variants, SCV)

Det var stort sett konsensus om anbefalte inkubasjonstider. Kapasitet i anaerobkolber/kammer og i blodkulturinkubatorer vil imidlertid påvirke mulighet for varighet av inkubasjon i enkelte laboratorier. Det er derfor anbefalt minimum dyrkningstid som er oppsummert i Tabell 4. Lenger dyrkning kan vurderes som standard på alle prøver, dersom laboratoriet har

kapasitet til det. Ellers bør det alltid gjøres på utvalgte prøver ut fra en klinisk vurdering og kvalitet på prøvematerialet.

- Aerob dyrkning (faste medier): Minst 2 dager. Ved implanterte fremmedlegemer 5 dager. Terminal subkultur av buljong på dag 5 dersom ingen vekst.
- Anaerob dyrkning (faste medier): Minst 3 dager. Ved implanterte fremmedlegemer og andre biofilmassosierte infeksjoner 5 dager. Terminal subkultur av buljong på dag 5 dersom ingen vekst.
- Subkultur fra anrikningsbuljong: Aerobt på sjokolade (evt blod med *S. aureus* stripe), anaerobt på FAA (med Metronidazol lapp dersom mistenkt polymikrobiell infeksjon). Det er i de fleste situasjoner tilstrekkelig med 5 dagers dyrkning av buljong med terminal subkultur i 3 dager dersom ingen vekst. Totalt 8 dagers dyrkning.
- Vær OBS på ulike kolonivarianter (inklusive small colony variants (SCV), som gjerne dukker opp dag 3-4 for Stafylokokker). Alle ulike fenotyper bør resistenstestes.
- Forlenget inkubasjon (opptil 14 d) er aktuelt ved mistanke om aktinomykose/ mycetom og kan også vurderes på utvalgte pasienter med fremmedlegemeinfeksjoner, særlig ved sterk klinisk mistanke om infeksjon, og spesielt med tanke på *Cutibacterium acnes*.

#### Tabell 4. Anbefalte inkubasjonstider.

Gjelder de dyrkningsmediene som er angitt i Tabell 3.

Infeksjonstype	Inkubasjonstid				
	Aerob 5-10% CO <sub>2</sub>	Anaerob	Anrikning Luft/ CO <sub>23</sub>	Subkultur <sup>3</sup>	Forlenget inkubasjon <sup>4</sup>
Proteseinfeksjon	5d	5d	5d Blodkultur aerob:5-7d Blodkultur anaerob: 14d	3d	Omdiskutert Nyere studier angir 10-11 dager som tilstrekkelig for <i>C. acnes</i>
Diabetiske fotsår	2d	3-5d	5d	3d	Vurderes ved negativ dyrkning dersom osteomyelitt
Akutt artritt	2-5d <sup>1</sup>	3-5d	5d Blodkultur 5-7d	48t	Vurderes ved negativ dyrkning
Osteomyelitt	2d <sup>1</sup>	5d	5d	48t	Vurderes ved negativ dyrkning
Spinal infeksjon	2d <sup>1</sup>	5d	5d Blodkultur 5-7d	48t	Vurderes ved negativ dyrkning
Fraktur relatert infeksjon	2-5d	5d	5d Blodkultur 5-7d	3d	Vurderes ved negativ dyrkning
Bittinfeksjon	2-5d <sup>2</sup>	3-5d	5d Blodkultur 7d <sup>5</sup>	3d	Omdiskutert

<sup>1</sup> 2 dager er minimumsdyrkning. 5 dager bør benyttes på barn under 5 år og ved implanterte fremmedlegemer.

<sup>2</sup> 2 dager er minimumsdyrkning på penselprøver/ukomplisert infeksjon. 5 dager er minimum på vev/aspirat/pus/eksudat (komplisert tilstand). Tilpasninger må vurderes i lys av klinikk og vekst.

<sup>3</sup> Subkultur fra anrikningsbuljong ved synlig vekst og/eller terminal subkultur dersom ingen synlig vekst etter inkubasjonstid

<sup>4</sup> Vurderes dersom ingen vekst etter standarddyrkning/ ut fra klinikk. Gjelder alle dyrkningsmedier.

<sup>5</sup> Kun dersom rikelig materiale. Anaerob flaske prioriteres før aerob.

## 2.6 Bruk av anrikning på blodkulturmedie

Anrikning av prøvematerialet på blodkulturmedie som et supplement til vanlig dyrkning øker sensitiviteten og gir raskere svar. Dette er spesielt dokumentert for aerobe flasker. Analysen er særlig viktig hos barn/ ved mistanke om *Kingella kingae*. Aerob flaske (inklusive pediatrik

flaske) må benyttes dersom man skal benytte kun én flaske. Den anaerobe flasken gir mindre gevinst, og den kan foreløpig ikke anbefales å erstatte anaerobt flytende medie (thioglycolatbuljong) ved fremmedlegemeinfeksjoner da dagens blodkulturmedier støtter vekst av *C. acnes* for dårlig.

## 2.7 Bruk av PCR

Det var konsensus om at PCR analyser direkte i prøvemateriale kan være et nyttig supplement til dyrkning, både agensspesifikke PCR og generell PCR (16S rDNA for bakterier, ITS2 for sopp). PCR kan ikke erstatte dyrkning som alltid skal gjøres. PCR kan bidra til at flere mikrober påvises og til å forkorte svartid. Prøvemateriale innsendt på sterilt glass, sprøyte eller anaerobt transportmedium (flytende eller fast) kan alle benyttes til PCR diagnostikk, men man bør følge det lokale laboratoriets anbefaling. Funn ved dyrkning og PCR må sammenholdes før besvaring, og usikre resultat bør kommenteres i svaret og/eller diskuteres med kliniker. Det anbefales PCR i situasjoner som beskrevet i Tabell 5.

**Tabell 5. Anvendelse av PCR**

Type infeksjon	Protese infeksjon	Diabetiske fotsår	Akutt artritt	Osteomyelitt	Spinale infeksjoner	Fraktur relatert infeksjon	Bitt infeksjoner
PCR når*	16S PCR vurderes v/negativ dyrkning	Ikke rutine	<i>K. kingae</i> PCR: barn <5 år  16S PCR vurderes v/negativ dyrkning	<i>K. kingae</i> PCR: barn <5 år  16S PCR vurderes v/negativ dyrkning	16S PCR vurderes v/negativ dyrkning	16S PCR vurderes v/negativ dyrkning	Ikke rutine

\*Agensspesifikke PCR vurderes i tillegg ut fra mistenkt etiologi.

### *Kingella kingae* PCR

*K. kingae* PCR anbefales på vev og leddvæsker fra barn < 5 år ved osteomyelitt og artritt, for å øke sensitiviteten og gi kortere svartid.

Det var noe kontrovers om bruk av *K. kingae* PCR på halsprøver. Det ble konsensus om at det kan være et nyttig supplement, særlig ved osteomyelitt, dersom prøve fra infeksjonsfokus ikke er mulig å ta. En negativ hals PCR svekker sannsynligheten for *K. kingae* infeksjon. I revidert pediatri-veileder (2021) står det at *K. kingae* PCR kan vurderes på halsprøver for både osteomyelitt og septisk artritt. *K. kingae* PCR på halsprøve utføres ikke dersom mer representativt prøvemateriale fra infeksjonsstedet er mottatt, men avvises ellers ikke. PCR positiv halsprøve uten annet prøvemateriale kan eventuelt kommenteres med: «Bærerskap av *K. kingae* i hals hos barn under 4 år er vanlig. Relevans av funn må vurderes i lys av klinikk».

### *Staphylococcus aureus* PCR

Det var konsensus om at *S. aureus* spesifikk PCR (for eksempel *nuc* PCR) kan vurderes ved manglende vekst dersom klinisk mistanke, særlig på akutte infeksjoner og dersom antibiotika er gitt før prøvetaking.

## 16S PCR

Det var konsensus om at bruk av 16S PCR bør begrenses til situasjoner med sterk klinisk mistanke om infeksjon og manglende vekst, særlig dersom antibiotika er gitt før prøvetaking. Optimalisert dyrkning er mer sensitiv enn 16S PCR, og nytten er trolig mindre enn mange klinikere ser for seg. En negativ 16S PCR utelukker ikke infeksjon. Dersom 16S PCR utføres, bør det gjøres på alle tilsendte biopsier, og vurdering av relevans av funn bør følge samme prinsipper som for dyrkning. En bit av biopsien tas av til PCR DNA ekstraksjon før prøveprosessering i lab (før homogenisering). For laboratorier som ikke utfører 16S PCR selv er det en fordel om at prøvemateriale til 16S PCR tas på eget prøveglass.

### *Cutibacterium acnes* PCR

Analysen bør trolig etableres/tas i bruk i større grad ved flere laboratorier, men det er viktig å være klar over hyppig kontaminasjonsproblematikk med *C. acnes*-DNA i reagenser. Klare regler for cut-off grenser må defineres før bruk.

PCR utført på vev kan bidra til å påvise agens i flere prøver, få raskere svar og bidra i vurdering av om *C. acnes* påvist ved dyrkning, kan skyldes kontaminasjon av agar i laboratoriet. Kontaminasjon av prøvematerialet er et problem ved både dyrkning og PCR, og alle biopsier bør undersøkes med PCR for å forenkle tolkning jamfør kriterier for dyrkning.

### Øvrig PCR

Mange ulike PCR er etablert i varierende grad i landet. Spesifikke PCR vil være mer sensitive enn 16S PCR. Bruk kan vurderes ut fra klinikk og mistenkt etiologi, som f.eks. *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae* (GBS), *Borrelia* spp. eller *K. kingae* hos andre aldersgrupper enn barn.

## 2.8 Sonikering

Sonikering er ofte nevnt eller anbefalt i internasjonale guidelines ved diagnostikk av fremmedlegemeinfeksjoner, særlig for proteseinfeksjoner. Sonikering benyttes per i dag ikke som rutinediagnostikk på norske laboratorier, og kun ett laboratorium har tilgang til utstyr. Det var konsensus om at nytteverdien fortsatt er omdiskutert, og at for proteseinfeksjoner vil effekten av sonikering ikke være større enn optimalisering av dyrkning (inklusive tilsetning av vev på blodkulturmedier). For frakturrelaterte infeksjoner er nytteverdien foreløpig ikke godt avklart.

Metoden krever gode rutiner og opplæring. Kontaminasjonsproblematikk er betydelig, og man må være klar over at de nye EBJIS (European Bone and Joint Infection Society) guidelines har veldig lav grenseverdi for CFU/ml. Dersom laboratorier har metodikk, og gode rutiner etableres, kan sonikering vurderes på utvalgte pasienter etter forhåndsavtale mellom laboratoriet og ortoped.

## 2.9 Anbefalte antibiotikapaneler

Det var konsensus om foreslåtte paneler. Se Tabell 6 og 7.

Ved vekst av kolonivarianter (inklusive small colony variants, SCV) skal alle ulike fenotyper resistenstestes. Dette gjelder særlig Stafylokokker.

For valg av midler i behandling henvises det til nasjonale retningslinjer om antibiotika bruk i sykehus [Ben- og leddinfeksjoner - Helsedirektoratet](#) samt til det Svenske [Vårdprogram för Led- och skelettinfeksjoner 2018](#) som har god informasjon om antibiotikabehandling av bein- og leddinfeksjoner.

SIR kategorisering tolkes i henhold til Nordicast brytningspunkttabeller. Det anbefales artsuavhengige PK/PD brytningspunkt for fakultative mikrober som ikke har spesifikke brytningspunkt. For anaerobe mikrober uten brytningspunkt følges anbefalingene i EUCAST dokumentet [When there are no breakpoints Guidance 1 Dec 2021.pdf \(eucast.org\)](#) Antibiotika rapporteres selektivt i henhold til anbefalinger fra AFA.

**Tabell 6. Anbefalte resistenspaneler ved ortopediske infeksjoner**

Agens	Antibiotika	Kommentarer
<b>Gram-positive</b>		
<b>Stafylokokker<sup>1</sup> -Meticillin-følsomme</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Benzylpenicillin</li> <li>• Cefoxitin</li> <li>• Fusidinsyre</li> <li>• Klindamycin</li> <li>• Tetracyclin</li> <li>• Trimetoprim-sulfametoksazol</li> <li>• Ciprofloksacin*</li> <li>• Rifampicin*</li> </ul>	* Alltid teste, men besvares kun rutinemessig ved protese-/fremmedlegeme-infeksjon.
<b>Stafylokokker -Meticillin-resistente</b>	Som over unntatt betalaktamer + <ul style="list-style-type: none"> <li>• Daptomycin</li> <li>• Linezolid</li> <li>• Vankomycin</li> </ul>	
<b>Streptokokker</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Benzylpenicillin</li> <li>• Klindamycin</li> <li>• Tetracyclin</li> <li>• (Moksifloksacin)</li> <li>• Trimetoprim-sulfametoksazol</li> </ul>	Følsomheten for penicilliner og cefalosporiner hos streptokokker gruppe A, B, C og G tolkes ut i følsomheten for benzylpenicillin. Hos viridansstreptokokker benyttes benzylpenicillin som screening for følsomheten for betalaktamer. Ved nedsatt følsomhet (screen positiv) må følsomheten relevante betalaktamer (ampicillin, cefuroksim, cefotaksim) testes individuelt.
<b>Enterokokker -Ampicillin-følsomme</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ampicillin</li> <li>• Gentamicin</li> <li>• Linezolid</li> <li>• Vankomycin</li> </ul>	Alle invasive enterokokker skal screenes for resistens mot linezolid og vankomycin
<b>Enterokokker -Ampicillin-resistente</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Daptomycin</li> <li>• Gentamicin</li> <li>• Linezolid</li> <li>• Vankomycin</li> </ul>	
<b>Gram-negative</b>		
<b><i>Enterobacterales</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cefotaksim</li> <li>• Ciprofloksacin</li> <li>• Gentamicin</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Piperacillin-tazobaktam</li> <li>• Trimetoprim-sulfametoksazol</li> </ul>	Ved multiresistens er det også aktuelt å undersøke følsomheten for cefiderocol, ceftazidim-avibaktam, imipenem-relebaktam, kolistin og meropenem-vaborbaktam.
<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ceftazidim</li> <li>• Ciprofloksacin</li> </ul>	Ved multiresistens er det også aktuelt å undersøke følsomheten for cefiderocol,

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Piperacillin-tazobactam</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Tobramycin</li> </ul>	ceftazidim-avibaktam, ceftolozan-tazobaktam, imipenem-relebaktam, kolistin og meropenem-vaborbaktam.
<b><i>Acinetobacter</i> spp.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ciprofloksacin</li> <li>• Trim-sulfametoksazol</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Tobramycin</li> </ul>	Ved multiresistens er det også aktuelt å undersøke følsomheten for ampicillin-sulbactam, cefiderocol og kolistin. Imipenem-relebaktam og meropenem-vaborbaktam kan også være aktuelt ved ESBL-karba gruppe A.
<b>Anaerob<sup>2</sup></b>		
<b>Gram-positive</b> (Peptostreptokokker, <i>Fingoldia</i> spp.)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Benzylpenicillin</li> <li>• Klindamycin</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Metronidazol</li> <li>• Piperacillin-tazobaktam</li> </ul>	Ved blandingsinfeksjoner kan det være aktuelt å undersøke følsomhet for andre antibiotika inkludert vankomycin.
<b><i>Cutibacterium acnes</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Benzylpenicillin</li> <li>• Klindamycin</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Piperacillin-tazobaktam</li> </ul>	<i>C. acnes</i> er iboende resistent mot metronidazol. Ved blandingsinfeksjoner kan det være aktuelt å undersøke følsomhet for en rekke ulike antibiotika. <i>C. acnes</i> er følsom for alle betalaktamer, daptomycin, kinoloner, linezolid, rifampicin, trimetoprim-sulfametoksazol og vankomycin.
<b>Gram-negative</b> ( <i>Bacteroides</i> spp., <i>Prevotella</i> spp., <i>Fusobacterium</i> spp.)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amoksicillin-klavulansyre</li> <li>• Benzylpenicillin</li> <li>• Klindamycin</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Metronidazol</li> <li>• Piperacillin-tazobaktam</li> </ul>	<i>Bacteroides</i> spp. er iboende resistente mot penicilliner og cefalosporiner på grunn av kromosomale betalaktamaser.

<sup>1</sup> *mecA* PCR bør utføres liberalt på kompliserte KNS infeksjoner som kategoriseres S for Cefoxitin. Jo mindre vanlig species og/eller jo nærmere brytningspunktet man er ved lappediffusjon, jo sterkere er anbefalingen. *mecC* er foreløpig ikke beskrevet hos *S. epidermidis*, men kan vurderes på mindre vanlige KNS infeksjoner.

<sup>2</sup> For species og antibiotika som ikke er nevnt her henvises til EUCAST/NordicAST retningslinjer for testing og tolkning. EUCAST arbeider med å utvide antibiotikapaneler og speciesspesifikke brytningspunkter for anaerobier.

**Tabell 6. Anbefalte resistenspaneler ved bittrelaterte infeksjoner med HACEK- gruppen eller *Pasteurella* spp**

Agens	Antibiotika	Kommentarer
<b>HACEK-gruppen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amoksicillin + klavulansyre</li> <li>• Benzylpenicillin</li> <li>• Cefotaksim</li> <li>• Ciprofloksacin</li> <li>• Erytromycin</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Tetracyclin</li> <li>• Trimetoprim-sulfametoksazol</li> </ul>	AFAs anbefalinger for selektiv rapportering gjelder.
<b><i>Pasteurella</i> spp.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amoksicillin + klavulansyre</li> <li>• Ampicillin</li> <li>• Amoksicillin</li> <li>• Benzylpenicillin</li> <li>• Cefotaksim</li> <li>• Ciprofloksacin</li> <li>• Doksisyklin</li> <li>• Trimetoprim-sulfametoksazol</li> </ul>	AFAs anbefalinger for selektiv rapportering gjelder.

## 2.10 Tropiske infeksjoner i bein og ledd

Detaljerte anbefalinger for mykologisk, parasittologisk og bakteriologisk diagnostikk for alle aktuelle agens er ikke mulig. Innlegget gir en god oversikt over temaet. Det var konsensus om følgende:

- God diagnostikk forutsetter reiseanamnese, sykehistorie inklusive aktiviteter (arbeid, fritid, dyrekontakt) og supplerende undersøkelser (radiologi).
- Spesialist i infeksjonssykdommer eller kompetanstjenester for import- og tropesykdommer bør rådføres for mulige differensialdiagnoser før prøvetaking.
- Dialog mellom kliniker og laboratorium før prøvetaking er essensielt for å planlegge prøvetaking, prøvevolum, forsendelse, aktuelle analyser og eventuell videreforsendelse til annet laboratorium.
- Valg av påvisningsmetode/analyse styres av mistenkt agens og tilgjengelig prøvemateriale.
- Vær oppmerksom på behov for eventuelle tilleggsmidier og/eller forlenget inkubasjonstid for enkelte bakterier og sopp.
- Vær OBS på mulighet for P3 agens (f.eks *Brucella* spp., endemiske mykoser)
- For rådgiving kan følgende **kompetansetjenester for import og tropesykdommer** kontaktes:
  - Regional kompetansetjeneste for import- og tropesykdommer, HSØ-RHF, Oslo universitetssykehus, Ullevål: <https://oslo-universitetssykehus.no/avdelinger/medisinsk-klinikk/infeksjonsmedisinsk-avdeling/regional-kompetansetjeneste-for-import-og-tropesykdommer>
  - Nasjonal kompetansetjeneste for tropiske infeksjonssykdommer, Haukeland universitetssykehus: <https://helse-bergen.no/nasjonal-kompetansetjeneste-for-tropiske-infeksjonssykdommer>
- For rådgiving/informasjon om mikrobiologisk diagnostikk henvises det til:
  - Referanselaboratoriene i parasittologisk diagnostikk, OUS og UNN: [www.parasittdiagnostikk.no](http://www.parasittdiagnostikk.no)
  - Nasjonalt beredskapslaboratorium, Avdeling for bakteriologi, FHI: <https://www.fhi.no/nettpub/veileder-for-mikrobiologiske-laboratorieanalyser/import--og-beredskapsdiagnostikk/beredskapsdiagnostikk/?term=&h=1>
  - Folkhälsomyndigheten: [www.folkhalsomyndigheten.se](http://www.folkhalsomyndigheten.se)
  - Statens seruminstitut: [www.ssi.dk](http://www.ssi.dk)
  - [Nasjonalt referanselaboratorium for medisinsk mykologi - Oslo universitetssykehus \(oslo-universitetssykehus.no\)](https://www.oslo-universitetssykehus.no)

## 3 Infeksjonsspesifikke anbefalinger

### 3.1 Proteseinfeksjoner

Det anbefales og var konsensus om følgende:

*Prøvetaking, utsåing og inkubasjonstid:*

- 5 prøver til dyrkning (5 vev eller 4 vev + leddvæske tatt per operativt)
- Ved mottak av > 5 vev kan 2 og 2 biopsier slås sammen dersom de er fra samme område
- Utsæd på faste medier og med anriking i henhold til Tabell 3 i avsnitt 2.5 under generelle anbefalinger.
- Dyrkningstid: 8 dager totalt (5 dager primærutsed + 3 dager subkultur av anrikingsbuljong)



- Eventuell forlenget inkubasjon i opptil 14 dager vurderes individuelt. Aktuelt ved kroniske infeksjoner der ingen vekst etter vanlig inkubasjonstid. Vær særlig OBS på pasienter som har hatt negative dyrkningsprøver tidligere og kommer til ny revisjon.
- Penselprøve og prøve fra fistelåpning/ fistelganger frarådes
- Mikroskopi anbefales kun ved akutte infeksjoner

Det var noe kontrovers rundt bruk av anrikningsbuljong:

- Det er imidlertid dokumentert i studier at bruk av anaerob anrikningsbuljong med thioglycolat eller tilsvarende i 5 dager med terminal subkultur i 3 dager øker sensitiviteten ved diagnostikk. Anvendelse anbefales.

Det var noe diskusjon rundt bruk av anrikning på blodkulturmedier, men:

- Anrikning på aerob og anaerob blodkulturflaske anbefales brukt i større grad, særlig på lavgradige infeksjoner. For akutte infeksjoner er nytten lavere.
- Kapasitet i blodkulturskap påvirker mulighet for anvendelse. Tilsetning til flaskene bør følge leverandørs anbefaling.
- Dersom man bruker thioglycolatbuljong med terminal subkultur aerobt og anaerobt, er det tilstrekkelig at kun aerob blodkulturflaske benyttes.
- Anaerob flaske uten resinkuler må inkuberes i 12 dager for *C. acnes*, men thioglycolatbuljong er et bedre alternativ.
- Anrikning på blodkulturflasker bør ikke erstatte dyrkning på faste medier.

*Vurdering av vekst:*

- Funn av samme mikrobe i minst to vev er kriteriet for infeksjon. Funn i 1 av 5 vev er sannsynlig forurensing med mindre det er en åpenbar patogen (*S. aureus*, betahemolytisk streptokokk)
- Alle ulike fenotyper av en mikrobe (species) som foreligger i  $\geq 2$  av 5 vev skal resistenstestes. Vær særlig OBS på småkolonivarianter av samme species som ofte påvises ved dyrkning først etter 3-4 dager. Disse har oftere avvikende resistensprofil.

*Bruk av PCR:*

- 16S PCR er sjelden indisert, men kan vurderes ved: kroniske infeksjoner der det ikke er vekst etter vanlig inkubasjonstid og/eller ved sterk klinisk mistanke. Vær særlig OBS på pasienter som har hatt negative dyrkningsprøver tidligere og kommer til ny revisjonskirurgi
- Dersom 16S PCR skal utføres bør det gjøres på alle fem vevsprøver med kriterier for tolkning av infeksjon versus kontaminasjon tilsvarende dyrkning, det vil si funn i minst to prøver med samme agens for sannsynlig infeksjon.
- Agensspesifikk PCR vurderes ut fra klinisk mistanke og tilgang. Har høyere sensitivitet enn 16S PCR.

## 3.2 Diabetiske fotsår

Problematikk rundt å få tatt en god prøve fra pasienter med mistenkt infeksjon i diabetiske fotsår ble belyst av kliniker og mikrobiolog. Særlig de ikke fulminante infeksjonene kan være en utfordring. Det skal ikke tas prøve fra ikke-infiserte sår. Et samarbeid mellom kliniker og laboratorium er viktig for korrekt håndtering av prøvene og tolkning av vekst. Informasjon om alvorlighetsgrad av infeksjon, sårets varighet og dybde, tidligere behandling og risiko for antibiotikaresistente mikrober (utenlandsreise) er viktig for god vurdering av prøven.

Det anbefales og var konsensus om følgende:

### *Prøvetaking, utsåing og inkubasjonstid:*

- Anbefalt prøvemateriale er biopsi eller prøve tatt med curette. Prøve tas etter debridement av sår.
- Utsæd av vev på faste medier og med anrikning i henhold til Tabell 3 i avsnitt 2.5 under generelle anbefalinger. Tillegg av selektive medier for anaerobe og stafylokokker kan vurderes, særlig ved kompliserte infeksjoner.
- Penselprøver dyrkes ikke anaerobt (kun aerobt) og kan kommenteres med «Penselprøve anses lite egnet til anaerob diagnostikk». Unntak vurderes ved alvorlig klinikk der det ikke er tatt annet prøvemateriale, eller på polikliniske prøver der annen prøveforsendelse ikke er mulig.
- Dyrkningstid: Minimum 2 dager aerobt og 3 dager anaerobt. Bør utvides ved alvorlige infeksjoner som dype abscesser eller osteomyelitt.
- Sopp-medie legges til dersom rekvirert. I tillegg bør det vurderes ved alvorlige (dype) infeksjoner og hos immunsupprimert pasient (utover diabetes).

### *Vurdering av vekst:*

Det fins ingen gullstandard for vurdering av vekst. Prøvetakingsmetode og alvorlighetsgrad må tas hensyn til i vurderingen. Ofte foreligger polymikrobiell flora, og vurdering av ulike mikrobers rolle kan være vanskelig. Det var konsensus om følgende:

- *S. aureus*, *S. ludunensis* og betahemolytiske streptokokker (A,B,C,G) er patogener
- *S. anginosus* gruppen er sannsynlig patogen

Det var noe kontrovers rundt betydning av Gram-negative staver og anaerobe. Disse er trolig betinget patogener, og Tabell 7 er modifisert i henhold til innspill på møtet. Det var enighet om at betydningen av disse kan vektlegges ved:

- Alvorlig og moderat infeksjon
- Beinbiopsier (osteomyelitt) eller dype abscesser
- Inneliggende pasient på sykehus
- Funn i flere prøver (tatt samme dag eller sekvensielt)
- Reiseanamnese (økt forekomst av infeksjoner med Gram-negative bakterier)

Betydning kan tones ned ved:

- Penselprøver

- Mild klinikk eller manglende klinisk informasjon
- Samtidig vekst av annen åpenbar patogen

Gram-negative staver kan da besvares med ID og kommentar. Resistens kan settes opp, men ikke besvares, eller man kan spare på skåler i en uke.

**Tabell 7. Vurdering av vekst i prøver fra diabetiske fotsår**

	<i>Patogen</i>	<i>Betinget patogen</i>	<i>Mulig patogen</i>	<i>Tvilsom patogen/ koloniseringsflora</i>
Gram-positive kokker, katalase +	<i>S. aureus</i> , <i>S. lugdunensis</i>		KNS	<i>Dermabacter hominis</i>
Gram-positive kokker, katalase -	Betahemolytiske streptokokker A, B, C, G <i>Streptococcus anginosus</i> gruppen		<i>Enterococcus</i> spp.	Viridans streptokokker
Gram-negative		<i>Enterobacterales</i>	<i>Pseudomonas</i> spp. <i>Aeromonas</i> spp. <i>Acinetobacter</i> spp.	
Diverse		Anaerobier ( <i>Bacteroides</i> spp., <i>Fingoldia magna</i> , <i>Peptoniphilus harei</i> , <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> mfl)	<i>Corynebacterium</i> spp. <i>Candida</i> spp. Muggsopp	<i>Bacillus</i> spp.

**Bruk av PCR:**

- PCR har per i dag ikke noen etablert plass i diagnostikk av diabetes fot infeksjoner

### 3.3 Akutt artritt

Det anbefales og var konsensus om følgende:

**Prøvetaking, utsåing og inkubasjonstid:**

- Prøvetaking og forsendelse i henhold til Tabell 2 i avsnittet 2.2 under generelle anbefalinger.
- Oppbevaring av leddvæske i romtemperatur i inntil 4 timer kan aksepteres dersom utsæd innen anbefalt tid (2t) ikke er mulig. Ved forsinket utsæd utover dette anbefales oppbevaring i kjøleskap.
- Sentrifugering bør vurderes før utsæd og mikroskopi på ikke-viskøse eller blodige leddvæsker (ikke debattert, men står i innlegg)
- Direkte mikroskopi anbefales ved akutt infeksjon/alvorlig klinikk. Ikke ved kronisk infeksjon, lavgradig infeksjon eller proteseinfeksjon. Prioriteres ikke dersom lite materiale.
- Utsæd på faste medier og med anrikningsbuljong samt inkubasjon i henhold til Tabell 3 og 4 i avsnitt 2.5 under generelle anbefalinger.
  - Inkubering av leddvæske på blodkulturflasker (aerob + anaerob) anbefales, gitt at man har nok materiale. Hvis ikke nok volum prioriteres aerob flaske.
  - Hos barn < 5 år prioriteres prøvemateriale til *K. kingae* PCR foran inokulasjon på aerob flaske dersom lite volum.

- Utsæd på uselektiv anaerob agar er ikke strengt nødvendig på akutte artritt, men bør alltid gjøres dersom anrikning i thiglycolatbuljong ikke utføres, samt dersom fremmedlegemer eller kroniske infeksjoner.
- Ved mottak av leddvæsker med begrenset klinisk informasjon eller som er tatt i utredning av hevelse, smerter, osv kan også selektiv anaerobt medie utelates forutsatt anrking som angitt over.
- Penselprøver avvises ikke, men svar kan kommenteres med «*For optimal mikrobiologisk diagnostikk bør leddvæske sendes til laboratoriet i en steril beholder så raskt som mulig. Pensel er ikke anbefalt*»
- Blodkultur anbefales av alle

#### Vurdering av vekst:

- Infeksjoner er som regel monomikrobielle og all vekst skal i utgangspunktet tas hensyn til. Ved vekst av mulige kontaminanter fra hud bør kliniker kontaktes, og anbefaling om ny prøve må vurderes ut fra klinikk.
- Ved dyrkningsnegativ leddvæske: vurder biopsi av synovialhinnen til dyrkning og spesialundersøkelser.

#### Bruk av PCR:

- Leddvæsker fra barn < 5 år skal alltid til *K. kingae*-PCR
- *S. aureus* PCR bør vurderes ved igangsatt behandling før prøvetaking og/eller manglende vekst.
- Øvrig agensspesifikke PCR kan vurderes ved klinisk mistanke, eksempelvis GBS-PCR hos barn < 3 mnd og *N. gonorrhoea*-PCR ved mistanke om STD. Husk også mulighet for virale agens eller reaktiv artritt. Alder, sykehistorie og reiseanamnese må hensynstas med tanke på risiko for ulike agens. Ved mer protrauerte forløp kan også Whipples sykdom vurderes som differensialdiagnose ved seronegative artritt.
- Borrelia PCR bør vurderes i endemiske områder.
- 16S rRNA forbeholdes pasienter med dyrknings-negativ leddvæske og sterk mistanke om infeksjon.

## 3.4 Osteomyelitt

Det anbefales og var konsensus om følgende:

#### Prøvetaking, utsåing og inkubasjonstid:

- 3-5 Biopsier til sendes til dyrkning i henhold til Tabell 2 i avsnitt 2.2 med utsæd i henhold til Tabell 3 i avsnittet 2.5, under generelle anbefalinger.
- Fistelprøver frarådes. Dersom prøver fra fistler dyrkes, bør de kommenteres særskilt ved funn av andre agens enn *S. aureus*.
- Prøver fra sår er en dårlig prediktor for underliggende osteomyelitt
- Ved mistanke om aktinomykose anbefales alltid flere biopsier fra ulike områder av suspekt område til dyrkning, mikroskopi og histopatologi
- Blodkultur anbefales ved akutt infeksjon og alltid hos barn

- Mikroskopi: Anbefales ved akutte infeksjoner. Kan ellers vurderes individuelt ut fra tilgjengelig klinisk informasjon
- Dyrkningstid i henhold til Tabell 4 i avsnittet 2.5 under generelle anbefalinger. Forlenget inkubasjon vurderes dersom ingen vekst etter standard dyrkningstid.
- Anrikning på aerob blodkulturflaske anbefales på barn < 5 år i tillegg til PCR for *K. kingae*.

#### Vurdering av vekst:

- Må ses i lys av agens, sykehistorie, infeksjonsfokus og antall mottatte biopsier. Alle patogene arter tillegges betydning. Vekst av hudflora vurderes som sannsynlig eller mulige kontaminanter, dersom vekst i kun en biopsi. Flere biopsier må vurderes i samråd med kliniker dersom vekst av lavvirulent organisme og få biopsier er mottatt.
- Dersom prøve fra fistelgang eller sår, anses vekst av *S. aureus* som sannsynligvis klinisk relevant, men trenger ikke reflektere alle species i en underliggende osteomyelitt. Vekst bør kommenteres med at klinisk relevans kan være usikker og at nye prøver må vurderes. Ved vekst av lavvirulente organismer må adekvate prøver anbefales.

#### Bruk av PCR

- Prøver fra barn < 5 år skal alltid til *K. kingae*-PCR
- *S. aureus* PCR bør vurderes ved igangsatt behandling før prøvetaking og/eller manglende vekst.
- 16S rRNA forbeholdes pasienter med dyrknings-negativ biopsi og sterk mistanke om infeksjon.
- Øvrig agensspesifikke PCR kan vurderes ved klinisk mistanke

## 3.5 Spinale infeksjoner

Det anbefales og var konsensus om følgende:

#### Prøvetaking, utsåing og inkubasjonstid:

- Størst mulig volum og rask prøveforsendelse ønskes i henhold til generelle anbefalinger
- Utsåing på dyrkingsmedier og inkubasjonstider som angitt i Tabell
- 3 og 4 i avsnittet 2.5 under generelle anbefalinger.
- Ved mistanke om eksotiske agens som *Brucella* spp., bør inkubasjonstid forlenges til minimum 7 dager (ideelt 14 dager), eventuelt også anrikning i aerob blodkulturflaske. Skåler forsegles med parafilm eller tilsvarende. Eventuell vekst håndteres i sikkerhetskabinett klasse 2 (fortrinnsvis på P3 lab) inntil identitet er bekreftet.
- Problem med små volum er vanlig og påvirker sensitivitet ved både dyrkning og PCR samt mulighet for å gjøre alle ønskede analyser. Flere CT veiledede biopsier må tas ved ønske om analyser utover konvensjonell dyrkning.
- Ved svært små volum må noen dyrkingsmedier velges bort. Anrikningsbuljong (thioglycolat) prioriteres først. Sjokoladeagar prioriteres før blodagar.
- Dersom kun 1-2 små biopsier må prioritering av analyser gjøres sammen med rekvirent. Ofte blir det behov for sekvensiell diagnostikk der mest sannsynlige etiologi prioriteres i første prøvetakingsrunde.

- Oppstart av antimikrobiell behandling bør avvete til agens er kjent/tilstrekkelig prøvemateriale er tatt, dersom klinisk forsvarlig
- Direkte mikroskopi vurderes kun ved akutte infeksjoner og dersom tilstrekkelig prøvemateriale til alle andre ønskede analyser
- Det anbefales blodkultur av alle. Ved radiologisk verifisert diagnose og funn av *S. aureus* eller *S. lugdunensis* i blodkultur anses diagnosen som sikker.
- Supplerende analyser (som serologi) må vurderes.

#### *Vurdering av vekst:*

- Samme mikrobe i  $\geq 2$  prøver: sannsynlig signifikans, men ikke så godt validert som på proteseinfeksjoner.

#### *Bruk av PCR:*

- *S. aureus* PCR og 16S PCR vurderes dersom ingen vekst.
- Vev til eventuell 16S PCR må tas av før prosessering

## 3.6 Frakturrelaterte infeksjoner

Det anbefales og var konsensus om følgende:

#### *Prøvetaking, utsåing og inkubasjonstid:*

- Det anbefales 5 vevsprøver til dyrkning + synovialvæske ved leddnære infeksjoner.
- Utsæd på faste medier og med anrikning og inkubasjonstider i henhold til Tabell 3 og 4 i avsnittet 2.5 under generelle anbefalinger.
- Ved åpne frakturer bør man tenke på polymikrobiell flora og vurdere tillegg av selektive agarer inklusive soppmedier.
- Osteosyntesemateriale som små skruer kan inkuberes i anrikningsbuljong over natt med påfølgende utsæd
- Større osteosyntesemateriale må vurderes som for proteseinfeksjoner, men nytteverdien er foreløpig omdiskutert
- Mikroskopi utføres dersom rekvirenten ber om det ved akutte infeksjoner. Både soppfarging og Gram-farging bør utføres på alvorlige infeksjoner som oppstår etter åpne frakturer.

#### *Vurdering av vekst:*

- Tolkning av vekst gjøres tilsvarende som ved proteserelaterte infeksjoner forutsatt 5 vev
- Osteosyntesemateriale som penetrerer hud avvises, men ofte mangler denne informasjonen.
- Infeksjoner relatert til osteosyntesemateriale og frakturer i ankel og håndledd er ofte vanskelig å vurdere pga kort vei til hud og hyppigere kontaminasjon med hudflora.

#### *Bruk av PCR:*

- Vev 16S PCR må tas av før prosessering

- Indikasjon for og potensiell nytte av 16S PCR ble noe diskutert, uten at man sitter med fasit her. Bruk må vurderes i lys av klinikk og eventuell påbegynt antimikrobiell behandling før prøvetaking. Det var enighet om at optimalisert dyrkning er viktigere enn PCR.
- 16S PCR og/eller agensspesifikk PCR kan vurderes ved manglende vekst etter 2-5 dager og klinisk mistanke. Ved åpne frakturer og sannsynlig polymikrobiell infeksjon bør 16S PCR utføres med metodologi som muliggjør påvisning av blandingsinfeksjoner.

### 3.7 Bittinfeksjoner

Det anbefales og var konsensus om følgende:

#### *Prøvetaking, utsåing og inkubasjonstid:*

- Det anbefales 5 vev til dyrkning + synovialvæske ved leddnære infeksjoner.
- Penselprøver aksepteres til aerob og anaerob dyrking dersom fra poliklinikk/ primærhelsetjenesten og/eller vev/aspirat ikke er tatt.
- Utsæd på faste medier og med anrikning og inkubasjonstider i henhold til Tabell 3 og 4 i avsnittet 2.5 under generelle anbefalinger.
- Nytte av forlenget inkubasjon er omdiskutert, men må vurderes på alvorlige infeksjoner dersom manglende vekst etter 5 dager.
- Blodkulturer anbefales på alle septiske pasienter
- Mikroskopi utføres på alle tenosynovitter eller alvorlige infeksjoner i hånd/ ansikt

#### *Vurdering av vekst:*

- Identifikasjon av all vekst
- Resistenstest klassiske patogener ved bitt som *S. aureus*, betahemolytiske streptokokker, *Pasteurella multocida*, *P. canis*, *Capnocytophaga spp*, *Neisseria weaveri* med fler.
- Resistenstesting ved vekst av mer enn tre species må vurderes ut fra species og mengde vekst. Mer viderearbeid utføres på vev og på innlagte pasienter enn på polikliniske sårprøver. Dersom resistensbestemmelse ikke utføres tas skåler vare på og agens besvares med species.
- Identifikasjon og resistensbestemmelse av inntil tre ulike anaerobe anbefales

#### *Bruk av PCR:*

- 16S PCR og/eller agensspesifikk PCR kan vurderes ved manglende vekst

## 4 Innleggene/Bakgrunnsinformasjon

### 4.1 PCR analyser ved infeksjoner i ben og ledd: Når og mot hva?

Truls Leegaard, Akershus universitetssykehus, Lørenskog

#### Bakgrunn

Ved infeksjoner i ben og ledd vil ikke alltid dyrkning være i stand til å finne etiologisk agens, spesielt ved kroniske infeksjoner. Grunnene til dette er mange; f.eks. at det ikke er en infeksjon, at mikroben ikke lar seg dyrke eller at pasienten allerede har fått antibiotika. Det har derfor vært forsøkt andre metoder for å kunne påvise et agens. Primært har dette vært PCR, men også forbehandling med sonikering før dyrkning og neste generasjons sekvensering (NGS) har vært benyttet. Problemet har vært at man ofte påviser mikrober som anses som hudflora, og det er derfor en diskusjon om betydningen av funnene. Dyrkning kan i tillegg ta veldig lang tid, og alternative metoder kan gi et hurtigere svar.

Infeksjoner i ben og ledd kan være i tidligere friske ledd, som (septisk) artritt, osteomyelitt og spondylodiskitt, eller i ledd der det er satt inn fremmedlegemer (proteser, o.l.). Som alltid ved mikrobiologiske diagnostikk er prøvetagning helt sentral. Prøven må tas på en adekvat måte, og fra infeksjonsstedet, for å få det forventede resultatet.

Her ser vi først og fremst på PCR som metode for å påvise infeksjoner i ben og ledd, men vil også omtale NGS teknikker. PCR gjøres både etter klinisk vurdering, når dyrkning ikke gir forventet resultat eller man forventer at mikroben ikke lar seg dyrke, eller som supplerende diagnostikk.

#### 1. Aktuelle metoder

- PCR: Enkeltanalyser eller multiplex

En «In-house» PCR for en spesifikk mikrobe kan være billig og hurtig, mens multiplex-PCR, spesielt der man benytter kommersielle leddpaneler (f.eks. FilmArray, SeptiFast, Unyvero eller andre leverandører) kan være dyrt, og man må alltid vurdere kostnaden i forhold til forventet nytte. Det kan også være verdt å merke seg at det kan bli problemer med «In-house» metoder med nytt IVDR regelverk. Noen av de nye kommersielle panelene har vært testet ut og flere har for dårlig sensitivitet. Etersom flere multiplex-PCR paneler utvikles og gamle forbedres, er det mulig at dette etter hvert vil bli ansett som nyttig, presist og kostnadseffektivt.

- 16S PCR med Sanger-sekvensering. Hvor nyttig er det?

16S PCR kan være et nyttig supplement i diagnostikken av ben og leddinfeksjoner. Imidlertid er sensitiviteten lavere enn ved en spesifikk PCR. Det er ingen fasit på når dette skal gjøres, men mange vil forsøke dette ved manglende vekst. Flere studier peker på at en kombinasjon av dyrkning og 16S og/eller PCR gir best resultat, dvs. påviser flest mikrober.

- Neste generasjons sekvensering (NGS)

NGS er en dyrkningsuavhengig teknologi som kan påvise hele genomsekvensen til i utgangspunktet alle mikrober i en prøve. Et sentralt problem med NGS er deteksjon av mikrober i prøvemateriale med stor overvekt av humane celler for eksempel i vevsprøver fra implantat-assosierte infeksjoner. Dette kan løses ved å lysere humane celler før ekstraksjon, men det kan gå utover DNA konsentrasjon i DNA eluatet, noe som vanskeliggjør videre sekvensering. Kun direktepåvisning med NGS er aktuelt i dag (les: Minlon) pga at andre NGS-metoder bruker for lang tid til svar. Minlon vil



imidlertid kunne gi hurtige og presise svar og være et nyttig supplement til dyrkning. Metoden er imidlertid ikke god nok til å kunne erstatte dyrkning eller PCR.

## 2. PCR for enkeltmikrober - aktuelle agens

Se litteraturlisten til slutt

### **Agens der PCR benyttes jevnlig ved flere laboratorier**

- *Kingella kingae*  
Sannsynligvis enighet om at bør gjøres på leddvæsker og osteomyelitt hos alle barn under en viss alder (f.eks. 5 år) kombinert med anrikning av leddvæske på blodkulturflaske.
- *Staphylococcus aureus* PCR (*nuc*, *tuf*, SA442, annet)  
Dette er en PCR mange laboratorier har for MRSA deteksjon. Selv om den der ofte benyttes på kulturer kan dette f.eks. benyttes som spesifikk *S. aureus*-PCR på ortopediske prøver, evt. som supplement eller alternativ til 16S. Mange vil nok reservere en *S. aureus* PCR for prøver der det er startet med antibiotika før prøvetaking.
- Panton-Valentine leukocidin (PVL)  
Det er angitt at PVL- positive isolater av *S. aureus* (både MSSA og MRSA) er assosiert med større risiko for beindestruksjon og behov for kirurgisk intervensjon. Man kan spekulere på hva som er tidsrammen for at det skal være klinisk nyttig mht. behov for mer aggressiv revisjonsskirurgi, men det vil avhenge av mange andre faktorer.  
I PVL review i Lancet i 2013 finner man at PVL-positive *S. aureus* er sterkt assosiert med hud- og bløtvevsinfeksjoner, men er relativt sjeldne ved andre infeksjoner som lungebetennelse og muskel-skjelett-infeksjoner. De finner at PVL-positive hud- og bløtvevsinfeksjoner blir mer sannsynlig behandlet kirurgisk enn PVL-negative infeksjoner, og barn med PVL-positiv muskel- og skjelettsykdom kan ha økt sykkelighet. For andre former for sykdom fant man ingen bevis for at PVL påvirker utfallet.
- Mykobakterier: TBC, BCG  
Mycobakterieinfeksjoner i ben og ledd er relativt sjeldent, men forekommer jevnlig og en spesifikk PCR kan være nyttig ved klinisk mistanke.
- Borrelia  
PCR er upålitelig som eneste metode for å påvise borreliaartritt. En negativ PCR ikke utelukker Borrelia artritt, men en positiv Borrelia PCR kan bekrefte en mistanke, spesielt hos pasienter som har positiv serologi fra tidligere. Erfaring tilsier at pasienter med borrelia artritt har antistoff. En positiv Borrelia PCR hos pasient uten antistoff er uvanlig

### **Agens som få laboratorier benytter seg av**

For denne gruppen må klinikk være avgjørende. Se litteraturliste nederst for eksempler der følgende mikrober med hell er påvist med PCR ved forskjellige ben- og leddinfeksjoner.

- *Cutibacterium acnes*. En PCR kan muligens være nyttig for å skille forurensninger fra reelle infeksjoner. Det er alltid et spørsmål om denne mikroben er en reell årsak til kroniske proteseinfeksjoner når den vokser, gjerne etter 3-5 dager. En PCR påvist umiddelbart etter prøvetagning, og i mer enn en av (helst) 5 prøver vil styrke mistanken om en reell klinisk betydning, men det er klart at også en PCR kan være forurenset.
- Sopp: Kan være til nytte der det er stor pretest-sannsynlighet for infeksjon (PCR for *Aspergillus spp*, *Aspergillus fumigatus* og *Mucor spp* fins på referanselaboratoriet).

- Gonokokker (Bør vurderes som supplement ut fra risikoprofil samt ved funn av Gram-negative diplokokker ved mikroskopi)
- Meningokokker
- *Corynebacterium striatum*
- *Ureaplasma parvum*
- Brucella
- *Streptobacillus moniliformis*
- *Yersinia pseudotuberculosis*

### **Fra spørreundersøkelsen som ble sendt ut på forhånd – sammenstilling av svar:**

#### ***Hvilke PCR (molekylær-) undersøkelser gjør norske laboratorier på ben og leddinfeksjoner?***

- 16S rDNA-PCR
- *Kingella kingae*-PCR.
- Sopp PCR
- PCR for *S. aureus* (nuc, PVL, mecA, nuc/tuf)
- *C. acnes* PCR
- GBS PCR
- Pneumolysin PCR

#### ***Hvilke analyser ønsker norske laboratorier var tilgjengelig?***

Mange laboratorier ønsker seg de samme analysene

- *Kingella kingae* PCR
- NGS (dypsekvensering)
- 16 S PCR sekvensering
- Flere spesifikke bakterie PCR undersøkelser som f. eks *Kingella kingae* osv.
- FilmArray
- *C. canimorsus* PCR til alvorlige bittinfeksjoner
- Stafylokokk PCR (*S. aureus*/KNS)
- GAS PCR

### **3. Konklusjon**

Dyrkningsbaserte metoder (anrikelsesbuljong og kultur på halvfast syntetiske vekstmedier) er fremdeles den foretrukne metoden for å påvise ben- og leddinfeksjoner, og er nødvendig for å kunne gjøre resistenstesting (AST) og epidemiologiske vurderinger. Dyrkning er imidlertid utfordrende siden den kan være falsk positiv (forurensning under prøvetaking) eller falsk negativ (vanskelig dyrkbare mikroorganismer, tidligere eller samtidig behandling med antibiotika, redusert veksthastighet på grunn av dannelse av biofilm, etc.). En ulempe ved dyrkning er at tid til resultat ofte er lang, og mange av infeksjonene oppdages først etter mange dagers dyrkning (5-7). Ved mistanke om infeksjoner med mykobakterier eller sopp kan tid til resultat være 4 uker eller lenger.

Molekylære metoder som PCR, inkl. 16S og NGS vil få økt betydning, men foreløpig først og fremst som supplement til dyrkning. Kombinasjonen av dyrkning og PCR/16S/NGS har vist seg å påvise flere etiologisk agens i ben- og leddinfeksjoner.

#### 4. Litteratur (Listen er ikke fullstendig, men viser eksempler på infeksjonstilstander der PCR har vært benyttet med hell)

##### PCR generelt/16S

- Alex Van Belkum, Marie-Francoise Gros, Tristan Ferry, Sebastien Lustig, Frédéric Laurent, Geraldine Durand, Corinne Jay, Olivier Rochas & Christine C. Ginocchio (2021): Novel strategies to diagnose prosthetic or native bone and joint infections, *Expert Review of Antiinfective Therapy*, DOI: 10.1080/14787210.2021.1967745
- Yang B, Fang X, Cai Y, Yu Z, Li W, Zhang C, et al. Detecting the presence of bacterial RNA by polymerase chain reaction in low volumes of preoperatively aspirated synovial fluid from prosthetic joint infections. *Bone Joint Res* 2020; 9: 219-24. doi: 10.1302/2046-3758.95.BJR-2019-0127.R2
- Jacquier H, Fihman V, Amarsy R, Vicaut E, Bousson V, Cambau E, et al. Benefits of Polymerase Chain Reaction Combined With Culture for the Diagnosis of Bone and Joint Infections: A Prospective Test Performance Study. *Open Forum Infect Dis* 2019; 6: ofz511. doi: 10.1093/ofid/ofz511
- O'Rourke S, Meehan M, Bennett D, O'Sullivan N, Cunney R, Gavin P, et al. The role of real-time PCR testing in the investigation of paediatric patients with community-onset osteomyelitis and septic arthritis. *Ir J Med Sci* 2019; 188: 1289-95. doi: 10.1007/s11845-019-01973-1
- Aamot HV, Johnsen BO, Skråmm I. Rapid diagnostics of orthopedic implant-associated infections using Unyvero ITI implant and tissue infection application is not optimal for *Staphylococcus* species identification. *BMC Res Notes* 2019; 12: 725. doi: 10.1186/s13104-019-4755-5

##### NGS

- Helmersen K, Aamot HV. DNA extraction of microbial DNA directly from infected tissue: an optimized protocol for use in nanopore sequencing. *Scientific Reports* 2020; 10: 2985. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59957-6>
- Noone JC, Stegger M, Lilje B, Stavem K, Helmersen K, Skråmm I, Aamot HV. Molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* associated prosthetic joint infections after hip fractures treated with hemiarthroplasty: a retrospective genome-wide association study. *Sci Rep* 2020; 10: 16553. doi: 10.1038/s41598-020-73736-3
- Aamot HV, Noone JC, Skråmm I, Leegaard TM. In the era of rapid diagnostics, are conventional microbiological diagnostics sufficiently expedient? Evaluation of conventional microbiological diagnostics of orthopaedic implant-associated infections (OIAI). *Acta Orthop* 2020 Nov 10:1-6. doi: 10.1080/17453674.2020.1844499
- Noone JC, Helmersen K, Leegaard TM, Skråmm I, Aamot HV. Rapid diagnostics of orthopaedic implant-associated infections using nanopore shotgun metagenomic sequencing on tissue biopsies. *Microorganisms* 2021; 9: 97. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010097>
- Ramchandrar N, Burns J, Coufal NG, Pennock A, Briggs B, Stinnett R et al. Use of Metagenomic Next-Generation Sequencing to Identify Pathogens in Pediatric Osteoarticular Infections. *Open Forum Infect Dis* 2021; 8: ofab346. doi: 10.1093/ofid/ofab346. NGS-metode: Illumina.
- Kildow BJ, Ryan SP, Danilkowicz R, Lazarides AL, Penrose C, Bolognesi MP, Jiranek W, Seyler TM. Next-generation sequencing not superior to culture in periprosthetic joint infection diagnosis. *Bone Joint J* 2021; 103-B(1):26-31. doi: 10.1302/0301-620X.103B1.BJJ-2020-0017.R3. Forteller ikke hvilken NGS metode som er brukt – prøvene sendt til kommersielt laboratorium.

##### *Kingella kingae*

- Olijve L, Amarasena L, Best E, Blyth C, van den Boom M, Bowen A, et al. The role of *Kingella kingae* in pre-school aged children with bone and joint infections. *J Infect* 2021; S0163-4453(21)00324-8. doi: 10.1016/j.jinf.2021.06.028
- Khattak M, Vellathusery Chakkalakumbil S, Stevenson RA, Bryson DJ, Reidy MJ, Talbot CL, George H. *Kingella kingae* septic arthritis. *Bone Joint J* 2021;103-B(3):584-8. doi: 10.1302/0301-620X.103B3.BJJ-2020-0800.R1
- Wong M, Williams N, Cooper C. Systematic Review of *Kingella kingae* Musculoskeletal Infection in Children: Epidemiology, Impact and Management Strategies. *Pediatric Health Med Ther* 2020; 11: 73-84. doi: 10.2147/PHMT.S217475
- Lillebo K, Breistein RI, Aamas JV, Kommedal O. The first report on epidemiology of oropharyngeal *Kingella kingae* carriage in Scandinavian children: *K. kingae* carriage is very common in children attending day care facilities in Western Norway. *APMIS* 2020; 128: 35-40.

##### TBC/BCG

- Khan A, Kamra E, Singh R, Sharma V, Singh V, Mor P, Kaushik S, Yadav A, Mehta

- PK. Diagnosis of osteoarticular tuberculosis: multi-targeted loop-mediated isothermal amplification assay versus multiplex-PCR. *Future Microbiol* 2021. doi: 10.2217/fmb-2021-0030
- Riste M, Davda P, Smith EG, Wyllie DH, Dedicoat M, Jog S, et al. Prosthetic hip joint infection by *Bacillus Calmette-Guerin* therapy following intravesical instillation for bladder cancer identified using whole-genome sequencing: a case report. *BMC Infect Dis* 2021; 21: 151. doi: 10.1186/s12879-021-05831-3
- Storandt M, Nagpal A. Prosthetic joint infection: an extremely rare complication of intravesicular BCG therapy. *BMJ Case Rep* 2019; 12: e232809. doi: 10.1136/bcr-2019-232809

#### *S. aureus*/MRSA/PVL

- Titécat M, Loïez C, Demaeght F, Leclerc JT, Martin T, Dezèque H, Migaud H, Senneville E. Challenging Methicillin Resistance Detection in Bone and Joint Infections: Focus on the MRSA/SA SSTI® Strategy. *Front Med (Lausanne)* 2021;8:553965. doi: 10.3389/fmed.2021.553965
- Shallcross LJ, Fragaszy E, Johnson AM, Hayward AC. The role of the Panton-Valentine leucocidin toxin in staphylococcal disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet inf dis* 2013; 13: 43-54. doi: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70238-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70238-4)

#### *Ureaplasma parvum*

- Ball ND, Snape SE. Periprosthetic joint infection with *Ureaplasma parvum* detected by 16S rRNA PCR. *BMJ Case Rep* 2021;14(3):e239858. doi: 10.1136/bcr-2020-239858
- Asif AA, Roy M, Ahmad S. Rare case of *Ureaplasma parvum* septic arthritis in an immunocompetent patient. *BMJ Case Rep* 2020; 13: e236396. doi: 10.1136/bcr-2020-236396

#### *Borrelia*

- Coiffier G, Tattevin P. Lyme disease: "End of the debate?". *Joint Bone Spine* 2021; 88: 105181. doi: 10.1016/j.jbspin.2021.105181

#### *Mycoplasma hominis*

- Bozo N, Ravn C, Stenz Justesen U, Dahlerup Rasmussen L. *Mycoplasma hominis* septic arthritis in a patient with hypogammaglobinaemia and rheumatoid arthritis. *BMJ Case Rep* 2021; 14: e237798. doi: 10.1136/bcr-2020-237798

#### *Neisseria meningitidis*

- Noteman TW, Ha TT, Tsarfati EM. *Neisseria meningitidis* serogroup C causing primary polyarthritis in an octogenarian. *BMJ Case Rep* 2020; 13: e233378. doi: 10.1136/bcr-2019-233378

#### *Streptobacillus moniliformis*

- Pannetier LW, Lombard E. Rat bite fever in senior health medicine. *BMJ Case Rep* 2020; 13: e233451. doi: 10.1136/bcr-2019-233451
- Smallbones M, Monem M, Baganeanu M, Okocha M, Sofat R. Near-fatal Periprosthetic Infection with *Streptobacillus moniliformis*: Case and Review. *J Bone Jt Infect* 2020; 5: 50-3. doi: 10.7150/jbji.40635

#### *Neisseria gonorrhoeae*

- Wang AA, Linson EA. Septic arthritis in a previously healthy man with pan-negative infectious and rheumatologic work-up. *BMJ Case Rep* 2020; 13: e231823. doi: 10.1136/bcr-2019-231823

#### *Yersinia pseudotuberculosis*

- Martyn E, Heward J, Herbert R. *Yersinia pseudotuberculosis*: an unexpected cause of fever and a hot joint. *BMJ Case Rep* 2020; 13: e233125. doi: 10.1136/bcr-2019-233125

#### *Corynebacterium striatum*

- Noussair L, Salomon E, El Sayed F, Duran C, Bouchand F, Roux AL, et al. Monomicrobial bone and joint infection due to *Corynebacterium striatum*: literature review and amoxicillin-rifampin combination as treatment perspective. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2019; 38(7):1269-1278. doi: 10.1007/s10096-019-03542-x

## 4.2 Proteseinfeksjoner - Mikrobiologisk diagnostikk ved ortopediske implantatinfeksjoner

Kåre Bergh, Overlege Avd for medisinsk mikrobiologi St. Olavs hospital HF / Professor emeritus IKOM, NTNU.

### Definering av problemstilling

Hovedproblemet ved diagnostikk av kroniske ortopediske implantatinfeksjoner er suboptimal sensitivitet av mikrobiologiske metoder kombinert med en manglende gullstandard. Dette bunner delvis i uavklarte temaer som optimal: 1) prøvetaking (hvilke materialer, hvor mange biopsier), 2) prosessering i laboratoriet for agenspåvisning (kulturbaserte metoder vs molekylærgenetiske metoder), 3) for dyrkning metodologiske valg (forbehandling, valg av medier og dyrkningsbetingelser/-varighet), og 4) tolkning og rapportering.

Å skille reelle funn fra kontaminasjon er et essensielt moment.

**Forslag til anbefalinger** (må ses i lys av diagnostiske kriterier som velges anvendt)

*Preoperative analyser:*

- Serum-markører som SR og CRP har begrenset nytteverdi.
- Synovialvæske: Leukocyt- og differensialtelling,  $\alpha$ -defensin potensiell nyttig markør. Mikrobiologisk undersøkelse gjøres ofte preoperativt (se senere).

*Intraoperativ prøvetaking:*

- Multiple biopsier (4-5) pluss evt synovialvæske – ikke penselprøver – og rask transport til og prosessering i lab (helst innen 2 timer). Biopsier bør være store, gjerne 1x1x1 cm.
- Hvis sonikering: Protese(komponent) sendes lab i egnet container (steril, vanntett).

*Prøvehåndtering:*

- Prøvene anbefales håndtert i klasse II sikkerhetskabinett.
- Forbehandling: Viktig. Homogenisering anbefales (mekanisk > manuell). F.eks i 5 ml NaCl eller Ringer. 1 ml tilsettes til blodkulturflasker, 0,5-1 ml til buljong(er) og 2-3 dr på faste medier.
- Dyrkning skal utføres på rike, uselektive faste medier aerobt (blod-, sjokoladeagar) og anaerobt (f.eks FAA agar) samt i anrikningsbuljong inkubert i luft/CO<sub>2</sub> (f.eks thioglycolat) som tillater anaerobe forhold ved prøvedeponering i bunnen.
- Dyrkning i blodkulturflasker: Synovialvæske og/eller homogeniserte vevsprøver anbefales dyrket i aerob og anerob blodkulturflaske. (Mange anses dette som alternativ til anrikningsbuljong, men anbefales som et supplement).

*Inkubasjon:*

- Rutinemessig 5 døgn for faste medier og terminal subkultur fra anrikningsbuljong etter 5 døgn til sjokoladeagar og blodagar for videre inkubasjon 3 døgn henholdsvis aerobt og anaerobt.
- Blodkulturflasker: 5-7 døgn aerobt, anaerobt 5-14 døgn
- Forlenget inkubasjon er omdiskutert både for tradisjonelle medier og for blodkulturflasker, vesentlig knyttet til *C. acnes*.

*Molekylære metoder:*

- Rollen til PCR baserte metoder og neste generasjon sekvensering er ennå ikke avklart, men pga suboptimal sensitivitet og betydelig arbeidsinnsats ved optimalisert dyrkning forventes økt anvendelse av molekylære metoder.

### **(Kort) Innledning / bakgrunn**

Diagnostikk ved akutte implantatrelaterte infeksjoner er vanligvis uproblematisk og håndteres ved bruk av generelle mikrobiologiske metoder. De diagnostiske problemer er knyttet til de kroniske infeksjonene med ofte mindre uttalte symptomer pga lavvirulente mikroorganismer, og hvor det på klinisk grunnlag er vanskelig å differensiere fra mekaniske årsaker som slitasje eller proteseløsning. Sensitiviteten varierer betydelig og angis som regel ikke bedre enn ca 80-85 %. Biofilm, intracellulær persistens av bakterier og antibiotikabehandling siste to uker preoperativt anses som sentralt knyttet til de diagnostiske problemer.

### **Status for problemstilling i dag**

**Diagnostiske kriterier.** Det er ingen etablert gullstandard for diagnosen proteseinfeksjon. Et essensielt problem er å skille kontaminanter fra reelle patogener. Vanlig benyttede kriterier for definitiv infeksjon fra The Musculoskeletal Infection Society (MSIS 2011), Infectious Disease Society of America IDSA (2013) og International consensus meeting (ICM 2013) er sinuskanal til overflaten eller vekst av samme mikroorganisme i minimum 2 vevsprøver. Vurdering om samme mikroorganisme gjøres fra fenotypiske kriterier men hvor inntil 2 ulikheter i utvidet antibiogram aksepteres. I tillegg vil en kombinasjon av "minor criteria" kunne bety infeksjon. Et sett av kriterier fra 2018 som inkluderer et scoringsystem og et forslag fra EBJIS (2021) med mindre stramme kriterier er vedlagt sist i manuskriptet.

**Prøvetaking.** Nye sett sterile instrumenter ved hver biopsitaking er nødvendig. Biopsistørrelsen bør være stor, f.eks 1 cm<sup>3</sup> hvis praktisk mulig.

**Prøveforsendelse.** Kortest mulig transport til og prosessering i laboratoriet er viktig; IDSA anbefaler innen 2 timer og biopsier kan da bringes til laboratoriet i saltvann. Prosessering samme dag anses trolig mer reelt og biopsier plasseres i anaerobt transportmedium.

**Mikroskopi / Gram-preparat** av prøver ved kronisk proteseinfeksjon/revisjonsproblematikk anbefales ikke (pga svært lav sensitivitet). Ved akutte infeksjoner lages Gram-preparat.

**Prøvebehandling.** Arbeid med prøvematerialer ved mistenkt proteseinfeksjon bør utføres i klasse II sikkerhetskabinett.

Det er nødvendig å homogenisere biopsier før dyrkning. Mekanisk homogenisering er å foretrekke. Eksakte prosedyrer varierer i studier, men de fleste benytter kraftig vortex-miksing og/eller kuler for mekanisk knusing av vev. Dette kan gjøres f.eks i 5 ml NaCl/Ringer (noen benytter dyrkningsbuljong) og en vil da ha store inokulat til de medier en vil benytte.

Dyrkning skal utføres på rike, uselektive faste medier aerobt (blod-, sjokoladeagar) og anaerobt (f.eks FAA agar) samt samt i anrikningsbuljong inkubert i luft/CO<sub>2</sub> (f.eks thioglycolat) som tillater anaerobe forhold ved prøvedeposering i bunnen.

Det er i løpet av de 10 siste år godt dokumentert at inkubering i aerob og anaerob blodkulturflaske vil øke sensitiviteten. Jeg vil tro at ved bruk av Bactec blodkultursystem vil tilsetning av FOS til den aerobe flasken være gunstig, men dette er ikke inngående studert.

Noen hevder at bruk av blodkulturflasker kan erstatte anrikningsbuljong, men jeg støtter ikke dette synspunkt (se senere).

Inkubering anbefales rutinemessig 5 døgn for faste aerobe og anaerobe medier (utover 2 døgn pga muligheter for small colony variants - SCV). Terminal subkultur fra anrikningsbuljong gjøres dag 5 til sjokoladeagar og blodagar som inkuberes ytterligere 3 døgn aerobt og anaerobt. Erfaringsmessig vil dette være gunstig bl.a for *C. acnes*. Det er omdiskutert om generelt forlenget inkubasjon til 14 dager er nødvendig og hensiktsmessig.

Bruken av blodkulturflasker har fordelen med kontinuerlig vekstregistrering og vil ofte gi raskere vekst enn på faste medier. Fleste positive kommer ila 1-2 dager. Varighet av inkubasjon anbefales som regel til 5-7 døgn, kapasitet vil her kunne influere på valg. En grunn til at blodkulturmedier ikke bør/skal erstatte anrikningsbuljong vil være knyttet til *C. acnes* og evt problemer ved vekst i enkelte blodkulturmedier.

Sonikering vil teoretisk ha en gunstig effekt i å frigjøre bakterier fra biofilm på proteseoverflaten for lettere å kunne påvises ved dyrkning eller ved molekylære metoder. Metoden har mange tilhengere, men majoriteten av ortopediske klinikker og mikrobiologiske laboratorier har ikke tatt i bruk sonikering rutinemessig. Resultatene spriker betydelig hvorvidt utbyttet er entydig økt utover optimalisert dyrkningsmetodikk, spesielt hvis bruk av blodkulturflasker inkorporeres. Hvis sonikering skal vurderes tatt i bruk, er det viktig å ha svært høy oppmerksomhet overfor kontamineringsproblematikk og valg av cut-off for positivitet.

Isolater som vurderes signifikante identifiseres, resistensbestemmes med utvidet panel samt anbefales nedfrosset. Det er ikke sjelden ved mistenkt proteseinfeksjon spørsmål om et aktuelt funn er identisk med tidligere påviste mikrober.

Siden trenden er at noen klinikere i større grad vil vektlegge vekst i kun 1 av intraoperative vevsprøver anbefales at kommentar legges til om at evt resistensbestemmelse beror inntil kliniker meddeler at funnet likevel vil tillegges vekt og skal behandles.

## Referanser

- Bjerkan G, Witsø E, Nor A et al. A comprehensive microbiological evaluation of fifty-four patients undergoing revision surgery due to prosthetic joint loosening. *J Med Microbiol* 2012; 61:572-581.
- Dudareva M, Barret L, Figtree M et al. Sonication versus Tissue Sampling for Diagnosis of Prosthetic Joint and Other Orthopedic Device-Related Infections. *J Clin Microbiol* 2018; 56(12): e00688-18.
- Fang X, Zhang L, Cai Y et al. Effects of different tissue specimen pretreatment methods on microbial culture results in the diagnosis of periprosthetic joint infection. *Bone Joint Res* 2021; 10: 96-104.
- McNally M, Sousa R, Wouthuyzen-Bakker M et al. The EBJIS definition of periprosthetic joint infection. *Bone Joint J* 2021;103-B (1): 18–25.
- Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Disease Society of America and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis* 2018; 67: e1-94.
- Parvizi J, Tan TL, Goswami K et al. The 2018 definition of periprosthetic hip and knee infection: An evidence-based and validated criteria. *J Arthroplasty* 2018, 33: 1309-14.

Peel TN, Dylla BL, Hughes JG et al. Improved diagnosis of prosthetic joint infection by culturing periprosthetic tissue specimens in blood culture bottles. *mBio* 2016, 7: Issue 1 e01776-15

Public Health England. (2016). Investigation of orthopaedic implant associated infections. UK Standards for Microbiology Investigations. B 44 Issue 2.

Yan Q, Karau MJ, Greenwood-Quaintance et al. Comparison of diagnostic accuracy of periprosthetic tissue culture in blood culture bottles to that of prosthesis sonication fluid culture for diagnosis of prosthetic joint infection (PJI) by use of Bayesian Latent Class modeling an IDSA PJI criteria for classification. *L Clin Microbiol* 2018, 56: e00319-18.

Parvizi J et al. The 2018 definition of periprosthetic hip and knee infection: An evidence-based and validated criteria. *J Arthroplasty* 2018, 33:1309-14

Major criteria (at least one of the following)		Decision
Two positive cultures of the same organism		Infected
Sinus tract with evidence of communication to the joint or visualization of the prosthesis		

Preoperative Diagnosis	Minor Criteria		Score	Decision	
	Serum	Elevated CRP <i>or</i> D-Dimer	2		≥6 Infected  <b>2-5 Possibly Infected<sup>a</sup></b>  0-1 Not Infected
		Elevated ESR	1		
	Synovial	Elevated synovial <i>WBC count or LE</i>	3		
		Positive alpha-defensin	3		
		Elevated synovial PMN (%)	2		
		Elevated synovial CRP	1		

Intraoperative Diagnosis	Inconclusive pre-op score <i>or</i> dry tap <sup>a</sup>		Score	Decision	
	Preoperative score		-		≥6 Infected  <b>4-5 Inconclusive<sup>b</sup></b>  ≤3 Not Infected
	Positive histology		3		
	Positive purulence		3		
	Single positive culture		2		



McNally M et al. The EBJIS definition of periprosthetic joint infection. Bone Joint J 2021;103-B (1): 18–25.

	Infection Unlikely (all findings negative)	Infection Likely (two positive findings) <sup>a</sup>	Infection Confirmed (any positive finding)
<b>Clinical and blood workup</b>			
Clinical features	Clear alternative reason for implant dysfunction (e.g. fracture, implant breakage, malposition, tumour)	1) Radiological signs of loosening within the first five years after implantation 2) Previous wound healing problems 3) History of recent fever or bacteraemia 4) Purulence around the prosthesis <sup>b</sup>	Sinus tract with evidence of communication to the joint or visualization of the prosthesis
C-reactive protein		> 10 mg/l (1 mg/dl) <sup>c</sup>	
<b>Synovial fluid cytological analysis<sup>d</sup></b>			
Leukocyte count <sup>e</sup> (cells/ $\mu$ l)	$\leq$ 1,500	> 1,500	>3,000
PMN (%) <sup>e</sup>	$\leq$ 65%	> 65%	> 80%
<b>Synovial fluid biomarkers</b>			
Alpha-defensin <sup>e</sup>			Positive immunoassay or lateral-flow assay <sup>e</sup>
<b>Microbiology<sup>f</sup></b>			
Aspiration fluid		Positive culture	
Intraoperative (fluid and tissue)	All cultures negative	Single positive culture <sup>g</sup>	$\geq$ two positive samples with the same microorganism
Sonication <sup>h</sup> (CFU/ml)	No growth	> 1 CFU/ml of any organism <sup>g</sup>	> 50 CFU/ml of any organism
<b>Histology<sup>e,i</sup></b>			
High-power field (400x magnification)	Negative	Presence of $\geq$ five neutrophils in a single HPF	Presence of $\geq$ five neutrophils in $\geq$ five HPF
			Presence of visible microorganisms
<b>Others</b>			
Nuclear imaging	Negative three-phase isotope bone scan <sup>e</sup>	Positive WBC scintigraphy <sup>l</sup>	

## 4.3 Infeksjoner i diabetiske fotsår - klinisk diagnostikk

Vegard Osland, Overlege, Ortopedisk avdeling, St.Olavs Hospital HF

### Problemstilling

Infeksjoner i diabetiske fotsår er et hyppig problem og en vanlig årsak til sykehusinnleggelse og amputasjoner. Hvordan kan klinikere bidra til at laboratoriene har viktig informasjon for å gi best mulig diagnostikk og vurdering av mikrobiell vekst i prøvene?

### Forslag til anbefaling:

Innsendte prøver bør inneholde følgende informasjon:

- Prøvemateriale og lokalisasjon for prøven
- Prøvetakingmetode (overfladisk/dyp, aspirat/ curette/ pensel, aseptisk biopsi)
- Antibiotikabruk (type og varighet)
- Relevante funn i tidligere prøver (eg siste 3 mnd)
- Utenlandsopphold/reiseanamnese
- Infeksjonens dybde og alvorlighetsgrad (mild, moderat, alvorlig)
- Tilstedeværelse av abscesser, nekroser, alvorlig iskemi
- Systemiske tegn til infeksjon?

### Bakgrunn/epidemiologi:

Diabetespasienter rammes av forskjellige fotproblemstillinger hvor perifer diabetisk nevropati (PDN) er bakenforliggende årsak, i 50% av tilfellene i kombinasjon med perifer arteriell insuffisiens (PAI) (1). Diabetiske fotsår (DFS) utgjør hoveddelen av denne gruppen. Infeksjon i diabetiske fotsår (DFI) er den vanligste komplikasjonen til diabetes som krever innleggelse og er den hyppigste enkeltårsak til amputasjoner (2, 3, 4).

Omlag 260 000 – 280 000 i Norge lever med diabetes og ytterligere 60 000 har udiagnostisert sykdom. Prevalensen er stigende og type 2 diabetes utgjør omtrent 90 % (5). På verdensbasis er det estimert at 8,5 % av den voksne befolkningen har diabetes og prevalensen er stigende, spesielt i utviklingsland (6). Prevalens PDN er estimert mellom 6 og 51 % (7, 8, 9, 10, 11, 12) og livstidsprevalens av fotsår hos disse er estimert til 50 % (13, 14, 15). Diabetes er den vanligste årsak til major amputasjon (gjennom lår, kne eller legg) (16) med 25 ganger høyere insidens enn hos de uten diabetes (17).

### Kostnader og organisering av pasienter med diabetiske fotproblemer:

En Norsk studie fra 2009 estimerte kostnadene for behandling av DFS til kr 48 591,- (18).

Alvorlighetsgraden på såret (etter *University of Texas Ulcer Classification*) var kostnadsdrivende. Kostandene til forebygging av DFS er estimert til 880 \$, poliklinisk behandling av et etablert sår til 5227 \$ og hospitalisering/kirurgi til 31 716 \$ (19, 20). Forebygging er derfor langt billigere enn å behandle, som igjen er langt billigere enn å operere DFS.

Helsedirektoratet anbefaler at behandling av DFS organiseres i multidisiplinære team i spesialisthelsetjenesten (21). Målet er at veien til behandling er kort slik at riktig behandling kan initieres tidlig. Dette vil gi en økonomisk gevinst (19, 20). Opprettelse av slike team har redusert amputasjonsraten med 40% (22).

### Patogenese - DFS:

PDN er viktigste årsak til utvikling av et diabetisk fotsår. Dette medfører:

- 1) Tap av protektiv sensibilitet (TAPS).
- 2) Motorisk nevropati påvirker muskulatur i fot og legg slik at det oppstår en fotdeformitet (hulfot og klotå feilstilling).
- 3) Dette gir et patologisk hevet trykk på trykkpunkter som kan overstige normalt trykk opptil 40 ganger.
- 4) Autonom perifer nevropati påvirker svette- og talgsekresjonen og gir tørr og krakelert hud som er vulnerabel for sår og bakterieinntrengning.

Disse fire faktorene sammen med PAI bidrar til utvikling av DFS (23).

### Klassifikasjon av DFS:

Ulike klassifikasjonssystemer beskriver DFS og omfatter dybden på såret, arteriell sirkulasjon i foten og infeksjon i såret. Et eksempel på et system som ofte siteres er «*University of Texas Ulcer Classification*» (24):

Dybde		Stadium	
0	Pre- eller postulcus tilstand	A	Rent, ikke-infisert sår
1	Overflatisk lesjon i hud	B	Velsirkulert infisert sår
2	Ulcus ned til sener eller leddkapsel	C	Ischemisk rent sår
3	Ulcus ned til bein	D	Ischemisk infisert sår

Dette klassifikasjonssystemet er forutsigbart (25). Stadiet (ischemi/infeksjon), mer enn dybden, er mest prediktiv for prognosen (26). Det mangler imidlertid beskrivelse av anatomisk posisjon av såret som er prediktivt for utfallet.

International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF) anbefaler ingen klassifikasjonssystem for vurdering av prognosen. Dette begrunnes med at ingen av systemene inneholder alle faktorer som er relatert til manglende tilheling, amputasjon og død grunnet DFS. Disse faktorene er vist å være ende-stadium nyresvikt, PAI, TAPS, størrelse og dybde på sår, lokalisasjon av sår (forfot/bakfot), single/multiple sår og infeksjon (27)

### Anamnese og klinisk vurdering av DFS:

1) Har pasienten perifer nevropati?

Spør om de «går på puter» og utfør test med monofilament og stemmegaffel. Kjenner pasienten berøring?

2) Er foten tilstrekkelig sirkulert? PAI?

Spør etter claudicatosymptomer og hvilesmerter i legg (OBS! nevropati kan kamuflere symptomene). Vurder fotpuls, ankel-arm-indeks (OBS! stive kar ved diabetes kan medføre falsk negativt svar) og måling av tåtrykk. Dersom man etter anamnese og klinisk vurdering påviser redusert arteriell sirkulasjon, kartlegges dette nærmere med billeddiagnostikk.

3) Er såret infisert?

Diagnostikk av bløtvevsinfeksjon ved DFS er basert på en kombinasjon av lokale og systemiske funn av inflammasjon, laboratorieprøver og billeddiagnostikk. IWGDF og Infection Society of America system (IDSA) har et graderingsverktøy av alvorlighetsgraden til DFI (Se tabell, under) Graderingsverktøyet kan også estimere behov for innleggelse og utfall med minor og major amputasjon.

Diagnostikk av DFI kan være vanskelig siden kolonisering av såret og maskering av klassiske symptomer pga. nevropati og PAI er vanlig. Faktorer som predikerer DFI er DFS > 4 uker, tidligere infeksjon i samme område, nyoppstått smerte i såret og immunosuppressiv tilstand ut over DM. Lokale funn av stort sår (> 2 cm<sup>2</sup>), dypt sår (> 3 mm), lokale inflammasjonstegn og sekundære funn (lukkt, påvirket granulasjonsvev, underminering og sekresjon) kan indikere DFI. Systemiske funn av feber, frostrier og redusert allmenntilstand skal alltid kartlegges, men kan også være fraværende ved DFI (28). Mange kan oppleve dårligere blodsukkerkontroll.

Diagnostikk av diabetisk fot osteomyelitt (DFO) ved DFS er utfordrende. DFO oppstår som følge av DFS, og kan noen ganger utvikles i dypet av et tilsynelatende ikke-infisert sår. Løse beinfragmenter i såret er patognomonisk for DFO. «Probe-to-bone-test», hvor såret sonderes med et metallinstrument hvor det er kontakt med blottlagt bein, har vist gode testegenskaper for diagnostikk av DFO, spesielt dersom pre-test sannsynlighet for DFO er høy.

**TABLE 2** International Working Group on the Diabetic Foot/ Infectious Diseases Society of America system

Clinical manifestations	Infection severity	PEDIS grade
Wound lacking purulence or any manifestations of inflammation	Uninfected	1
Presence of ≥2 manifestations of inflammation (purulence, erythema, tenderness, warmth, or induration), but any cellulitis/erythema extends ≤2 cm around the ulcer, and infection is limited to the skin or superficial subcutaneous tissues; no other local complications or systemic illness	Mild	2
Infection (as above) in a patient who is systemically well and metabolically stable but which has ≥1 of the following characteristics: cellulitis extending >2 cm, lymphangitic streaking, spread beneath the superficial fascia, deep-tissue abscess, gangrene, and involvement of muscle, tendon, joint, or bone	Moderate	3
Infection in a patient with systemic toxicity or metabolic instability (eg, fever, chills, tachycardia, hypotension, confusion, vomiting, leukocytosis, acidosis, severe hyperglycemia, or azotemia)	Severe	4

Biokjemiske laboratorietester som CRP, SR leukocytter er ofte ikke påvirket av lokale infeksjoner. SR > 60 – 70 er vurdert som den mest spesifikke for å diagnostisere DFO (29).

Histologisk diagnostikk av beinbiopsier kan benyttes i diagnostikk av DFO, men er forbundet med usikkerhet, da interobservatør samsvar bare ses i en tredjedel av prøvene (30).

Billeddiagnostikk: Røntgen er førstevalget pga. tilgjengelighet og kostnad, men er beheftet med falsk negative svar da osteomyelitt må være ganske etablert før den vises. CT viser beinerosjon tidligere, og kan i tillegg kartlegge sekvester og abscesser MR kartlegger bløtvevspåvirkningen bedre, og er også mest sensitiv for osteomyelitt.

Diagnostikk av DFI gjøres ikke alene med mikrobiologisk dyrkning, men dette er viktig for å styre behandlingen. DFI er forbundet med polymikrobiell flora og det er alltid vanskelig å vite om påvist mikrobe representerer kontaminasjon eller bidrar reelt i infeksjonen. Antibiotika før prøvetaking, mikrober i biofilm og prøver som ikke er tatt på en kvalitetsmessig god måte, vil bidra til usikre prøvesvar. Svaret på dette er å ta disse prøvene på en kvalitetsmessig god måte. Dyrkning av vevsbiopsi er betydelig bedre enn en penselprøve (31).

### **Behandling av et diabetisk fotsår:**

Behandling av DFS innebærer tiltak mot bakenforliggende årsaker til såret, evt. behandling av infeksjon som påvises. Lokal sårbehandling skal gjennomføres, men er underordnet.

#### 1) Trykkavlastning:

PDN er irreversibelt, men tiltak mot følgene av nevropatien kan gjennomføres. DFS oppstår over patologiske trykkpunkt i en deformert fot, og avlastning med e.g. filt, ortose eller gips er avgjørende for tilheling samt for å hindre residiv. Kirurgiske tiltak med seneforlengelse, reseksjon av beinutspring og korreksjon av deformiteter med osteotomier kan vurderes, men benyttes oftere for å hindre residiv av sår når konservative tiltak ikke er tilstrekkelig.

#### 2) Behandling av arteriell insuffisiens:

Ved signifikant arteriell insuffisiens er revaskularisering nødvendig for å oppnå sårtilheling, og kan gjøres endovaskulært (PTA og stenting) eller med åpen kirurgi (by-pass operasjon eller fjerning av plaque). Prostaglandinanaloger som dilaterer små blodkar forsøkes av og til hos yngre pasienter med perifer ischæmi uten korrigerbar makroangiopati hvor alternativet er amputasjon.

#### 3) Behandling av infeksjon:

Overflatiske DFI behandles med AB etter poliklinisk revisjon med fjerning av debris, fibrin og devitalisert vev. Det tas prøver fra såret før pasienten settes på antibiotika (kloxacillin). DFO krever ofte kirurgisk behandling hvor affisert beinvev fjernes. Bløtvevet inklusive hud lukkes så uten tensjon. Ofte er mangel på bløtvev en begrensende faktor slik at reseksjonen blir mer omfattende enn beinaffeksjonen alene skulle tilsi. Ikke sjelden ender pasienten opp med en partiell fotamputasjon eller major amputasjon. Nyere publikasjoner har beskrevet sanering av DFO etter langvarig (1/2 år) antibiotika uten operativ behandling. Empirisk antibiotikavalg ved DFO er ikke eksplisitt omtalt i Helsedirektoratets antibiotikaveileder

#### 4) Lokal sårbehandling:

Dette er underordnet behandling av de bakenforliggende årsakene. Det er lite dokumentasjon på at noen typer bandasjemateriell er bedre enn andre. Et generelt prinsipp er å velge en bandasje som drenerer fuktige sår og som tilfører tørre sår fuktighet. Tørre nekroser skal holdes tørre.

### **Problemstillinger:**

Vil bedre informasjon fra klinikere til laboratoriene føre til en mer optimal dyrkning og/eller vurdering av vekst i prøvene?

Er «vent å se svar» med identifikasjon av agens men uten resistensbestemmelse av agens med usikkert patogenet potensiale en farbar strategi for klinikere?

**Referanser:**

1. Diabetes Metab Res Rev. 2020;36(S1):e3268
2. Clin Infect Dis. 2007;44:562-565
3. Diabet Med. 2018;35:78-88
4. PLoS One. 2019;14:e0211481
5. Tidsskr NorLegeforen 12. november 2020
6. WHO. Global report on diabetes 2016, 07.01.2019
7. Diabetes Res Clin Pract. 2007;77(3):485-488
8. Diabetes Med. 1994;11(5):480-484
9. Diabetologia. 1996;39(11):1377-1384
10. Diabetes Care. 2011;34(10):2220-2224
11. Diabetologia. 1998;41(11):1263-1269
12. Diabetologia. 1993 Feb;36(2):150-4
13. Handb Clin Neurol. 2014;126:97-107
14. Med Clin North Am. 2013;97(5):775-790
15. Diabet Med. 1994;11(5):480-484
16. Med Clin North Am. 2013;97(5):791-805
17. Prosthetics and Orthotics International 25(3):181-5
18. Sår – årgang 17 – nr 4 2009
19. Diabetes Res Clin Pract. 2000 Oct;50(2):87-95
20. The European Journal of Health Economics vol 18, pages 293-312 (2017)
21. [Diabetisk fot og nevropati - Helsedirektoratet](#)
22. Tidsskr Nor Legeforen 2011;131: 804doi: 10.4045/tidsskr.10.1402
23. Diabetes Metab Res Rev. 2020;36(S1):e3266
24. J Foot Ankle Surg 35528:528-531,1996
25. Diabetes Care 21:855-859,1998
26. Diabetes Care 24:84-88, 2001
27. Diabetes Metab Res Rev. 2020;36(S1):e3272
28. Diabet. Med. 32, 748-759 (2015)
29. Int J Low Extrem Wounds 2010;9: 24 – 30
30. J Foot Ankle Surg 2011; 50: 663-667
31. BMJ Open 2013; 3(1)

## 4.4 Mikrobiologisk diagnostikk av infeksjoner i diabetiske fotsår

Kjersti Wik Larssen, Overlege, avdeling for medisinsk mikrobiologi, St.Olavs Hospital HF

**Problemstilling:** Hva er anbefalt prøvetaking, transport og prøveprosessering ved Diabetiske fotsår (DFI). Hovedutfordringen ved DFI er å få representativt prøvemateriale og å skille reelle patogener fra kontaminanter. Hvordan prioritere analyser med hensyn til valg av medier ut fra tilgjengelig prøvemateriale? Hvilke, og hvor mange, agens vektlegges for identifikasjon og resistensbestemmelse i en polymikrobiell flora. Skal ulike agens vektles ulikt ut fra klinisk informasjon og prøvetakingsmetode?

### Forslag til anbefalinger

#### **Ønsket klinisk informasjon:**

- Type, varighet og lokalitet til sår. Nekroser? Mistanke om osteomyelitt?
- Tidligere antibiotika/ antibiotika-fritt intervall, medikamentallergier
- Prøvetakingsmåte (Særlig viktig dersom curette/biopsi er sendt som penselprøve)
- Prøvemateriale: sårsekret, bløtvevsbiopsi/curette, beinbiopsi

#### **Prøvetaking:**

- Prøve tatt med biopsi eller curette fra sårbunn etter vask og debridement.
- Penselprøve avises ikke, men kan kommenteres «Penselprøve er mindre egnet enn biopsi ved mistanke om DFI. Koloniseringsflora?» ved funn av andre agens enn åpenbart patogener. Anaerob dyrkning på sår avvises med «Penselprøve anses lite egnet til anaerob diagnostikk». Unntak vurderes ved alvorlig klinikk.

#### **Prøvevolum:**

- Mest mulig prøvemateriale ønskes. Helst > 1 g vev for aerob og anaerob dyrkning.
- Dersom for lite materiale kan sopp og mykobakterie-dyrkning avvises med kommentar: «Ikke nok materiale til sopp og/eller mykobakterie-diagnostikk»
- Ved dyp infeksjon/ osteomyelitt: Fortrinnsvis flere biopsier (4-5) fra ulike lokaliteter

#### **Prøvetransport og oppbevaring:**

- Sterilt glass: Sås ut innen 2t. Romtemperatur. I kjøleskap dersom >2t til utsæd.
- Anaerobt transportsystem.: < 24t. Romtemperatur. I kjøleskap dersom >2t til utsæd.
- Soppdyrkning: Sterilt glass i romtemperatur. Sås ut innen 2t.

#### **Dyrkning:**

- Prøver homogeniseres og sås ut aerobt på blod, sjokolade og MacConkey/Lactose agar.
- Vev: Anaerob agar med metronidazol-lapp og anrikningsbuljong inkubert i luft/CO<sup>2</sup> som gir anaerobe forhold ved prøvedeposering i bunnen (eg Thioglycolat).
- Vurder tillegg av selektive anaerobe medier (Kana-Vanko/ Neomycin) ved alvorlig klinikk/ osteomyelitt, eller ved tidligere funn av polymikrobiell flora.
- Eventuelt soppdyrkning på Sabouraud 28 + 35 grader dersom rekvirert og nok materiale
- Eventuelt mykobakterie-dyrkning dersom rekvirert og nok materiale.

## Mikroskopi

- Supplement ved osteomyelitt og ved alvorlig klinikk uavhengig av prøvetakingsmetode.

## Inkubasjonstid:

- Aerob dyrkning 2d. Anaerob dyrkning 5d. Anrikningsbuljong 5d, med subkultur anaerobt på FAA og aerobt på sjokoladeagar i 3 d.

## Identifikasjon og resistensbestemmelse:

- Alle patogene (se tabell)
  - Gram-negative staver besvares med species, men uten resistensbestemmelse, dersom samtidig funn av betahemolytiske streptokokker eller *S.aureus*.
  - Anaerobe: Inntil 3 ulike. >3 besvares med «Anaerob blandingsflora».
  - Ved alvorlig klinikk: Identifikasjon og resistensbestemmelse av alle patogene.
- Mulig patogene: Ved renkultur eller ved funn i flere prøver (tatt samme dag eller i repeterte prøver). Dersom penselprøve kommenter med «Koloniseringsflora?»
- Tvilsomt patogene: Nevnes. Kommenteres med «Tvilsom patogen betydning» og «Hudflora» eller «Miljøbakterie».
- Vurder å spare skåler en uke der resistens ikke er utført «Resistensbestemmelse kan utføres dersom funnet tillegges klinisk betydning. Ta kontakt innen en uke»

## Bakgrunn for anbefalinger

### Mikrobiologi ved DFI

Diabetiske fotsår (DFS) er ofte kolonisert med aerobe Gram-positive kokker (*S.aureus* og betahemolytiske streptokokker). Akutte sår er ofte monomikrobielle, mens kroniske og nylig antibiotika-behandlede sår oftere er polymikrobielle og inneholder Gram-negative staver og anaerobe. I Europa og Nord Amerika forårsakes de fleste infeksjoner av *S.aureus*, mens i varmere strøk er *P.aeruginosa* og andre Gram-negative staver vanligere (1-4).

Biofilm spiller en viktig rolle ved DFI, og molekylære metoder påviser flere agens enn dyrkning. De vanligste mikrobene påvist med PCR korrelerer likevel med dyrkning, med dominans av aerobe Gram-positive kokker. I tillegg forekommer ofte kravstore anaerobe og ulike Gram-negative staver (1, 4).

Sopp er lite omtalt i retningslinjer om DFI, og sopp-osteomyelitt er sjelden (2). Diabetes er imidlertid en kjent risikofaktor for soppinfeksjon. Studier har vist 5-27% prevalens av gjærsopp ved DFI (4, 5). Muggsopp er sjeldnere, men trolig assosiert med mer alvorlig forløp

### Diagnostikk av DFI

Diagnostikken er basert på klinisk vurdering og dyrkning. Over halvparten av DFS er infiserte ved klinisk presentasjon. Empirisk behandling starter som regel i påvente av dyrkningsvar. Prøvetaking fra klinisk ikke-infiserte sår frarådes (4, 6, 7). Prøve bør tas fra vev som ikke er kontaminert av koloniseringsflora, med tilstrekkelig antibiotika-fritt intervall uten før prøvetaking (1, 2, 8).

### Prøvetaking

Prøve tatt med curette eller biopsi fra sårbunn etter debridement er ansett som mest sensitivt og spesifikt. Penselprøve er ikke anbefalt til diagnostikk av anaerobe, sopp eller kravstore



bakterier på grunn av lite prøvevolum og større kontaminasjonsfare. Aspirat fra abscess er pålitelig (1, 2, 6-13). Ved osteomyelitt er beinbiopsier mer nøyaktige for å påvise patogene agens enn prøver fra dypt i bløtvev (og finner generelt færre agens). Prøvetaking bør skje via frisk hud. Retningslinjer anbefaler vev foran penselprøver (2, 6, 9, 14). Blodkulturer tas ved sepsis (3).

En prospektiv studie fant 58% diskrepans mellom dyrkningsfunn i biopsier og penselprøver fra samme sår, med signifikant flere patogene bakterier og færre kontaminanter i vevsprøvene. Begge prøvetakingsmetodene mistet signifikante mikrober den andre fant i noen tilfeller, og å benytte begge ga mest informasjon. Penselprøve etter debridement er enkelt og skånsomt for pasienten, og mange klinikere benytter dette. Funntall må i så fall tolkes varsomt (7, 8). Det fins ikke gode data på at tilleggsinformasjonen man får ved dyrkning av vevsbiopsier versus sårsekret gir mer optimal antibiotika-forskrivning eller bedre klinisk utfall (8). Mange laboratorier tilbyr mindre prosessering av penselprøver enn vev, noe som også er anbefalt (8, 13).

Mengde vev en kan oppnå vil variere med lokalitet og utbredelse av sår og beinaffeksjon. Det ønskes mest mulig materiale for økt sensitivitet, særlig for anaerobe, kravstore bakterier og sopp. Flere guidelines anbefaler 1g/ 1cm<sup>3</sup> for vev (6, 13). For anaerob diagnostikk ønskes minimum 1g vev (10). Flere biopsier ( gjerne 4-5) tatt per-operativt (med separate instrument) anbefales i utredning av kronisk osteomyelitt (2, 10).

### **Prøvetransport, oppbevaring og prosessering**

Rask transport og oppbevaring (<2 t) i romtemperatur før utsæd anbefales (1, 2, 9). Biopsi kan sendes på sterilt glass fuktet med litt NaCl dersom rask transport er mulig. Store biopsier bevarer anaerobe forhold bedre enn små (2). For anaerobe er bruk av anaerobt transportsystem å anbefale, men disse er uegnet for sopp.

Rask utsæd er av særlig betydning for påvisning av anaerobe og sopp (1, 10, 11). Ved utsæd etter >2t anbefales oppbevaring i kjøleskap, men dette senker mulighet til påvisning av anaerobe (2, 10). Før utsæd til bakteriologisk dyrkning anbefales homogenisering av vev (mekanisk eller morter). For soppdyrkning må små vevsbiter kuttes av med skalpell (2). Prøvene bør håndteres i sikkerhetskabinett klasse II.

### **Prioritering av prøvemateriale**

Aerob og anaerob dyrkning anbefales som standard på vev og aspirat av pus (3). For penselprøver prioriteres aerob dyrkning (7, 10, 11).

Sopp og mykobakterie-dyrkning er lite nevnt i guidelines, og er kanskje mest aktuelt ved kompliserte/ behandlingsrefraktære tilfeller, særlig dersom sparsomt med prøvemateriale. Prøver som ikke er merket med ulike lokaliteter kan slås sammen til 5 dersom mottatt  $\geq 5$ .

### **Mikroskopi**

Gram-preparat for å få inntrykk av dominerende agens og leukocyttemengde anbefales i flere guidelines ved DFI (1, 3). Samtidig angir noen at korrelasjon mellom preparat og dyrkning er lav, og noen sier at penselprøver fra sår ved DFI som regel ikke behøver Gram-farging (3, 7).

### **Dyrkingsmedier og inkubasjon**

Det anbefales både selektiv Gram-negativ agar og nonselektiv agar som blod og sjokolade grunnet polymikrobiell flora. For anaerob dyrkning anbefales både nonselektiv og selektive

anaerobe skåler samt anrikningsbuljong der en oppnår anaerobe forhold (Eg Thioglycolat, Schaedler). Litteraturen spriker i antall selektive medier som anbefales. Anbefalt dyrkningstid er 48 timer aerobt og 5-7 dager anaerobt, med subkultur aerobt og anaerobt fra anrikningsbuljong ved synlig vekst eller på dag 5 (2, 3, 12, 13).

De fleste gjærsopp vil kunne vokse på blod og sjokoladeskål, men kan tape i konkurranse med mer hurtigvoksende bakterier, samt at dyrkningstid på 2 dager er for kort for en del sopp.

En referanse anbefaler tillegg av Saboraud agar ved DFI på penselprøver (7).

Det vises til strategirapporter om sopp og mykobakterier for anbefalinger mht disse agens.

### PCR baserte analyser.

Dyrkbare bakterier utgjør en liten del av bakteriell diversitet ved DFI (1). Mikrobiom analyser påviser signifikant flere anaerobe, polymikrobielle infeksjoner og *Corynebacterium spp* enn dyrkning, men konsekvensen denne tilleggsinformasjonen har for terapivalg og klinisk utfall er ikke godt nok kartlagt ennå. I tillegg kommer kostander og personellbehov.

Mikrobiomanalyser kan bidra til å avklare ulike mikrobers rolle ved DFI, men per i dag anser de fleste at molekylære metoder ikke er anbefalt i rutinediagnostikken (1, 14).

### Vurdering av vekst

Det fins ingen generell anbefaling for prioritering av patogene organismer for behandling ved DFI (3, 15). I tempererte klima er det som regel nok å rette empirisk behandling mot aerobe grampositive kokker ved milde DFI (14). Gramnegative er vanligere ved moderate og alvorlige infeksjoner og dersom kort tid siden antibiotikabehandling. Anaerobe kan spille en rolle særlig ved iskemi eller abscesser (11, 14). En praktisk inndeling i patogene, mulig patogene og tvilsomt patogene kan brukes som en guide, se tabell. Unntak må vurderes i lys av prøvetakingsmetode og klinikk. Mulig patogene tillegges større rolle dersom gjentatte funn i prøver som er tatt adekvat, samt ved alvorlig klinikk (3, 4).

*P.aeruginosas* rolle som patogen i DFS er usikker, særlig i tempererte strøk, men bør vurderes ved gjentatte funn, alvorlig klinikk eller reiseanamnese (3, 9, 14)

	Sikkert patogene	Mulig patogene	Koloniseringsflora/Tvilsomt patogene
Gram-positive kokker, catalase pos.	<i>S.aureus</i> , <i>S.lugdunensis</i>	KNS	<i>Dermabacter hominis</i>
Gram-positive kokker, catalase neg.	Betahemolytiske streptokokker <i>Streptococcus milleri (S.anginosus, S.constallatus, S.intermedius)</i>	<i>Enterococcus spp</i>	Viridans streptokokker
Gram-negative	<i>Enterobacterales (E.coli, Proteus spp, Klebsiella spp med fler)</i>	<i>Pseudomonas spp</i> <i>Aeromonas spp</i> <i>Acinetobacter spp</i>	
Diverse	Anaerober ( <i>Bacteroides spp, F.magna, P.harei, P.anaerobius; P.bivia mfl</i> )	<i>Corynebacterium spp</i> <i>Candida spp</i> Muggsopp	<i>Bacillus spp</i>

Tabell tilpasset fra referanse (15) med tillegg/nyansering fra referanse (3-5)

### Problemstillinger:

- Omfanget av identifikasjon og resistensbestemmelse i en polymikrobiell flora.
  - Skille mellom innlagt og ikke innlagt pasient?
  - Skille mellom mild, moderat og alvorlig infeksjon?
  - Skille mellom pensel fra sår og vevsbiopsi?

- Er det nok å bare nevnte Gram-negative i overfladiske prøver (pensel) dersom samtidig funn av betahemolytiske streptokokker og/eller *S.aureus*?
- Er selektiv besvaring, men åpning for mer ved å oppbevare skålene en OK strategi
- Skal egen soppdyrkning legges til på prøver fra DFI
- Bør man gjøre Gram-farging på alle vevsbiopsier ved DFI uavhengig av klinikk?

## Referanser

1. Spichler A, Hurwitz BL, Armstrong DG, Lipsky BA. Microbiology of diabetic foot infections: from Louis Pasteur to 'crime scene investigation'. BMC Med. 2015;13:2.
2. PHE. Investigation of bone and soft tissue associated with osteomyelitis: Public Health England; 2015. Available from: [https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/491748/B\\_42i2.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/491748/B_42i2.pdf).
3. Dryden M LJ. The diabetic foot. In: Cornaglia G CR, editor. ESCMID-SFM Manual of Microbiology. 1st ed 2012. p. 235-9.
4. Saeed K, Esposito S, Akram A, Ascione T, Bal AM, Bassetti M, et al. Hot topics in diabetic foot infection. International journal of antimicrobial agents. 2020;55(6):105942.
5. Torrence GM, Schmidt BM. Fungal Osteomyelitis in Diabetic Foot Infections: A Case Series and Comparative Analysis. Int J Low Extrem Wounds. 2018;17(3):184-9.
6. Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, Pile JC, Peters EJ, Armstrong DG, et al. 2012 Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2012;54(12):e132-73.
7. PHE. Investigation of swabs from skin and superficial soft tissue infections: Public Health England; 2018. Available from: [https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/766634/B\\_11i6.5.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/766634/B_11i6.5.pdf).
8. Nelson A, Wright-Hughes A, Backhouse MR, Lipsky BA, Nixon J, Bhogal MS, et al. CODIFI (Concordance in Diabetic Foot Ulcer Infection): a cross-sectional study of wound swab versus tissue sampling in infected diabetic foot ulcers in England. BMJ open. 2018;8(1):e019437.
9. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2018;67(6):813-6.
10. Nagy E, Boyanova L, Justesen US, Infections ESGoA. How to isolate, identify and determine antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in routine laboratories. Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2018;24(11):1139-48.
11. Charles PG, Uckay I, Kressmann B, Emonet S, Lipsky BA. The role of anaerobes in diabetic foot infections. Anaerobe. 2015;34:8-13.
12. Strategimøte nr 23: Anaerob diagnostikk: Folkehelseinstituttet 2009.
13. McElvania E SK. Specimen Collection, Transport, and Processing: Bacteriology. In: Carroll KC PM, Landry ML, McAdam AJ, Patel R, Richter SS, Warnock DW, editor. Manual of Clinical Microbiology. 12th ed: American Society for Microbiology; 2019. p. 302-30.
14. Lipsky BA, Senneville E, Abbas ZG, Aragon-Sanchez J, Diggle M, Embil JM, et al. Guidelines on the diagnosis and treatment of foot infection in persons with diabetes (IWGDF 2019 update). Diabetes Metab Res Rev. 2020;36 Suppl 1:e3280.
15. Macauley M, Adams G, Mackenny P, Kubelka I, Scott E, Buckworth R, et al. Microbiological evaluation of resection margins of the infected diabetic foot ulcer. Diabet Med. 2021;38(4):e14440.

## 4.5 Akutt artritt hos barn og voksne

**Therese Johansen. NLSH Bodø, Diagnostisk klinikk, Mikrobiologisk enhet.**

[Therese.johansen@nordlandssykehuset.no](mailto:Therese.johansen@nordlandssykehuset.no)

**Problemstilling:** Mikrobiologisk diagnostikk ved akutt artritt forårsaket av bakterier i ledd hos barn og voksne. Proteseinfeksjoner eller virale årsaker omtales ikke.

Forslag til anbefalinger:

- Aspirert leddvæske sendes til laboratoriet på steril beholder evt. igjenkorket sprøyte.
- Anbefalt volum er så mye som mulig, helst >1ml.
- Det er ikke anbefalt å sende inn leddvæske på pensel. Prøven avvises ikke, men bør kommenteres. Forslag kommentar «*For optimal mikrobiologisk diagnostikk bør leddvæske sendes til laboratoriet i en steril beholder. Pensel er ikke anbefalt*»
- Transporttid og prøveoppbevaring: Sendes så raskt som mulig til laboratoriet. Bør sås ut så raskt som mulig. Kan oppbevares i inntil 4 timer ved romtemperatur, hvis forsinket prosessering anbefales kjøling.
- Direkte mikroskopi med gramfarging av leddvæske er anbefalt, men analysen har lav sensitivitet. Prioriteres ikke dersom lite materiale.
- Dyrkning av leddvæsken: sås ut på sjokolade- og blodskål, inkuberes i 5% CO<sub>2</sub> ved 35-37 grader. Anbefalt dyrkningstid: 5 dager (?). Anaerob dyrkning bør vurderes (Anrikningsbuljong og/eller FAA): 5 dager (?)
- Inkubering av leddvæske på blodkulturflasker (aerob + anaerob), gitt at man har nok materiale. Hvis ikke nok volum prioriteres aerob flaske.
- Ved dyrkningsnegativ leddvæske: vurder biopsi av synovialhinnen til dyrkning og spesialundersøkelser.
- 16S rRNA forbeholdes pasienter med dyrknings-negativ leddvæske og sterk mistanke om infeksjon. Agensspesifikk PCR vurderes ut fra klinisk mistanke.
- Barn <5år: Inokulering i blodkulturflasker nedprioriteres dersom lite volum, sendes heller spesifikk *Kingella kingae* PCR.

**Dagens status:** Direkte mikroskopi og dyrkning av leddvæske, både primært og i blodkulturflasker er veletablerte metoder ved mistanke om infeksjøs artritt hos barn og voksne. Dersom pasienten har fått antibiotika eller ved sterk mistanke om infeksjon, men negativ dyrkning, kan man gjøre spesifikk eller generell (16s rRNA) PCR på leddvæske. Utfordringen kan noen ganger være lite materiale.

**Bakgrunn:** Akutt infeksjøs artritt presenterer seg som hovent ledd, ledsaget av nedsatt bevegelighet, smerte og rødme i affisert ledd, med eller uten feber. Symptomene overlapper med andre leddsykdommer som revmatoid artritt og krystallartritter, som kan være utfordrende siden dette er tilstander som i seg selv gir økt risiko for infeksjøs artritt. Infeksjon skjer enten via hematogen spredning, eller via direkte inokulasjon ved traume eller inngrep i leddet. Dette er en tilstand som krever rask behandling. Skade på leddstrukturer (eks tidligere traume eller degenerative forandringer) er en risikofaktor for nedslag av bakterier i leddet ved bakteriemi. Den akutte inflammatoriske responsen forårsaket av invasjon av mikroorganismer i leddet kan føre til rask destruksjon av brusk og bein. 10-32% av pasienter med infeksjøs artritt får varig nedsatt funksjon i

leddet og tilstanden har en in-hospital mortalitetsrate på 3-15% (1, 2). De fleste infeksjøs artrittene er monoartrikulære.

*Staphylococcus aureus* er vanligste årsak hos barn og voksne. *Streptococcus* spp, inkludert gruppe A, B, C og G, alfa-hemolytiske streptokokker (sjeldnere *Streptococcus pneumoniae*), er også vanlig årsak til infeksjøs artritt i native ledd. Gramnegative bakterier kan gi infeksjøs artritt hos nyfødte, eldre, iv misbrukere og immunosupprimerte (3). Blant gramnegative er *Pseudomonas aeruginosa* og *Escherichia coli* vanligste agens. Anaerobe bakterier kan man finne i en liten prosentandel, og er vanligere hos pasienter med diabetes og ved proteseinfeksjoner (4).

Hos spedbarn 0-3 mnd. er GBS og gramnegative vanligste agens (5).

*Kingella kingae* kan være årsak til septisk artritt hos barn under 5 år, og i noen studier er dette vanligste årsak etter *S. aureus* i aldersgruppen 3 mnd. til 5 år, men geografiske variasjoner er vist (6).

Ved dyrkningsnegativ mistenkt infeksjøs artritt må andre agens som *Mycobacterium tuberculosis*, atypiske mykobakterier, sopp, *Borrelia*, *Brucella* og *Mycoplasma* overveies. Sopp og *M. tuberculosis* forekommer først og fremst hos immunosupprimerte pasienter (2).

Gonokokkartritt er sjelden i dag. *Neisseria gonorrhoeae*-dyrking av leddvæsken kan være negativ, prøve til PCR fra urin/genitaliene anbefales på mistanke., eventuelt også PCR fra leddvæske.

Celler og krystaller i leddvæske er viktige analyser i differensialdiagnostikken og krever opptil 2ml leddvæske. Leukocyttall over  $50 \times 10^9/L$  taler for infeksjøs artritt, men lavere leukocyttall utelukker ikke diagnosen (2, 3).

**Prøvevolum og transport:** Aspirert leddvæske anbefales sendt inn på steril beholder evt. igjenkorket sprøyte. Anbefalt volum er så mye som mulig, helst > 1 ml, utfordringen er ofte for lite volum.

Prøven bør sendes så raskt som mulig til laboratoriet, og bør sås ut så raskt som mulig, men kan oppbevares inntil 2–4 timer i romtemperatur før utsæd (3, 7). Dersom lengre enn 4 timer før prosessering bør prøven oppbevares ved kjøleskaptemperatur (7).

Særlig ved små volum (<1ml) er det viktig at prøven ankommer laboratoriet så raskt som mulig for å forhindre uttørking (man kan da eventuelt tilsette et par dråper saltvann) (8).

Det er ikke anbefalt å sende inn leddvæske på pensel (8).

**Direkte mikroskopi** med gramfarging av leddvæske er anbefalt (2, 3, 8), men analysen har lav sensitivitet 29-65% (1). Klinikeren må derfor gjøres oppmerksom på at et negativt mikroskopifunn ikke utelukker infeksjon. Spesifisitet er ikke undersøkt. Dersom lite materiale bør dyrkingen prioriteres.

Ved en akutt infeksjon der resultatet av mikroskopien kan påvirke behandlingen bør leddvæsken mottas, farges og mikroskoperes innen 4 timer (7) – positivt resultat varsles kliniker. Med unntak av koagulerte eller svært viskøse væsker anbefales det sentrifugering av leddvæsken før man lager grampreparat i flere kilder (7, 8), kun dersom materiale er tykt, blodig eller puss bør det deponeres direkte på objektglasset.

Manual of Clinical Microbiology foreslår at leddvæske til gramfarging kan tilsettes EDTA rør, for å forhindre koagulering. Heparingsglass er foreslått andre steder (9). Under normale forhold inneholder ikke leddvæsken koagulasjonsfaktorer, men ved inflammatoriske tilstander (både infeksjøs og ikke infeksjøs) øker karpemeabiliteten lokalt og koagulasjonsfaktorer kan slippe ut i leddvæsken slik at den koagulerer og blir så viskøs at det er vanskelig å legge opp et godt preparat for mikroskopi. Ved å

forhindre koagulasjon får man en mer effektiv sentrifugering og et mer homogent materiale. Om dette øker sensitiviteten ved direkte mikroskopi er ikke vist (9). Tilsetning til andre glass enn sterilbeholder kan vanskeliggjøre andre mikrobiologiske analyser.

**Dyrkning av leddvæsken** er gullstandard i diagnostikk av akutt infeksjons artritt (2). Leddvæske anbefales sådd ut på sjokolade- og blodskål og inkubert i 5% CO<sub>2</sub> ved 35-37 grader. Rutinedyrkning på skål angis å ha en sensitivitet og spesifisitet på hhv. 70-90% og 75-95%. Tidligere antibiotikabehandling, hvilke medier som benyttes og inkubasjonstiden kan påvirke sensitiviteten på dyrkingen. En kilde anbefaler inkubasjon i minst 4 dager, basert på en gjennomsnittlig tid til oppvekst på 36,65 ± 27,13 timer (1), mens andre mener 2 dager er nok (7). Anaerobe bakterier er ikke vanlig ved infeksjons artritt i native ledd, anaerob dyrkning er likevel anbefalt i noen kilder (3).

Flere studier har vist økt sensitivitet når leddvæsken inkuberes på blodkulturflasker (1). Inokulasjon av leddvæske på **blodkulturflasker**, som et supplement til tradisjonell dyrkning, er anbefalt gitt at man har nok materiale (8). Helst bør både aerob og anaerob flaske benyttes (3), med minst 1 ml i hver. Hvis ikke nok volum prioriteres aerob flaske. Man må følge produsentens anbefalinger angående tilsetninger og volum, og være oppmerksom på at ikke alle blodkulturflasker er godkjent for bruk på sterile væsker.

Samtidig eller sekundær bakteriemi eller fungemi ved akutt infeksjons artritt forekommer, og det bør derfor alltid tas blodkulturer (helst 2 sett før oppstart av antibiotika) ved mistanke om infeksjon i native ledd. (3) Ved infeksjons artritt og dyrkningsnegativ leddvæske har enkelte studier vist at man kan påvise etiologisk agens i 9-11% tilfeller ved funn i blodkultur (1).

### Biopsi av synovialhinnen

Ved dyrkningsnegativ leddvæske kan man vurdere å ta biopsi av synovialhinnen, for gramfarging, aerob og anaerob dyrkning samt histopatologisk vurdering. Andre aktuelle analyser er spesialfarging/dyrkning eller PCR med tanke på mykobakterier, *Brucella*, sopp, *Borrelia* og *Mycoplasma* (2, 3). Det er uvanlig å påvise *M. tuberculosis* eller andre *Mycobacterium spp.* ved mikroskopi og dyrkning av leddvæsken hos pasienter med infeksjons artritt med disse etiologiske agensene. Biopsi av synovialhinnen øker sannsynligheten for deteksjon (3).

### Molekylær diagnostikk

16s rRNA har dårligere sensitivitet enn dyrkning, og bør derfor forbeholdes pasienter med dyrkningsnegativ leddvæske/forutgående antibiotikabehandling og sterk mistanke om infeksjon (1).

Spesifikk PCR, særlig mot langsomt voksende og kravstore bakterier som kan være vanskelig å dyrke, har vist seg å være klinisk nyttig. Eks. *K. kingae*, hvor tradisjonell dyrkning vanligvis ikke påviser bakterien. Sensitiviteten for påvisning av *K. kingae* er noe bedre ved direkte inokulasjon av leddvæske på blodkulturflasker, men på langt nær så god som sensitiviteten til spesifikk *Kingella*-PCR (1). *S. aureus* er imidlertid vanligste etiologiske agens uavhengig av alder og geografi, og spesifikk PCR med tanke på *S. aureus* kan vurderes ved dyrkningsnegativ leddvæske/i tilfeller hvor pasienten er antibiotika-behandlet før leddpunksjon og drenasje.

Ved mistanke om *Borrelia*-artritt, tas alltid serologi, i tillegg anbefales leddvæske til *Borrelia* PCR (3).

Multiplex PCR har fordeler med at de er enkle i bruk og identifiserer agens i løpet av få timer. Det fins imidlertid, undertegnede bekjent, ingen som er godkjent til klinisk bruk ennå. Dyrkning kommer fortsatt til å være nødvendig for resistensbestemmelse og for å finne de agens som ikke inngår i multiplex panelene (1).

## Barn

Blodkultur bør alltid tas før oppstart av antibiotika. Leddvæsken skal til gramfarging og dyrkning som hos voksne. Inkubering av leddvæske i blodkulturflasker har de senere år økt anerkjennelsen av *K. kingae* som en av de vanligste årsakene til ben-og leddinfeksjon hos barn under 5 år, så dersom nok materiale er inkubering på aerob blodkultur flaske anbefalt. Sensitiviteten til spesifikk PCR med tanke på *K. kingae* er imidlertid mye bedre, så dersom man ikke har nok materiale til begge analysene, bør PCR prioriteres (6).

Det er en assosiasjon mellom orofaryngealt bærerskap av *K. kingae* og osteoartrikulære infeksjoner hos barn under 4 år (10). Halsprøve til PCR med tanke på *K. kingae* kan vurderes.

### Problemstilling til diskusjon:

Skal leddvæsker dyrkes anaerobt? På flytende og/eller faste medier? Hvor lenge? Litteraturen spriker noe. Bør trolig vurderes i lys av om leddvæske også er innsendt på blodkulturflasker eller ikke.

Hvor lenge skal leddvæsker dyrkes aerobt. Likt for alle eller lenger for barn der *K. kingae* er en mulighet?

Referanser:

1. Costales C, Butler-Wu SM. A Real Pain: Diagnostic Quandaries and Septic Arthritis. *J Clin Microbiol.* 2018;56(2).
2. Vårdprogram för Led-och skelettinfektioner Infektion.net: Svenska Infektionsläkarföreningen; 2018 [cited 2021. Available from: <https://infektion.net/varprogram/led-och-skelettinfektioner/>.
3. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases.* 2018;67(6):e1-e94.
4. Shirliff ME, Mader JT. Acute septic arthritis. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(4):527-44.
5. Infeksjoner i bein og ledd - revidert versjon (ikke publisert) helsebiblioteket.no: Norsk barnelegeforening; 2021 [cited 2021. Available from: <https://www.helsebiblioteket.no/retningslinjer/akuttveileder-i-pediatri/infeksjoner/infeksjoner-i-bein-og-ledd>.
6. Saavedra-Lozano J, Falup-Pecurariu O, Faust SN, Girschick H, Hartwig N, Kaplan S, et al. Bone and Joint Infections. *Pediatr Infect Dis J.* 2017;36(8):788-99.
7. UK Standards for Microbiology Investigations for investigation of fluids from normally sterile sites. [www.gov.uk](http://www.gov.uk)2018 [updated 5 October 2018. Available from: <https://www.gov.uk/government/publications/smi-b-26-investigation-of-fluids-from-normally-sterile-sites>.
8. McElvania E, Singh K. Chapter 19: Specimen Collection, Transport, and Processing: Bacteriology. *Manual of Clinical Microbiology.* 12th ed2019. p. 302-30.
9. Stirling P, Faroug R, Amanat S, Ahmed A, Armstrong M, Sharma P, et al. False-negative rate of gram-stain microscopy for diagnosis of septic arthritis: suggestions for improvement. *Int J Microbiol.* 2014;2014:830857.
10. Samara E, Spyropoulou V, Tabard-Fougère A, Merlini L, Valaikaite R, Dhoub A, et al. *Kingella kingae* and Osteoarticular Infections. *Pediatrics.* 2019;144(6):e20191509.

## 4.6 Akutt og kronisk osteomyelitt hos voksne og barn

Kyriakos Zaragkoulias, Helse Nord-Trøndelag, Avd. Laboratoriemedisin, Seksjon for medisinsk mikrobiologi, Levanger

Epost: [Kyriakos.Zaragkoulias@hnt.no](mailto:Kyriakos.Zaragkoulias@hnt.no)

### Forslag til anbefalinger:

#### **Prøvemateriale:**

- Beinvev
- Blodkultur (febril pasient/ mistanke om hematogen osteomyelitt/ barn)
- Prøver fra fistler og penselprøver frarådes

#### **Prøvetaking:**

- Mest mulig prøvemateriale bør tas før antibiotikabehandling startes, eventuelt etter et to ukers langt antibiotikafritt intervall
- Aseptisk prøvetaking av beinbiopsier fra affisert område
- Åpen biopsi (4-5 stk.) ved kronisk osteomyelitt, finnålsbiopsi/ bildeveiledet perkutan biopsi ved akutt osteomyelitt

#### **Transport, forsendelse og oppbevaring**

- Biopsier sendes på steril beholder, ev. tilsatt noen dråper steril, ikke-bakteriostatisk væske og på anaerobt transportmedium
- Raskest mulig transport til laboratoriet. Ideelt sett bør prøven ankomme lab innen 15 – 30 minutter (spesielt viktig ved små prøvevolum (< 1 cm<sup>3</sup>) og såes ut så raskt som mulig.
  - Ved kort transporttid (< 2 t) og ved mistanke om anaerobe infeksjoner, oppbevares prøven ved romtemperatur
  - Ved transporttid > 2 t og anaerobe ikke mistenkes, bør prøven oppbevares kjølig

#### **Dyrkning:**

- Vevsprøver bør homogeniseres før utsæd (unntak: dyrkning av mykobakterier og sopp)
- Dyrkning

Medium	Inkubasjon			Avlesning
	Temperatur (°C)	Atmosfære	Tid	
Blodagar, Sjokoladeagar, og McConkey/ Lactose Agar	35 - 37	5 - 10% CO <sub>2</sub>	40 – 48 timer (5-7 dager dersom Anrikningsbuljong ikke tas med)	daglig
FAA	35 - 37	anaerobt	5 dager	≥40 timer
Anrikningsbuljong med utsåing når buljongen er blakket. Ellers med terminal subkultur på FAA og sjokoladeagar	35 - 37	aerobt	5 dager	



### Andre aktuelle analyser:

- Mikroskopi bør utføres på alle beinbiopsier
- Genteknologiske analyser bør vurderes ved mistanke om kravfulle bakterier (f.eks. *Kingella Kingae* hos barn < 5 år, og ved negativ dyrkning)

### Innledning

Osteomyelitt er en infeksjon lokalisert til bein og beinmarg forårsaket av bakterier, virus eller sopp. Sykdommen kan klassifiseres etter patogenese (endogen (hematogen spredning) vs. eksogen (sekundært til kirurgi, hud- og bløtvevsinfeksjoner og traumer, særlig åpne frakturer) og etter varighet (akutt osteomyelitt (utvikling over dager/symptomer under to uker) vs. kronisk osteomyelitt (utvikler over måneder eller år og karakteriseres av dødt beinvev, sekvester, fisteldannelser og kroniske sår)).

#### *Etiologi*

Ved endogen (hematogen) spredning er årsaken til osteomyelitt vanligvis monobakteriell, mens infeksjonen forårsaket av eksogen spredning (direkte spredning fra sår eller bløtdelsinfeksjoner) ofte er polymikrobiell.

*Staphylococcus aureus* er den vanligste årsaken (i >70% av tilfellene) til akutt og kronisk osteomyelitt både hos barn og voksne. *Kingella kingae* dominerer ved akutt osteomyelitt hos barn i alderen 6 til 48 mnd. Beta-hemolytiske streptokokker, pneumokokker og alfa-hemolytiske streptokokker er også vanlige patogener. gramnegative bakterier som årsak til osteomyelitt finnes først og fremst hos eldre med komorbiditet (særlig sengeliggende) og ved sakral osteomyelitt. Injisierende rusbrukere og immunsupprimerte har også økt risiko for gramnegativ etiologi. Anaerobe bakterier er en uvanlig årsak til osteomyelitt hos barn. Mykobakterier, sopp, parasitter, *Coxiella burnetii* og *Brucella spp.* er sjeldne agens.

Hvilke typer bakterier som forårsaker osteomyelitt avhenger av patogenese (tabell 1) samt pasientens alder og risikofaktorer (tabell 2).

Tabell 1. Vanligste årsak til osteomyelitt etter patogenese

<p><b>Osteomyelitt relatert til kirurgi, og traumer (særlig åpne frakturer):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i></li> <li>• Enterokokker</li> <li>• Aerobe Gram negative bakterier</li> <li>• Bakterier tilhører hudfloraen</li> <li>• Jordbakterier (muggsopper ofte inkludert)</li> <li>• Non-tuberkuløse mykobakterier, NTM</li> </ul>	<p><b>Osteomyelitt relatert til hud- og bløtvevsinfeksjoner i underekstremitene:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Blandingsflora (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ofte inkludert)</li> </ul>
<p><b>Osteomyelitt relatert til infeksjon i tenner og deres støttevev:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aerobe og anaerobe bakterier i munnhulen (<i>Actinomyces spp.</i> ofte inkludert)</li> </ul>	<p><b>Kronisk osteomyelitt:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i> (Small-colony variants ofte inkludert)</li> <li>• Aerobic Gram-negative bacteria</li> <li>• Koagulase negative stafylokokke</li> <li>• <i>Corynebacterium spp.</i></li> </ul>
	<p><b>Osteomyelitt relatert til Mycetom:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Nocardia spp</i></li> <li>• <i>Actinomyces spp.</i></li> <li>• Filamentøse sopparter</li> </ul>

Tabell 2. Vanligste årsak til osteomyelitt etter pasientens alder og risikofaktorer

<b>Barn &lt;3 måneder:</b>	<b>Pasienter med intravaskulære katetre:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i></li> <li>• Streptokokker gruppe B</li> <li>• Aerobe Gram negative bakterier (eg., <i>E. coli</i>)</li> <li>• <i>Candida albicans</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i></li> <li>• <i>Candida spp.</i></li> </ul>
<b>Barn fra 3 måneder og opp til 5 år:</b>	<b>Injiserende rusbrukere :</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i></li> <li>• <i>Kingella kingae</i> (&lt;4 år)</li> <li>• <i>Streptococcus pyogenes</i></li> <li>• Pneumokokker (barn som har økt risiko for pneumokokk-sykdom)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i></li> <li>• <i>Pseudomonas aeruginosa</i></li> </ul>
<b>Barn ≥5 år:</b>	<b>Pasienter med sigdcellesykdom:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i></li> <li>• Streptokokker gruppe A</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i></li> <li>• <i>Salmonella spp.</i></li> </ul>
<b>Voksne:</b>	<b>Dialysepasienter:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i></li> <li>• Koagulase negative stafylokokker</li> <li>• Aerobe Gram negative bakterier</li> <li>• Anaerobe Gram positive bakterier (eg. <i>Peptostreptococcus spp.</i>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>S. aureus</i></li> <li>• Koagulase negative stafylokokker</li> <li>• Aerobe Gram negative bakterier</li> </ul>
<b>Eldre:</b>	<b>Immunsupprimerte:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gram negative stavbakterier</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Salmonella spp.</i></li> <li>• <i>Candida spp.</i></li> <li>• <i>Aspergillus spp.</i></li> <li>• <i>Nocardia spp.</i></li> <li>• <i>Mycobacterium spp.</i></li> </ul>

## Mikrobiologisk diagnostikk

### Prøvemateriale

Dyrkning av infeksjøst beinvev med identifisering av mikroben regnes som gullstandard for å fastslå korrekt hvilken mikrobe som forårsaker osteomyelitten. Hos febrile pasienter bør blodkulturer tas (før oppstart av antibiotika) i tillegg til beinbiopsier. Blodkultur vil oftere være positiv ved hematogen osteomyelitt. Hos barn skal det rutinemessig tas blodkulturer (2 aerobe blodkulturflasker er å foretrekke), fordi diagnosen ofte stilles på bakgrunn av kliniske funn, billeddiagnostikk og positiv blodkultur (f.eks. *Kingella kingae*).

Dyrkning fra fistler bør unngås da disse prøvene ofte er villedende grunnet kontaminering fra hud. Penselprøver frarådes.

### Prøvetaking

For å få representative beinbiopsier til dyrkning bør de tas aseptisk, enten som åpen biopsi forbundet med kirurgi, finnålsbiopsi, eller bildeveiledet perkutan biopsi. Man bør ta så mye materiale som mulig, avhengig av antall tester som kreves. For store vevsbiter bør unngås da risiko for kontaminasjon øker når man jobber med prøven i laboratoriet. Man risikerer dessuten at representative deler av prøven overses. Dersom det ikke er tatt nok prøvemateriale, bør klinikerens kontaktes for å prioritere hvilke undersøkelser som skal

utføres. Antall prøver avhenger av klinisk situasjon. Ved akutt osteomyelitt tar man ofte færre biopsier gjennom finnålsbiopsi eller bildeveiledet perkutan biopsi. Ved kronisk osteomyelitt er dyrkning av perkutan biopsi ofte negativ. Derfor bør 5 stk. åpenbiopsier tas fra beinet under debridement for å øke sensitivitet og spesifisitet på dyrkning. Beinbiopsier bør alltid tas fra affisert område. Vev tilsluttet synlig affisert bein, eller nær sekvester kan tas i tillegg. Eventuell antibiotikabehandling bør opphøre minst 2 uker før prøvetaking. Dette vil redusere faren for falsk negativ dyrkning fra 55 % til 23%.

#### Transport, forsendelse og oppbevaring

Beinbiopsier og beinvev bør transporteres i sterilt, anaerobt transportmedium. For å sikre optimal prøvebehandling og dyrkningsforhold for kravfulle bakterier bør beinbiopsiene sendes til laboratoriet snarlig etter prøvetaking. Mengde materiale avgjør hva som er akseptabel transporttid for prøven. Små mengder vev (<1 cm<sup>3</sup>) bør ankomme lab innen 15-30 min for å unngå fordamping, uttørring og påvirkning fra omgivelser. Noen dråper steril, ikke-bakteriostatisk væske kan tilsettes for fuktighet. "Infectious Diseases Society of America (IDSA)" sine retningslinjer anbefaler at beinbiopsiene sendes ved romtemperatur, og såes ut så raskt som mulig og innen 2 timer etter prøvetaking. Hvis denne tiden overstiges, er kjølig temperatur å foretrekke fremfor romtemperatur (unntak: ved mistanke om funn av anaerobe bakterier). Pneumokokker, *Haemophilus influenzae* og anaerobe bakterier er sensitive for omgivelsene, og påvisning av disse mikrobene vil være avhengig av raskest mulig prosessering.

#### Kulturmedier, inkubasjonsbetingelser og varighet

Det anbefales homogenisering av materialet før utsåing (unntak: bakt. us. for mykobakterier og sopp). Utsæd på faste medier som blodagar, sjokoladeagar, og McConkey/Lactose agar bør alltid suppleres med utsåing i «anaerob»/anrikningsbuljong. I tillegg må det inkluderes mulighet for påvisning av anaerobe bakterier. Dyrkning for mykobakterier og sopp bør vurderes hos pasienter med negativ dyrkning (ingen vekst) eller kliniske og epidemiologiske trekk som støtter mistanke om disse etiologiske agen (f.eks. immunkompromitterte pasienter). Dyrkning av mykobakterier både ved 37 ° C og 28 ° C kan være nødvendig for å optimalisere utvinningen av alle non- tuberkuløs mykobakterier (NTM). I Norge er *Mycobacterium marinum* og *Mycobacterium fortuitum* blant de vanligste mykobakteriene som gir hudinfeksjon. Disse har vært assosiert med osteomyelitt som følge av traumer i huden. Det anbefales at dyrkning utføres i minst 5 døgn (unntak: 1-2 uker for sopp, og 8-12 uker for mykobakterier). Public Health England (PHE) anbefaler 2 døgn for blod- og sjokolade-agar, og 5 døgn for FAA (Fastidious Anaerobic Agar) og «anaerob»/anrikningsbuljong når buljongen er blakket ellers med terminal subkultur. Flytskjemaet under "Appendix 1" i veilederen fra PHE (2) kan benyttes som diskusjonsgrunnlag for ev. anbefalinger.

#### Mikroskopi

Grampreparat bør utføres ved alle beinbiopsier, selv om det har variabel prediktiv verdi. Ved kroniske infeksjoner vil et grampreparat ha lav sensitivitet, men høy spesifisitet. Hvis det er relevant, og man har nok prøvemateriale, kan andre fargemetoder brukes, som f.eks. Calcofluor white-farging (sopp), Nocardia-farging, og farging av syrefaste staver.

## Genteknologiske metoder

Nukleinsyreforsterkningstester (NAATs) som f.eks. konvensjonell eller real-time PCR har forbedret diagnostikken i tilfeller hvor mikroorganismen ikke vokser, eller er svært sentvoksende (f.eks. *M. tuberculosis*). Utbredt bruk av NAATs har ført til en signifikant økning i påvisning av kravfulle bakterier som *Kingella kingae*, spesielt hos mindre barn med osteoartikulære infeksjoner. Ved negativ dyrkning av representativt materiale (f.eks. ved tidligere bruk av antibiotika) ev. også ved terapivikt kan sekvensering (16S ev. 18S) sikre diagnosen. I en studie om sykehusinnleggelse assosiert med kronisk osteomyelitt fra 2011 til 2018 ved Texas Children's Hospital ble 9,1% av mikrobenene kun detektert ved hjelp av 16S rRNA PCR. Det er derfor foreslått å innlemme rutinemessig *Kingella kingae* PCR ev. 16S rPCR for alle barn under 4-5 år med mistanke om osteomyelitt. *Kingella kingae* osteomyelitt i småbarnsalder ses ofte etter forutgående luftveisinfeksjon, Uansett vil nukleinsyre-analyser på primært prøvemateriale fortsatt vurderes som en tilleggsanalyse. Hvis det er lite prøvemateriale skal alltid konvensjonell dyrkning prioriteres.

## Noen sentrale referanser

1. Carroll KC, Pfaller MA, Landry ML, Patel R, et al. Manual of clinical microbiology. 12th. ed. Washington, D.C., USA: ASM Press; 2019.
2. Public Health England. SMI B 42: investigation of bone and soft tissue associated with osteomyelitis [Internet]. London: Standards Unit, Microbiology Services, PHE; 2014 mai 27 [oppdatert 2016 jan 14; hentet 2021 aug 25]. Tilgjengelig fra: [https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/491748/B\\_42i2.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/491748/B_42i2.pdf)
3. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, Carroll KC, Chapin KC, Gilligan PH, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the infectious diseases society of America and the American society for microbiology. Clin Infect Dis. 2018;67(6):e1–94.
4. Svenska Infektionsläkarförening. Vårdprogram för Led- och skelettinfektioner [Internet]. Östersund: Svenska infektionsläkarföreningen. 2004 [oppdatert 2018; hentet 2021 aug 25]. Tilgjengelig fra: <https://infektion.net/wp-content/uploads/2018/11/2018-varldprogram-led-och-skelettinfektioner-final-2018-11-29.pdf>
5. BMJ Best practice. Osteomyelitis [Internet]. London: BMJ Publishing group; 2021 mar 24 [oppdatert 2021 aug 11; hentet 2021 aug 25]. Tilgjengelig fra: <https://bestpractice.bmj.com/topics/en-us/354>
6. Hotchen AJ, McNally MA, Sendi P. The classification of long bone osteomyelitis: A systemic review of the literature. J Bone Jt Infect. 2017;2(4):167–74.
7. Gludemans AWJM, Jutte PC, Cataldo MA, Cassar-Pullicino V, Gheysens O, Borens O, et al. Consensus document for the diagnosis of peripheral bone infection in adults: a joint paper by the EANM, EBJS, and ESR (with ESCMID endorsement). Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2019;46(4):957–70.
8. Saavedra-Lozano J, Falup-Pecurariu O, Faust SN, Girschick H, Hartwig N, Kaplan S, et al. Bone and joint infections. Pediatr Infect Dis J. 2017;36(8):788–99.
9. Norsk barnelegeforening. Infeksjoner i bein og ledd [Internet]. Oslo: Norsk barnelegeforening. 1998 [oppdatert 2012; hentet 2021 aug 25]. Tilgjengelig fra: Infeksjoner i bein og ledd - Pediatriveiledere fra Norsk barnelegeforening - Helsebiblioteket.no
10. McNeil JC, Joseph M, Sommer LM, Vallejo JG. The contemporary epidemiology, microbiology and management of chronic osteomyelitis in US children. Pediatr Infect Dis J. 2021;40(6):518–24.

## 4.7 Mikrobiologisk diagnostikk ved spinale infeksjonar

Dag Harald Skutlaberg, Mikrobiologisk avdeling, Haukeland Universitetssjukehus.

e-post: [dag.harald.skutlaberg@helse-bergen.no](mailto:dag.harald.skutlaberg@helse-bergen.no)

### Problemstillingar

Korleis påverkar antibiotikabehandling før prøvetakinga resultatet av mikrobiologiske analysar?

Kva prøvar bør ein ta til mikrobiologisk diagnostikk ved spinale infeksjonar og korleis bør desse transporterast og oppbevarast?

Kva mikrobiologiske analysar bør utførast?

Korleis skal mikrobielle funn tolkast?

### Forslag til anbefalingar

#### Antibiotikabruk før prøvetaking

- Dersom klinisk situasjon tillét det, bør ikkje antibiotikabehandling startast før etiologisk agens er påvist

#### Aktuelle prøvemateriale

- Blodkultur. Minst to sett
  - Alle pasientar med klinisk mistanke om spinal infeksjon
- CT-rettleia biopsi/ aspirat frå infeksjonsfokus.
 

Det bør takast prøve frå både bein og assosiert mjukvev. Dersom berre ein prøve kan takast, bør biopsi/ aspirat frå mjukvev, abscess og/ eller mellomvirvelskive prioriterast framfor biopsi frå beinvev

  - Ved negativ blodkultur eller ved funn av andre mikrobar enn *Staphylococcus aureus* og *S. lugdunensis* i blodkultur.
  - Ved negativt resultat på CT-rettleia aspirasjon/ biopsi, bør prosedyren gjentakast.
- Biopsi frå infeksjonsfokus tatt ved open kirurgi
  - Dersom det ikkje er funne etiologisk agens i blodkultur, i gjentekne CT-rettleia biopsiar/ aspirat eller ved aktuelle tilleggsanalysar
  - Dersom open kirurgi er indisert av annan grunn
  - Ved implantatassosiert infeksjon bør det takast minst 3 vevsprøvar
- Implantat
  - Implantat som blir fjerna, bør sendast til mikrobiologisk diagnostikk

#### Transport og oppbevaring av prøvar

- Transport til laboratoriet så raskt som mogeleg, fortrinnsvis < 2 timar frå prøvetaking til utsæd
- Oppbevaring av prøvemateriale
 

Aspirat:

  - Steril behaldar utan tilsetjing

#### Vevesprøvar/ biopsi:

- Steril behaldar tilsett nokre dråpar sterilt saltvatn
- Anaerobt transportmedium dersom tid frå prøvetaking til utsæd > 2 timar

#### Implantat:

- Steril behaldar tilpassa implantatet. Implantatet bør vera dekkja av sterilt saltvatn. Dersom laboratoriet nyttar sonikering bør implantat sendast på eigna behaldar

- Oppbevaringstemperatur
  - Utsæd innan 2 timar: Romtemperatur
  - Utsæd etter meir enn 2 timar:
    - Steril behaldar: Nedkjølt
    - Anaerobt transportmedium: Romtemperatur

### Standardanalysar ved spinale infeksjonar

- Blodkultur
  - Handtering etter retningsliner for blodkulturdiagnostikk
- Dyrking av aspirat, biopsiar og implantat
  - Homogeniser biopsiar før utsæd
    - Ved soppdyrking må materiale tas av til dette formålet før homogenisering
  - Sonikering av implantat kan vurderast
  - Dyrkningsbetingelsar (standarddiagnostikk):

Medium	Inkubasjon			Avlesing
	Temperatur (°C)	Atmosfære	Tid	
Blodagar	35-37	5 – 10% CO <sub>2</sub>	2 dagar	Dagleg
Sjokoladeagar				
Ikkje-selektiv anaerob agar	35-37	Anaerob	5 dagar	2 og 5
Anaerob buljong*	35-37	Aerob	5 dagar	2 og 5
Aerobt og anaerobt blodkulturmedium**	35-37		5-7 dagar	Kontinuerleg

\* Subkultur til ikkje-selektiv anaerob agar og sjokoladeagar dersom vekst i anaerob buljong

\*\* Overfør homogenisert vev til blodkulturmedium

### Aktuelle tilleggssanalysar ved spinale infeksjonar

- Blodkultur
  - Spesialmedium for påvising av sopp (for system som har det)
  - Utvida inkubasjonstid (ved mistanke om sopp og *Brucella*)
- Aspirat og biopsiar
  - PCR for påvising av mikrobielt DNA (spesifikke eller «broad-range» (16S, 18S/ITS2)) ved negative dyrkingsanalysar
  - Dyrking med omsyn til mykobakteriar (mistanke om tuberkulose)
  - Spesialmedium for påvising av sopp. Sjå strategirapport nr 27, 2013 Soppinfeksjoner for tilråding om forbehandling, dyrkingsmedium samt inkubasjonstemperatur og lengde
  - Utvida inkubasjonstid (t.d. ved implantat-infeksjon eller ved mistanke om sopp)
- TB-Interferon-Gamma Release Assays (IGRA) (mistanke om tuberkuløs infeksjon)
- Serologi (mistanke om *Brucella* infeksjon)

### Vurdering av funn

- Vekst av *S. aureus* eller *S. lugdunensis* i blodkultur eller positiv *Brucella*-serologi hos pasient med kliniske, biokjemiske og radiologiske funn som samsvarar med spinal infeksjon, er diagnostisk. Ytterlegare mikrobiologisk diagnostikk er ikkje indisert.
- Påvising av mikrobar i prøve tatt CT-rettleia, er som hovudregel diagnostisk, men påvising av mikrobeartar som inngår i normal hudflora (koagulase-negative stafylokokkar,

*Cutibacterium spp.* og *Corynebacterium spp.*), kan representera kontaminasjon av prøvematerialet. Ved funn av slike lavvirulente mikrobar, bør annan mikrobiologisk etiologi utelukkast (t.d. sopp, mykobakterier, brucella) dersom det føreligg kliniske, epidemiologiske eller røntgenologiske haldepunkt for slik infeksjon, alternativt bør funnet verifiserast i ny CT-rettleia prøve eller prøve tatt ved open kirurgi.

- Påvising av mikrobar i prøvar tatt ved open kirurgi er som hovudregel diagnostisk
  - Påvising av lav-virulent mikrobe-art ved implantat-infeksjon: Funn av same mikrobeart i  $\geq 2$  vevsprøvar er diagnostisk
  - Påvising av lav-virulent mikrobe-art hos pasient utan implantat: Vurdering som i CT-rettleia biopsi

## Bakgrunn

Alt etter kva anatomiske strukturar som er involvert, kan spinale infeksjonar omtalast som diskitt, spondylitt, spondylodiskitt, septisk fasettleddsartritt eller spinale implantatinfeksjonar. Lokal spreieing fører til epidurale abscessar og/ eller paravertebral mjukvevsinfeksjon. Spinale infeksjonar oppstår som resultat av hematogen spreieing frå fjerntliggjande infeksjonsfokus, direkte inokulasjon (spinalkirurgi, invasive spinale prosedyrar, penetrerande traume) eller lokal spreieing frå nærliggjande infeksjonsfokus (1).

Spinale infeksjonar er som regel monomikrobielle. Antibiotika er grunnsteinen i behandlinga, og for å sikra optimal terapi er det avgjerande å påvisa, identifisera og resistensbestemma mikrobielt agens. Standarddiagnostikken må fanga opp dei vanlegast førekomande mikrobeartane; *Staphylococcus aureus* (20 – 84%), koagulase-negative stafylokokkar (5-16%), streptokokkar og enterokokkar (7 – 33%) samt anaerobe bakteriar (< 4 %). (2). Implantat-infeksjonar som debuterer meir enn 4 veker etter operasjon er ofte årsaka av lav-virulente mikrobe-antar som koagulase-negative stafylokokkar og *Cutibacterium acnes* som gjerne veks i biofilm (3).

Ved klinisk mistanke om agens som ikkje blir påvist med standarddiagnostikk må det nyttast tilleggsanalyser. Dette gjeld t.d. *Kingella kingae* hos barn (4), *Brucella spp.* hos personar frå Middelhavslanda, Midt-Austen, Latin-Amerika samt deler av Afrika og Asia (2, 5), gjær- og muggsopp hos immunsupprimerte pasientar og injiserande rusmisbrukarar (2) samt *Mycobacterium tuberculosis* hos personar med kjent eksposisjon eller som kjem frå endemiske område (2).

Langvarig antibiotikabruk (> 3 døgn) før prøvetaking til mikrobiologiske analyser, er assosiert med negativt dyrkningsresultat (6). Med mindre det er absolutt nødvendig (septisk/hemodynamisk ustabil pasient og/ eller alvorlege/ progredierande nevrologiske symptom) bør ein derfor venta med antibiotikabehandling til etiologisk agens er kjent (7). I ein slik situasjon tilrår IDSA stegvis mikrobiologisk diagnostikk der ein startar med lite invasiv (men lite sensitiv) diagnostikk og går vidare til meir invasive (og meir sensitive) metodikk dersom ein ikkje kjem i mål:

1. Blodkultur har lav sensitivitet (om lag 50%), men hos pasient med kliniske, biokjemiske og radiologiske funn foreinleg med spinal infeksjon har ein positiv blodkultur med vekst av *S. aureus* høg spesifisitet, og vidare mikrobiologisk diagnostikk er ikkje nødvendig. Ved vedvarande positiv blodkultur med *S. lugdunensis*, kan ein også vurdera å utelata vidare mikrobiologisk diagnostikk (7).
2. CT-rettleia biopsi/ aspirat frå infeksjonsfokus  
Er meir invasiv og har større komplikasjonsrate, men er meir sensitiv enn blodkultur (7). Biopsi/ aspirat frå mjukvev, abscess og/ eller mellomvirvelskive er meir sensitiv enn biopsi frå beinvev (64% vs. 40%) (8).

Funn av typiske hudbakteriar / potensielle kontaminantar (koagulase negative stafylokokkar (med unntak av *S. lugdunensis*), *C. acnes*, og difteroider) har lav spesifisitet og ein bør vurderer utvida diagnostikk med tanke på mykobakterier, *Brucella* og soppinfeksjon. Funnet kan eventuelt verifiserast i ny CT-rettleia biopsi/ aspirat eller ved perkutan endoskopisk diskektomi og drenasje (PEDD), som er meir sensitiv enn CT-rettleia biopsi (90% vs. 47%.) (7).

### 3. Kirurgisk (open) prøvetaking frå infeksjonsfokus

Dersom sannsynleg mikrobiologisk agens ikkje er påvist i blodkultur eller ved repetert CT-rettleia biopsi/ aspirasjon, bør det takast biopsi ved open kirurgi.

Ved annan indikasjon for open kirurgi (nevrologiske symptom, sepsis/ hemodynamisk ustabil pasient, mistanke om implantatinfeksjon), bør ein ta peroperative vevsprøvar til mikrobiologisk diagnostikk. Dersom det er indikasjon for å fjerna implantat, først og fremst ved seint debuterande implantatinfeksjon (> 4 veker postoperativt), bør implantat/ skruar sendast til mikrobiologisk diagnostikk.

Lav-virulent mikrobe-art bør vektleggjast dersom same art blir påvist i  $\geq 2$  prøvar tatt peroperativt (3).

Transporter aspirat, vevsprøvar og implantat på sterile behaldarar. Tilsett nokre dråpar sterilt saltvatn til biopsiar for å unngå at vevet tørkar ut. Implantat bør dekkast av sterilt saltvatn.

Ved transporttid > 2 timar bør vevsprøvar sendast på anaerob transportmedium (9).

Prøvar bør transporterast i romtemperatur og såast ut så raskt som mogeleg – ideelt sett innan 2 timar. Ved forsinka utsæd (> 2 timar) bør prøven sendt på steril behaldar oppbevarast kjøleg (10).

Biopsiar bør homogeniserast før utsæd. Implantat overføres til anrikningsbuljong som vortexes (dersom mogeleg) før inkubasjon. Sonikering av implantat kan vurderast (11). For å redusera risiko for kontaminasjon bør all open manipulering, samt utsæd skje i sikkerhetskabinett klasse 2.

Ved standarddiagnostikk bør prøvar dyrkast på ikkje-selektive, aerobe og anaerobe faste medier samt anaerob anrikningsbuljong (med subkultur til faste medium ved vekst) (10). Inokulering av homogenisert vev til aerobe og anaerobe blodkulturmedier kan auka sensitiviteten ved dyrkning (11)

Ved mistanke om agens som ikkje blir fanga opp av standarddiagnostikk, bør supplerande diagnostikk nyttast. Dette kan vera bruk av spesialmedium for påvising av sopp eller mykobakteriar, forlenga inkubasjonstid av standardmedium eller nukleinsyrebasert diagnostikk (spesifikk PCR/ 16S rDNA-PCR/ ITS2-PCR), serologi (brucella) eller TB-IGRA (tuberkulose)

## Referansar

1. Tsantes AG, Papadopoulos DV, Vrioni G, Sioutis S, Sapkas G, Benzakour A, et al. Spinal Infections: An Update. *Microorganisms*. 2020;8(4).
2. Saeed K, Esposito S, Ascione T, Bassetti M, Bonnet E, Cernelutti A, et al. Hot topics on vertebral osteomyelitis from the International Society of Antimicrobial Chemotherapy. *International journal of antimicrobial agents*. 2019;54(2):125-33.
3. Schomig F, Putzier M. Clinical presentation and diagnosis of delayed postoperative spinal implant infection. *J Spine Surg*. 2020;6(4):772-6.
4. Tyagi R. Spinal infections in children: A review. *J Orthop*. 2016;13(4):254-8.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Brucellosis - Areas at Risk [cited 15.09. 2021]. Available from: <https://www.cdc.gov/brucellosis/exposure/areas.html>.



6. Kim CJ, Song KH, Park WB, Kim ES, Park SW, Kim HB, et al. Microbiologically and clinically diagnosed vertebral osteomyelitis: impact of prior antibiotic exposure. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012;56(4):2122-4.
7. Berbari EF, Kanj SS, Kowalski TJ, Darouiche RO, Widmer AF, Schmitt SK, et al. 2015 Infectious Diseases Society of America (IDSA) Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Native Vertebral Osteomyelitis in Adults. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2015;61(6):e26-46.
8. Kim CJ, Kang SJ, Choe PG, Park WB, Jang HC, Jung SI, et al. Which tissues are best for microbiological diagnosis in patients with pyogenic vertebral osteomyelitis undergoing needle biopsy? *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2015;21(10):931-5.
9. Nagy E, Boyanova L, Justesen US, Infections ESGoA. How to isolate, identify and determine antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in routine laboratories. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2018;24(11):1139-48.
10. Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations, Investigation of bone and soft tissue associated with osteomyelitis. London: Public Health England,; 2015.
11. Sousa R, Carvalho A, Santos AC, Abreu MA. Optimal microbiological sampling for the diagnosis of osteoarticular infection. *EFORT Open Rev*. 2021;6(6):390-8.

## 4.8 Mikrobiologisk diagnostikk ved frakturrelaterte infeksjoner

**Olaf Strømme, Lege i Spesialisering, Avdeling for Medisinsk Mikrobiologi, St Olavs hospital HF**

**Problemstilling:** Hva er optimal prøvetaking, transport og prosessering ved mistanke om frakturrelaterte infeksjoner (FRI). En av de sentrale utfordringer ved mikrobiologiske diagnostikk av FRI er å sikre nok representativt prøvemateriale. Et annet viktig moment er å sikre rask utsåing. Hvordan standardisere prøvetaking og utsåing? Hva er anbefalt tid fra prøvetaking til utsåing? Hvilke medier skal prøvene såes ut på? Og når skal avansert diagnostikk som 16s PCR anvendes?

### Forslag til anbefalinger

#### Ønskete kliniske opplysninger i rekvisisjon

- Type fraktur, åpen eller lukket.
- Tidsintervall mellom traume og kirurgi.
- Antibiotikabruk, antibiotikafrie intervall.
- Prøvetakingsmetode.
- Kompliserende faktorer som diabetes, immunsuppresjon, cytostatikabehandling osv.

#### Prøvetaking

- 5 dype vevsprøver fra område som makroskopisk ser infisert ut med sterile nye instrument for hver prøve.
- Ved mistanke om infisert osteosyntesemateriale kan dette sendes til dyrkning. Sonikering før utsåing kan vurderes ved laboratorier som har mulighet for dette.
- Ved leddnære infeksjoner er det aktuelt å ta aspirat av synovialvæske til dyrkning.

#### Prøvetransport og oppbevaring

- Vevsprøver fraktes på sterilt glass med litt NaCl dersom hurtig utsæd er mulig
- Vevsprøver på anaerobt transportmedium er å foretrekke ved lenger transporttid
- Prøver bør såes ut innen 2 timer fra prøvetaking. Dersom dette ikke er mulig, må prøven oppbevares ved 4 °C.
- Synovialvæske sendes på blodkulturflasker og/eller sterilt glass/igjenkorket sprøyte.

## Utsåing

- Prøver anbefales håndtert i sikkerhetskabinett klasse II.
- Alle vevsprøver skal sås ut på aerobe og anaerobe medier etter homogenisering.
- Aerobe medier: sjokolade, blod og MacConkey/lactoseskål.
- Anaerobe medier: Anaerob agar (f.eks. FAA med metronidazol lapp) og anaerob anrikningsbuljong.

## Inkubasjonstid

- Aerobe medier inkuberes som hovedregel i 2 døgn ved vekst. Dersom ingen vekst innen 2 døgn, kan man vurdere å forlenge aerob dyrkning til 5 døgn.
- Anaerobe medier inkuberes i 5 døgn.
- Anrikningsbuljong inkuberes i 5 døgn før utsåing på blod- eller sjokoladeagar og FAA. agar for inkubasjon hhv aerobt og anaerobt i ytterligere 3 døgn.
- Synovialvæske på blodkulturflasker inkuberes i 7 døgn.
- Forlenget dyrkning kan vurderes i utvalgte situasjoner ut fra klinikk og eventuelle tidligere prøver.

## Vurdering av vekst og resistenspanel

- Alle identifiserte mikrober skal som hovedregel resistenstestes. Unntak kan gjøres ved klar mistanke om forurensning.
- 16s PCR kan vurderes ved ingen vekst og klinisk mistanke om FRI.

## Bakgrunn for anbefalingene

### Diagnostikk av FRI

Lenge har det manglet anerkjente diagnostiske kriterier for FRI. En internasjonal ekspertgruppe utarbeidet i 2018 ett sett med sikre og ett sett antydende diagnostiske kriterier, hvor sistnevnte fordrer ytterligere undersøkelser for å fastslå om FRI foreligger (1). Sikre kriterier er kliniske tegn som fistel, vevsødeleggelse eller pus sekresjon fra frakturområde peroperativt, eller påvisning av samme mikrobe ved dyrkning i minst 2 dype vevsprøver. Histopatologisk påvisning av mikrobe klassifiseres også som et sikkert tegn på FRI. De antydende kriteriene er blant annet klassiske infeksjonssymptomer som lokalt

erytem, økt temperatur og hevelse, nyoppstått sårsekresjon, samt radiologiske og biokjemiske tegn som økt CRP, SR og leukocytter. Påvisning av mikrobe i én dyp vevsprøve regnes også som et antydende kriterium.

### **Mikrobiologi ved FRI**

FRI kan tilkomme ved åpne frakturer hvor mikrober som regel introduseres i forbindelse med traume, eller lukkede frakturer hvor mikrober kan introduseres per- eller postoperativt. Sjeldne tilfeller med hematogen spredning av mikrober til frakturområdet er også beskrevet. Forekomsten av FRI ved åpne frakturer er anslått til ca. 30%, mens FRI ved lukkede frakturer er langt sjeldnere, anslagsvis 1-2% (2).

Studier har funnet at *Staphylococcus aureus* (32-45%) og koagulase-negative stafylokokker (KNS) (6-43%) er vanligste årsaker til FRI. En studie fant at *S.aureus* er vanligste mikrobe ved FRI som opptrer tidlig i forløpet, mens *S.aureus* og KNS er omtrent like vanlig som årsak til senere infeksjon (3). *Enterobacterales* (5-22%), streptokokker (8-9%) og *Pseudomonas aeruginosa* er også viktige årsaker til FRI. Strikt anaerobe mikrober er anslått til å stå for ca. 5% av alle tilfeller, mens polymikrobielle infeksjoner finnes i ca. 30% av alle FRI, og er mer vanlig ved åpne frakturer. Soppinfeksjoner er sjeldne, men er blitt beskrevet ved åpne frakturer og hos pasienter med immunsuppresjon (4).

### **Prøvetaking**

Det er bred enighet om at 5 dype vevsprøver fra område der det makroskopisk ser infisert ut er gullstandard (5-7). Det er vist at dersom det kun tas 3 vevsprøver, vil man kunne miste klinisk relevante mikrober i minst 10% av tilfellene (8). Nye sterile instrument for hver vevsprøve er nødvendig. Dersom mistanke om infisert osteosyntesemateriale bør dette også sendes til dyrkning. Ved leddnære infeksjoner er det aktuelt å ta aspirat av synovialvæske til dyrkning. Prøvetaking fra fistelgang anbefales ikke, og må eventuelt tolkes med forsiktighet. Prøvetaking med swab er ikke anbefalt grunnet lav sensitivitet (9). Prøvetaking bør ideelt sett tas etter minst 2 ukers antibiotikafrihet. Selv om det ikke er sikker evidens for at en profylaksedose preoperativt påvirker sensitiviteten (10), er det sannsynligvis gunstig å avvente profylakse til prøver er tatt (6). Ved septisk tilstand eller allment påvirket pasient skal hensyn til prøvetaking ikke stå i veien for antibiotikabehandling. Ved febrile tilstander og sepsis bør det også tas to sett blodkulturer.

### **Prøvetransport og prosessering**

Prøver bør sendes på sterilt glass med litt NaCl. Utsåing innen 2 timer skal etterstrebnes.

Dersom utsæd innen 2 timer ikke lar seg gjennomføre er forsendelse på anaerobt transportmedium å anbefale (12). Vevsprøver skal homogeniseres mekanisk før utsåing i et sikkerhetskabinett klasse II. Osteosyntesemateriale kan sonikeres før utsæd ved laboratorier som har mulighet for dette, men evidens for gevinst av sonikering er usikker (11).

### **Dyrkningsmedier og inkubasjon**

Prøver skal såes ut på aerobe medier (sjokolade, blod og MacConkey), anaerobt medium (FAA agar med metronidazol lapp) og i anaerob dyrkningsbuljong. Aerobe medier inkuberes som hovedregel i 2 døgn ved vekst. Dersom ingen vekst innen 2 døgn, bør forlenget dyrkning til 5 døgn vurderes. Anaerobe medier dyrkes i 5 døgn. Anrikningsbuljong inkuberes i 5 døgn. Deretter såes terminal subkultur fra buljong ut på blod – eller sjokoladeagar og FAA agar som dyrkes aerobt og anaerobt i ytterligere 3 døgn. Forlenget aerob dyrkning eller selektiv soppagar kan vurderes ved opplysninger om immunsupprimert pasient, spesielt dersom det foreligger åpen fraktur. Dyrkning av synovialvæske på blodkulturflaske inkuberes i 7 døgn.

### **Vurdering av vekst og resistens**

Vekst av samme mikrobe i to vevsprøver regnes som sikker FRI. Vekst av mikrobe i kun én vevsprøve er å anse som mulig FRI. Det anbefales resistensanalyse for alle identifiserte mikrober foruten der det er en klar mistanke om forurensning. Dersom ingen vekst og klinisk mistanke om FRI kan 16sPCR vurderes, spesielt i tilfeller der pasienten har stått på antibiotika før prøvetaking.

### **Problemstillinger:**

- Skal osteosyntesemateriale sonikeres, hvordan skal dette såes ut?
- Skal man gjøre 16s PCR ved ingen vekst, men klinisk mistanke om FRI?
- Hvordan sikre utsåing innen 2 timer over hele landet?
- Når skal man gjøre forlenget dyrkning (aerob og anaerob)? Eventuelt selektiv soppagar ved immunsuppresjon?

## Referanser

1. Metsemakers WJ, Morgenstern M, McNally MA, Moriarty TF, McFadyen I, Scarborough M, et al. Fracture-related infection: A consensus on definition from an international expert group. *Injury*. 2018;49(3):505-10.
2. Trampuz A, Widmer AF. Infections associated with orthopedic implants. *Curr Opin Infect Dis*. 2006;19(4):349-56.
3. Kuehl R, Tschudin-Sutter S, Morgenstern M, Dangel M, Egli A, Nowakowski A, et al. Time-dependent differences in management and microbiology of orthopaedic internal fixation-associated infections: an observational prospective study with 229 patients. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25(1):76-81.
4. De Meo D, Cera G, Ceccarelli G, Castagna V, Aronica R, Pieracci EM, et al. Candida fracture-related infection: a systematic review. *J Bone Jt Infect*. 2021;6(7):321-8.
5. Govaert GAM, Kuehl R, Atkins BL, Trampuz A, Morgenstern M, Obremskey WT, et al. Diagnosing Fracture-Related Infection: Current Concepts and Recommendations. *J Orthop Trauma*. 2020;34(1):8-17.
6. Hellebrekers P, Rentenaar RJ, McNally MA, Hietbrink F, Houwert RM, Leenen LPH, et al. Getting it right first time: The importance of a structured tissue sampling protocol for diagnosing fracture-related infections. *Injury*. 2019;50(10):1649-55.
7. Dudareva M, Barrett L, Figtree M, Scarborough M, Watanabe M, Newnham R, et al. Sonication versus Tissue Sampling for Diagnosis of Prosthetic Joint and Other Orthopedic Device-Related Infections. *J Clin Microbiol*. 2018;56(12).
8. Dudareva M, Barrett LK, Morgenstern M, Atkins BL, Brent AJ, McNally MA. Providing an Evidence Base for Tissue Sampling and Culture Interpretation in Suspected Fracture-Related Infection. *J Bone Joint Surg Am*. 2021;103(11):977-83.
9. Aggarwal VK, Higuera C, Deirmengian G, Parvizi J, Austin MS. Swab cultures are not as effective as tissue cultures for diagnosis of periprosthetic joint infection. *Clin Orthop Relat Res*. 2013;471(10):3196-203.
10. Wouthuyzen-Bakker M, Tornero E, Claret G, Bosch J, Martinez-Pastor JC, Combalia A, et al. Withholding Preoperative Antibiotic Prophylaxis in Knee Prosthesis Revision: A Retrospective Analysis on Culture Results and Risk of Infection. *J Arthroplasty*. 2017;32(9):2829-33.
11. Depypere M, Morgenstern M, Kuehl R, Senneville E, Moriarty TF, Obremskey WT, et al. Pathogenesis and management of fracture-related infection. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(5):572-8.

## 4.9 Bittinfeksjoner

Jørgen Vildershøj Bjørnholt, Mikrobiologisk avdeling, Oslo universitetssykehus, Rikshospitalet

### Definisjon problemstilling

Sammendraget begrenser seg til bakteriologisk diagnostikk av de vanligste bittinfeksjoner i Norge (hund, katt og menneske). Det vises til spesiallitteratur for infeksjoner forårsaket av bitt fra eksotiske dyr. Litteraturen er omfattende, svært heterogen og dominert av kasuistikker samt små studier med stor risiko for bias og fokus på uvanlige sykdomsbilder.

### Anbefalinger

#### Prøvetaking

- Det er ikke indisert å ta bakteriologiske prøver av ikke infiserte bittsår
- Prøver skal tas på samme måte som ved andre sår, representativ del av lesjon (dyp sårprøve) etter fjerning av debris og vask/rens med isotont saltvann.
- Penselprøve på adekvat transportmedium aksepteres, men puss/eksudat/biopsi/aspirasjon anbefales, særlig når forhold ligger til rette og ved alvorligere infeksjoner. Ved sistnevnte gjerne flere biopsier fra relevante vev.
- Rask transport (<24t) til utsæd anbefales, raskere og på adekvat transportmedium om anaerobe agens mistenkes konf. Strategirapport nr 23, 2009. Opp til 48t transport for aerobe er akseptabelt, noe tap av sensitivitet kan opptre og bør kommenteres.

#### Utsæd

Penselprøver (ukompliserte tilstander)

Utsæd	Inkubering
Sjokoladeagar	Ved 35-37 °C i aerob atmosfære med 4-6 % CO <sub>2</sub> i 2 d*. Avles daglig.
Blodagar	
Mannitol-salt agar	
McConkey/(CLED)	
Base m/ hemin og vit K (FAA agar) m/MTZ lapp	Ved 35-37 °C i anaerob atmosfære i 72 t.
Anaerob agar tilsatt kanamycin/ vankomycin	Avles etter 48 timer og 72 t*.
Sabouraudskål**	Ved 35-37 °C i aerob atmosfære i 40-48 timer. Avles daglig.

\*Inkuberingstid vurderes individuelt ved mistanke om langsomt voksende bakterier. \*\*Kun når rekvirert eller der kliniske opplysninger tilsier mistanke om soppinfeksjon. FAA= Fastidious anaerobic agar.

Puss/eksudat/biopsi/aspirat (kompliserte tilstander)

Utsæd	Inkubering
Sjokoladeagar	Ved 35-37 °C i aerob atmosfære med 4-6 % CO <sub>2</sub> i 5 døgn*. Avles daglig.
Blodagar	
McKonkey/(CLED)	Om nok materiale. Behandles som sjokolade- og blodskål.
Mannitol-salt agar	
Base m/ hemin og vit K (FAA agar) m/MTZ lapp	Ved 35-37 °C i anaerob atmosfære i 72 t. Avles etter 48 timer. Sluttavlesning etter 3-5 døgn*.
FAA agar m/ kanamycin og vankomycin	
Sabouraudskål**	Ved 35-37 °C i aerob atmosfære i 40-48 timer. Avles daglig.

**Ved lite materiale:** Prioriter sjokoladeskål og FAA agar.\* **Inkuberingstid vurderes individuelt** ved mistanke om langsomtvoksende bakterier. \*\*Kun når rekvirert eller ved kliniske mistanke om soppinfeksjon.

Ev. tilleggsutsæd om nok/mye materiale.	
Utsæd	Inkubering
Anaerob blodkulturflaske (1.prioritet), ev. aerob/barneflaske	Settes på aktuelle blodkulturflaske og inkuberes i 7 dager.
Brain Heart Infusion-buljong ev. Thioglycolatbuljong	2-4 dråper på HIB-buljong. Inkuberes ved 35-37 °C i 5 dager Hvis ingen oppvekst primært; utsæd på sjokoladeskål som inkuberes ved 35-37 °C i aerob atmosfære og leses av neste dag.

Mistanke om tularemi: Send til referanselaboratorium for PCR og dyrkning (St. Olav) om ikke egen.

### Tolkning

Klassiske sårpatogener (*S. aureus*, *S. intermedius*, *S. lugdunensis*, *S. pyogenes* og *S. dysgalatiae*) og bakterier assosiert med aktuelle bitt (hunde-/katte-/menneskebitt m.fl., særlig *Pasteurella spp.* og *Eikenella corrodens*), se tabell 1 og 2, identifiseres og resistenstestes. Foreligger polymikrobiell flora kan en gjerne identifisere funn, men det har neppe konsekvens at identifisere mere enn 4-5 spp. En konservativ tilnærming til resistensbestemmelse anbefales, det er sjeldent nødvendig å resistensteste > 3 isolater. Funn skal alltid holdes opp mot kliniske opplysninger, særlig må en ta i betraktning vektlegging av lavpatogene mikrober/ mikrober med ukjent patogenet potensiale i akutte versus mere kroniske og/eller kompliserte situasjoner. Vekst (rik, moderat, sparsom) kan bidra til prioritering, men må tolkes kritisk.

### Bakgrunn

Bitt representerer et bredt klinisk spektrum fra overfladiske knapt penetrerende bitt til alvorlige laserasjoner som krever omfattende kirurgisk behandling. Forekomst i Norge er dårlig kartlagt, men trolig vanlig forekommende. Det er estimert at 4,5 millioner personer i USA blir bitt av hund årlig, 850.000 søker medisinsk hjelp og av disse utvikler 3 – 18 % infeksjon. Hundebitt er klart vanligst forekommende, etterfulgt av katt og langt mindre hyppig menneskebitt. Patogenesen er typisk avhengig av bitende tanngard, dype penetrerende bitt fra katt, lasererende bitt fra hund og okklusive bitt fra mennesker. Bittskader er ofte lokalisert til hender/ekstremiteter og hode (særlig barn). Menneskebitt er ofte okklusive, men «clenched fist» skader kategoriseres som bitt og disse skader er ofte alvorligere enn umiddelbart antatt og typisk assosiert med affeksjon av sener/ledd og ben. Den ev. infiserende flora er primært inokulert munnhuleflora fra den bitende/det bitende dyr, ev. permanent og transient hudflora fra den bittutsatte og omgivelser.

Bakteriologisk påvises det ofte polymikrobiell flora. Det er særlig Talan et al. sine prospektive studier fra 1999 og 2003 som refereres i dagens oppsummeringer. I bitt etter hund og katt fant de median 5 mikrober (variasjonsbredde 0-16) og i menneskebitt median 4 mikrober (variasjonsbredde 1-21) (Talan et al.). En påviser noen flere mikrober i abscesser og purulente sår enn ikke-purulente sår. Sammensetning av påvist flora varierer etter påførende dyr/menneske, funn fra Talan et al. er oppsummert i Tabell 1.



Tabell 1: Antall mikrober [median(min.-maks.)] i henholdsvis hund-, katt- og menneskebitt og spesiesfordeling (forekomst i > 10% av bitt) etter Talan et al.

	Hundebitt (n=50)	Kattebitt (n=57)	Menneskebitt (n=50)
<b>Antall mikrober</b>		5(0-16)	4 (1-21)
- abscess	7,5 (2-11)	7,0(3-13)	-
- purulente sår	5,0 (0-16)	6,5(0-13)	-
- ikke-purulente sår	2,0 (0-9)	5,0(0-12)	-
<b>Spesiesfordeling</b>			
-aerobe	<i>Pasteurella</i> spp (50%)	<i>Pasteurella</i> spp (75%)	<i>Streptococcus</i> spp (84%)
	<i>Streptococcus</i> spp (46%)	<i>Streptococcus</i> spp (46%)	<i>Staphylococcus</i> spp (54%)
	<i>Staphylococcus</i> spp (46%)	<i>Staphylococcus</i> spp (35%)	<i>Eikenella</i> spp (30%)
	<i>Staphylococcus</i> spp (46%)	<i>Neisseria</i> spp (35%)	<i>Haemophilus</i> spp (22%)
	<i>Neisseria</i> spp (32%)	<i>Moraxella</i> spp (35%)	<i>Corynebacterium</i> spp (12%)
	<i>Corynebacterium</i> spp (12%),	<i>Corynebacterium</i> spp (28%)	<i>Gemella</i> spp (12%)
	<i>Moraxella</i> spp (10%)	<i>Enterococcus</i> spp (12%)	-
	<i>Enterococcus</i> spp (10%),	<i>Bacillus</i> spp (11%)	-
		-	-
-anaerobe	<i>Fusobacterium</i> spp (32%)	<i>Fusobacterium</i> spp (33%)	<i>Prevotella</i> spp (36%)
	<i>Porphyromonas</i> spp (28%),	<i>Porphyromonas</i> spp (30%)	<i>Fusobacterium</i> spp (34%)
	<i>Prevotella</i> spp (28%),	<i>Bacteroides</i> spp (28%)	<i>Veillonella</i> spp (24%)
	<i>Cutibacterium</i> spp (20%),	<i>Prevotella</i> spp (19%)	<i>Peptostreptococcus</i> (22%)
	<i>Bacteroides</i> spp (18%)	<i>Cutibacterium</i> spp (18%)	<i>Campylobacter</i> spp (16%)
	<i>Peptostreptococcus</i> spp (16%).	-	<i>Eubacterium</i> spp (16%)

Det er verd å merke seg størrelsen av disse prospektive studier; 50-57 pasienter/bitt i hver gruppe. En prospektiv svensk studie fra 2016 av 92 prøver fra hund- og kattebitt, med særlig vekt på diagnostikk av gramnegative oxidase positive bakterier påpeker en større og mere variert forekomst en tidligere antatt (Gustavsson et al.). Studien påpeker også at disse stort sett er følsomme for ampicillin. De forannevnte studiedesign er rent observasjonelle av mikrobiologisk flora påvist i infiserte bitt og tillater ikke tolkning av ev. klinisk betydning av funnene. Tilsvarende presenterer Mandell en oversikt av aktuelle mikrober uten at betydning kommenteres Tabell 2.

To særegne bitt-relaterte septiske syndromer er beskrevet (i tillegg til septiske tilstander forårsaket av *Staphylococcus aureus* og *Streptococcus pyogenes*), forårsaket av henholdsvis *Pasteurella multocida* og *Capnocytophaga canimorsus* (Oehler et al.). *Pasteurella multocida* subsp *multocida*, *P. canis*, *P. multocida* subsp *septica*, *P. stomatis* og *P. dagmatis* kan forårsake alvorlige sykdomsbilder som nekrotiserende fasciitt, septisk artritt, osteomyelitt, sepsis og septisk sjokk. Inkubasjonstid er

vanligvis 3 – 4 dager. Bakterien er ikke vanskelig å dyrke på standard medier og relativt enkel å identifisere. Avdekking av bittanamnese forut for den septiske episode bør føre til klinisk mistanke om *Pasteurella spp* sepsis. Genus *Capnocytophaga* inneholder 9 spesies, de påvises typisk i menneske- og hundemunnhuleflora, men det er kun *Capnocytophaga canimorsus* som forårsaker alvorlig sykdom hos menneske. Sykdomsbildet varierer fra mildt til septisk sjokk. Alvorlig sepsis forårsaket av *Capnocytophaga canimorsus* er meget sjeldent, men godt beskrevet i litteraturen. Etter en inkubasjonstid på 1-7 dager debuterer akutt innsettende sykdomsfølelse som raskt progredierer, pasientene er ofte immunosupprimerte (alkoholiserte, splenektomerte etc.) men ikke nødvendigvis. For begge tilstander er det typisk med bitt i anamnesen, men dette er ikke obligat og en infisert bittskade er langt fra alltid identifiserbar som septisk fokus.

I tillegg er *Bartonella henselae* (årsak til «cat scratch disease») rapportert overført med kattebitt, infeksjonen er typisk beskrevet som en selvlimiterende lymfadenopati, men tilfelle av endokarditt er beskrevet.

Den infeksjonsmedisinske tilnærming til bittskader hviler på en allment akseptert praksis av antibiotika profylakse til «risiko bitt» i tillegg til sårstell. Valg av antibiotika profylakse og behandling er imidlertid tilnærmet evidensfritt område, sitat NICE guideline [NG184], November 2020: *“No evidence was found comparing different antibiotics to inform the choice of antibiotic for human and animal bites. Therefore, the committee based these recommendations on their experience, current practice, antimicrobial resistance, and the need to provide choices that cover the relevant range of likely aerobic and anaerobic pathogens in human and animal bites. The committee agreed that the same antibiotic choices should be available for both prophylaxis and treatment because the pathogens will be the same.”*

Den overordnede hensikt med bakteriologisk undersøkelse er å avdekke patogener/mikrober som vil kunne supplere/korrigere empirisk antibiotikabehandling av infiserte bittskader (samt supplere rutinediagnostikk med målrettede analyser når klinikken tilsier dette) og identifisere viktigste agens. Det vanligste vil imidlertid være påvisning av en polymikrobiell flora og vurdering av enkelt agens sin betydning vil ofte være skjønsmessig. Enkelte patogener kan være vanskelige å påvise ved bruk av standard medier og inkuberingstid (*C. canimorsus*/*B. henselae*) – en vurdering av utvidete analyser/inkubering bør bero på kliniske opplysninger og samarbeid med kliniker. Ved komplikasjoner/kompliserte infeksjoner kan monomikrobiell etiologi være relevant og direkte sekvensering ev. spesifikke PCR undersøkelser av vev/biopsier (f.eks. fra endokarditt/spinalvæske/leddvæske) bør utføres. Rutinemessig PCR us. synes ikke å være indisert.

Følsomhetskategorisering av enkelt mikrober utføres i henhold til EUCAST/NordicAST anbefalinger, for en rekke mikrober vil det ikke være fastsatt brytningspunkter eller metodologi og ev. MIC verdier må utsvares i henhold til PK/PD betraktninger. Typiske antibiotika som inngår i profylakse anbefalinger bør inngå, ev. kommenteres når de a priori oppfattes som ikke aktive (kloxacillin/penicillin/ampicillin(amoksisillin) m. og u. klavulanat/trimetoprim-sulfa/tetrasyklin/klindamycin) for å veilede kliniker. Ved alvorlige infeksjoner bør intravenøse alternativ inkluderes i resistensoppsett.

## Status problemstilling

Bakteriologisk undersøkelse av infiserte bittskader vil ofte avdekke polymikrobiell flora. Rutine diagnostikk skal i størst mulig grad påvise vanligste agens. Særlige kliniske bilder og komplikasjoner bør utløse utvidete undersøkelser i form av forlenget dyrkning, direkte sekvensering ev. spesifikke PCR.

Følgende punkter synes uavklart:

- a) Tolkning av betydning en rekke enkelt agens er utfordrende, særlig i grensetilfeller opp mot polymikrobiell flora.
- b) Det foreligger ikke konsensus om inkubasjonstider, særlig nytten av lang inkubering både aerobt og anaerobt, inkl. buljong.
- c) Antall isolater som skal resistenstestes ev. midler
- d) Valg av anaerobe medier og buljong – se også Strategimøte nr 23 2009 Anaerob diagnostikk.

## Kilder/Referanser

*Kilder: Det er gjennomført Pyramidesøk (Helsebiblioteket) og søk i BMJ Best Practise og UpToDate. Videre i PubMed . Det er med få unntak funnet lite relevant litteratur (title/abstract screening) som ikke er referert i oppslagsverk som BMJ Best Practise og UpToDate.*

BMJ Best Practise, Animal bites. Last reviewed 19th August 21.

Principles and practice of infectious disease (Mandell, Douglas and Bennett), 9th edition 2020.

*Manual of Clinical Microbiology* (Jorgensen, Pfaller, Carroll, Funke, Landry, Richter, Warnock) 11th edition.

Clinical Procedures Handbook, (Leber) 4<sup>th</sup> edition 2016.

[UK Standards for microbiology investigations \(UK SMI\)](#) Bacteriology B11, B14 og B17.

Goldstein EJ. Bite wounds and infection. *Clin Infect Dis*. 1992 Mar;14(3):633-8.

Greene SE, Fritz SA. Infectious complications of bite injuries. *Infect Dis Clin North Am*. 2021 Mar;35(1):219-236. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2020.10.005>.

Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft tissue infections: 2014 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2014 Jul 15;59(2):e10-52.

Talan DA, Citron DM, Abrahamian FM, Moran GJ, Goldstein EJC. Bacteriologic analysis of infected dog and cat bites. *N Engl J Med* 1999; 340:85-92.

Talan DA, Abrahamian FM, Moran GJ, Citron DM, Tan JO, Goldstein EJ. Emergency Medicine Human Bite Infection Study Group, Clinical Presentation and Bacteriologic Analysis of Infected Human Bites in Patients Presenting to Emergency Departments, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 37, Issue 11, December 2003, Pages 1481–1489. <https://doi.org/10.1086/379331>

Gustavsson O, Johansson AV, Monstein HJ et al. A wide spectrum of fastidious and ampicillin-susceptible bacteria dominate in animal-caused wounds. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 35, 1315–1321 (2016). <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2667-z>

Oehler RL, Velez AP, Mizrahi M, Lamarche J, Gompf S. Bite-related and septic syndromes caused by cats and dogs. *Lancet Infect Dis*. 2009 Jul;9(7):439-47. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70110-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70110-0). Erratum in: *Lancet Infect Dis*. 2009 Sep;9(9):536. PMID: 19555903.

## 4.10 Resistenspaneler og resistenstesting ved ortopediske infeksjoner

Arnfinn Sundsfjord

**Arbeidsgruppen for antibiotikaspørsmål og metoder for resistensbestemmelse (AFA)**

**Arbeidsted: K-res, Universitetssykehuset Nord-Norge og UiT Norges Arktiske Universitet**

**Innledning.** Det primære formålet ved resistenstesting er å predikere utfallet av en gitt antibiotikabehandling ved en verifisert infeksjon med en eller flere definerte mikrober. Påvisning av særlig klinisk viktige resistensfenotyper som for eksempel meticillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) kan også utløse egne smitteverntiltak.

Ortopediske infeksjoner omfatter i dette notatet akutt artritt, akutt og kronisk osteomyelitt, bitt, diabetisk fot, fraktur- eller proteserelatert, og spinale infeksjoner. Ved ortopediske infeksjoner er en rekke ulike mikrober relevante. Problemstillingen avgrenses til bakteriell etiologi. Anbefalte paneler er angitt i Tabellene 1 og 2.

**Etiologi.** De vanligste bakterielle årsaker til ortopediske infeksjoner inkluderer *S. aureus*, koagulase-negative stafylokokker (KoNS), streptokokker, enterokokker, *Enterobacterales*, ikke-fermenterende gramnegative (*Pseudomonas aeruginosa* og *Acinetobacter* spp.) samt anaerobe. Ved bittrelaterte infeksjoner er HACEK gruppen (*Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, og *Kingella*) og *Pasteurella* spp. vanlige forekommende agens (Murphy 2021). Mindre vanlige bakterielle årsaker til ortopediske infeksjoner inkluderer *Nocardia*, *Brucella* og *Coxiella* spp. Disse omtales ikke nærmere.

**Relevante antibiotika.** Mange ortopediske infeksjoner krever en innledende intravenøs antibiotikabehandling etterfulgt av peroral terapi (Sendi 2012, Svenska infektionläkarforeningen 2018). Den akutte infeksjonsfasen karakteriseres av en høy infeksjonsdose og dermed større fare for resistensutvikling ved suboptimal behandling. Intravenøs terapi gir en forutsigbar biotilgjengelighet, mulighet for høyere dosering og serumkonsentrasjoner. God vevspenetrasjon er en forutsetning for et godt behandlingsresultat. Derfor anbefales relativt høye døgndoser ved beininfeksjoner sammenlignet med andre infeksjonstilstander. Biofilmdannelse er sentral i patogenesen ved kroniske beininfeksjoner og implantatassosierte infeksjoner. Det er derfor også behov for testing av antibiotika med god biofilmapaktivitet som i kombinasjonsbehandling hemmer bakterier i ulike vekstfaser. Rifampicin er et antistafylokokk-middel med dokumentert anti-biofilm aktivitet *in vitro* og *in vivo*, og tilsvarende gjelder for fluorokinoloner mot fakultativt anaerobe gramnegative bakterier (Zimmerli APMIS 2017).

Antibiotikaklasser som særlig benyttes i behandlingen av ortopediske infeksjoner inkluderer betalaktamer, daptomycin, fusidinsyre, glykopeptider, klindamycin, kinoloner, oksazolidinoner, rifampicin, tetracykliner, trimetoprim-sulfametoksazol (Nasjonal faglig retningslinje for antibiotika i sykehus 2021, Svenska infektionläkarforeningen 2018).

**Resistenspaneler.** Utvalget av antibiotika (resistenspanelet) som anbefales resistenstestet bestemmes av aktuelle mikrober, resistensepidemiologi og kliniske karakteristika. Resistenspanelene må dekke antibiotika som kan administreres intravenøst og peroralt. Generelt gjelder AFAs anbefalte resistenspaneler og retningslinjer for selektiv rapportering (AFA-referanse). Tabell 1 angis anbefalte resistenspaneler for de ulike agens som er særlig relevante for ortopediske infeksjoner. Tabell 2 angir en anbefalt panelpakke for bitt.

**Resistenstesting.** Det forutsettes bruk av anbefalte kvalitetskontroller for utførelse og tolkning av resistenstesting. Disk-diffusjonsmetoden er en robust metode for undersøkelse av følsomhet for de fleste antibiotika hos relevante hurtigvoksende bakterier. Unntakene er vankomycin og daptomycin hvor disk-diffusjonsmetoden ikke egner seg. Følsomheten for daptomycin og vankomycin må undersøkes med MIC-bestemmelse, enten med gradienttest eller mikrobuljongfortynning.

Meticillinresistens kan påvises både fenotypisk med diskdiffusjon (ved bruk av cefoksitin -screening) eller genotypisk med påvisning av *mecA/mecC*. Ved KoNS bør genotypisk testing utføres ved alvorlige infeksjoner i tilfelle testresultatet er i området med teknisk usikkerhet (NordicAST 2021) eller viser cefoxitin-følsomhet.

EUCAST vil lansere en validert disk-diffusjonsmetode for resistenstesting av vanlige forekommende anaerobe bakterier fra 2022, inkludert *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Fusobacterium necrophorum* og *Cutibacterium acnes*. Ved identifisering av sjeldne forekommende langsomt voksende bakterier (eks. *Nocardia*) kan korrekt speciesidentifisering i seg selv ha en god prediktiv verdi med hensyn til valg av effektive antibiotika, men det kan også krever spesialisert resistenstesting i samråd med referanselaboratorium og aktuell litteratur (Tan 2020).

Hva skal en så gjøre når det ikke foreligger noen etablerte kliniske brytningspunkter for den aktuelle bakterien? Dette gjelder for flere arter innen HACEK-gruppen. Generelt vil søk på aktuell litteratur være nyttig. Det henvises også til EUCAST dokumentet «What to do when there are no breakpoints in the EUCAST table?» (EUCAST 2016). Hvis man kan benytte en troverdig og reproducerbar MIC-bestemmelse kan EUCAST artsuavhengige brytningspunkter, basert på farmakokinetiske/-dynamiske (PK-PD) vurderinger, brukes for å veilede terapi. Som en generisk tolkning anbefaler EUCAST at følgende tekst benyttes: *[Organismens navn], som EUCAST -brytningspunkter ikke er bestemt for, er undersøkt for antimikrobiell følsomhet ved bruk av tolkning basert på PK-PD brytningspunkter og pasienten kan sannsynligvis behandles med [middel 1], [middel 2] og [middel 3], men ikke [middel 4] og [middel 5].*

**Tabell 1. Anbefalte resistenspaneler ved ortopediske infeksjoner**

Agens	Antibiotika	Kommentarer
<b>Grampositive</b>		
<b>Stafylokokker</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>Meticillinfølsomme</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Benzylpenicillin</li> <li>Cefoxitin</li> <li>Doksycylin</li> <li>Fusidinsyre</li> <li>Klindamycin</li> <li>Trimetoprim-sulfametoksazol</li> <li>Ciprofloksacin*</li> <li>Rifampicin*</li> </ul>	* Alltid teste, men besvares kun rutinemessig ved protese-/fremmedlegeme-infeksjon.
<ul style="list-style-type: none"> <li>Meticillinresistente</li> </ul>	Som over unntatt betalaktamer + <ul style="list-style-type: none"> <li>Daptomycin</li> <li>Linezolid</li> <li>Vankomycin</li> </ul>	

<b>Streptokokker</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amoksicillin</li> <li>• Benzylpenicillin</li> <li>• Cefotaksim</li> <li>• Cefuroksim</li> <li>• Doksycylin</li> <li>• Klindamycin</li> <li>• Moksifloksacin</li> <li>• Trimetoprim-sulfametoksazol</li> </ul>	
<b>Enterokokker</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ampicillin-følsomme</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amoksicillin</li> <li>• Gentamicin</li> <li>• Linezolid</li> <li>• Vankomycin</li> </ul>	Alle invasive enterokokker skal screenes for resistens mot linezolid og vankomycin
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ampicillin-resistente</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Daptomycin</li> <li>• Gentamicin</li> <li>• Linezolid</li> <li>• Vankomycin</li> </ul>	
<b>Gramnegative</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterobacterales</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cefotaksim</li> <li>• Ciprofloksacin</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Piperacillin-tazobaktam</li> <li>• Trimetoprim-sulfametoksazol</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Pseudomonas aeruginosa</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ceftazidim</li> <li>• Ciprofloksacin</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Tobramycin</li> </ul>	Ved multiresistens er det også aktuelt å undersøke følsomheten for ceftazidim-avibaktam, ceftolozan-tazobaktam, imipenem-relebaktam, meropenem-vaborbaktam og cefiderocol.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Acinetobacter</i> spp.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ciprofloksacin</li> <li>• Trim-sulfametoksazol</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Tobramycin</li> </ul>	Ved multiresistens er det også aktuelt å undersøke følsomheten for imipenem-relebaktam og cefiderocol.
<b>Anaerober</b>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grampositive (Peptostreptokokker, <i>Finegoldia</i> spp.)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amoksicillin-klavulansyre</li> <li>• Benzylpenicillin</li> <li>• Klindamycin</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Metronidazol</li> <li>• Piperacillin-tazobaktam</li> </ul>	Ved blandingsinfeksjoner kan det være aktuelt å undersøke følsomhet for andre antibiotika inkludert vankomycin.

<i>Cutibacterium acnes</i> (Achermand 2014)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amoksicillin</li> <li>• Benzylpenicillin</li> <li>• Klindamycin</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Piperacillin-tazobaktam</li> </ul>	<i>C. acnes</i> er iboende resistent mot metronidazol. Ved blandingsinfeksjoner kan det være aktuelt å undersøke følsomhet for en rekke ulike antibiotika. <i>C. acnes</i> er følsom for alle betalaktamer, daptomycin, kinoloner, linezolid, rifampicin, trimetoprim-sulfametoksazol og vankomycin.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Granegative (<i>Bacteroides</i>, <i>Prevotella</i>, <i>Fusobacterium</i>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amoksicillin-klavulansyre</li> <li>• Benzylpenicillin</li> <li>• Klindamycin</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Metronidazol</li> <li>• Piperacillin-tazobaktam</li> </ul>	<i>Bacteroides</i> spp. er iboende resistente mot penicilliner og cefalosporiner på grunn av kromosomale betalaktamaser.

**Tabell 2. Anbefalte resistenspaneler ved bittrelaterte infeksjoner med HACEK-gruppen eller *Pasteurella* spp.**

Agens	Antibiotika	Kommentarer
<b>HACEK-gruppen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amoksicillin + klavulansyre</li> <li>• Benzylpenicillin</li> <li>• Cefotaksim</li> <li>• Ciprofloksacin</li> <li>• Doksisyklin</li> <li>• Erytromycin</li> <li>• Meropenem</li> <li>• Trimetoprim-sulfametoksazol</li> </ul>	AFAs anbefalinger for selektiv rapportering gjelder.
<b><i>Pasteurella</i> spp.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amoksicillin + klavulansyre</li> <li>• Ampicillin</li> <li>• Amoksicillin</li> <li>• Benzylpenicillin</li> <li>• Cefotaksim</li> <li>• Ciprofloksacin</li> <li>• Doksisyklin</li> <li>• Trimetoprim-sulfametoksazol</li> </ul>	AFAs anbefalinger for selektiv rapportering gjelder.

#### Referanser

1. Achermann Y et al. Propionibacterium acnes: from commensal to opportunistic biofilm-associated implant pathogen. Clin Microbiol rev 2014;27:3:419-40.
2. AFAs anbefalte resistenspaneler. <https://unn.no/fag-og-forskning/arbeidsgruppen-for-antibiotikasporsmal-og-metoder-for-resistensbestemmelse-afa>

3. Antimicrobial susceptibility tests on groups of organisms or agents for which there are no EUCAST breakpoints. EUCAST 2016. [https://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints\\_and\\_dosing/when\\_there\\_are\\_no\\_breakpoints/](https://www.eucast.org/clinical_breakpoints_and_dosing/when_there_are_no_breakpoints/)
4. Bhattacharya M, Wozniak DJ, Stoodley P, Hall-Stoodley L. Prevention and treatment of Staphylococcus aureus biofilms. Expert Review of Anti-infective Therapy, 13:12, 1499-1516
5. Detection of methicillin resistance in staphylococci. NordicAST 2021. <http://www.nordicast.org/forklarande-metoddokument>
6. Murphy J, Qaisi M. Management of human and animal bites. Oral Maxillofacial Surg Clin N Am 2021; 33: 373–80.
7. Nasjonal faglig retningslinje for antibiotika i sykehus. Helsedirektoratet 2021. <https://www.helsedirektoratet.no/retningslinjer/antibiotika-i-sykehus>
8. Sendi P, Zimmerli W. Antimicrobial treatment concepts for orthopaedic device-related infection. Clin Micro Infect 2012;18:1176-84.
9. Tan YE, Chen SC, Halliday CL. Antimicrobial susceptibility profiles and species distribution of medically relevant Nocardia species: Results from a large tertiary laboratory in Australia. J Glob Antimicrob Resist. 2020;20:110-7.
10. Vårdprogram för led- och skelettinfektioner. Svenska infektionläkarföreningen 2018.
11. Zimmerli W, Sendi P. Orthopedic biofilm infections. APMIS 2017;125:353-64.



## 4.11 Tropiske/importerte infeksjoner i bein og ledd. Hva må man tenke på, og hvor og hvordan stille diagnosen?

**Frank O. Pettersen, Regional kompetansetjeneste i import- og tropesykdommer, Infeksjonsmedisinsk avd., Oslo universitetssykehus, uxpfra@ous-hf.no**

### Sammendrag

Importerte infeksjoner i bein og ledd kan være forårsaket av mikrober som vanligvis ikke forekommer i vårt klima og/eller de kan ha et mer problematisk resistensmønster enn tilsvarende mikrober ervervet i Norge. I hovedsak kan de påvises på samme måte som andre agens ved hjelp av adekvat prøvetaking og -håndtering og vanlig tilgjengelige mikrobiologiske undersøkelser i form av en kombinasjon av mikroskopi, dyrkning og molekylærgenetiske metoder (oftest PCR), evt. med tillegg av serologiske undersøkelser for enkelte agens. Dette gjøres best i dialog med lege på mikrobiologisk avdeling FØR selve prøvetakingen finner sted for å sikre at det tas adekvat(e) prøvemateriale(r), tilstrekkelig prøvemengde, adekvat transportmedium og, hvis mulig, optimalt prøvetidspunkt mtp. at det er folk på laboratoriet som kan håndtere prøven. Hvilke differensialdiagnoser som er aktuelle, kan også med fordel diskuteres med infeksjonslege med erfaring med importmedisinske tilstander i forkant av prøvetakingen.

Man trenger ufikserte vevsprøver av en viss størrelse og antall fra affisert bein eller synnovia lagt på litt saltvann for å unngå uttørking og/eller leddvæske (in natura og på blodkulturflasker) til adekvat mikrobiologisk diagnostikk av importinfeksjoner som av andre mikrober. Generelt gjelder at vevsprøver oftere er for små enn for store, men store beinbiter er vanskelig å homogenisere. Hvis man f.eks. fjerner en infisert benlapp fra skallen, bør kirurgen dele den opp i biter som ikke er større enn en sukkerbit, ca 1 cm<sup>3</sup>, allerede på operasjonsstua. Bløtvevsbiopsier er enklere å dele opp og homogenisere. Stansebiopsier fra hud kan gjerne tas med redskap med 5 mm diameter. Hulnålsbiopsier fra virvelcorpora blir aldri så tykke, og man bør ta flere.

Vevsprøver bør transporteres raskt til laboratoriet. Hvis transporttiden er lang, f.eks. over 24 timer, bør man legge en vevsprøve på egnede transportmedier. Ved bruk av *fast* transportmedium (eks. fast Amie's gel) mister man muligheten for PCR-undersøkelser, og dette bør etter mitt syn, ikke lenger brukes så lenge *flytende* transportmedier er lett tilgjengelig (eks. flytende Amie's medium). Reiseanamnese og antibiotikabruk må framkomme på rekvisisjonen, noe som er spesielt viktig mtp. å kunne påvise multiresistente mikrober. I tillegg kan det være aktuelt å ta fullblod eller serum avhengig av hvilket patogen man leter etter.

Mange tropiske som kosmopolitiske og lokalt forekommende infeksjoner, kan gi muskel og skjelettsmerter uten faktisk infeksjon i bein eller ledd, klassisk denguefeber (og andre arbovirusinfeksjoner). Seksuelt overførbare infeksjoner (SOI) kan gi enten septisk artritt (systemisk gonokokkinfeksjon) eller reaktiv artritt (nesten alle andre bakterielle og virale agens som kan gi SOI).

Reiseanamnese, serologi og radiologiske undersøkelser kan gi nyttig informasjon mtp. mulige agens i forkant av biopsiering, f.eks. ved parasittinfeksjoner, slik at man i diskusjon med kliniker kan prioritere hvilke analyser som bør gjøres.

	Materiale	Tilsetning	Analyser
1	Vevsprøve	Litt saltvann	Mikroskopi, dyrkning og PCR
2	Vevsprøve	Flytende transportmedium (lang transport, krevende/ følsomme mikrober)	Mikroskopi, dyrkning (inkl. anaerobe og gc), og PCR
3	Vevsprøve	Litt saltvann	Mykobakterie-diagnostikk
4	Vevsprøve	Formalin/sprit	Histologi
5	Leddvæske	Ingen	Mikroskopi, dyrkning og PCR
6	Leddvæske	Blodkulturflasker, +/- spesialflasker	Bakterier, sopp og mykobakterier
7	Blod (fullblod)	Blodkulturflasker, +/- spesialflasker	Bakterier, sopp og mykobakterier
8	Blod (serum)	Med eller uten gel	Enkelte bakterier, sopp og parasitter
9	Blod (fullblod)	EDTA eller spesialglass for TB-Igra	Mikroskopi mtp tilbakefallsfeber og parasitter og PCR av parasitter. TB-Igra.
10	Andre	Avh. av materialet, eks. faeces på spesialmedium for tarmpatogene bakt.	Mikroskopi, dyrkning og PCR Urin-kryptokokkantigen.

### Mykobakterieinfeksjoner i bein og ledd

Mykobakterieinfeksjoner i bein og ledd forekommer hyppigere i land i sør, og diagnostikk mtp. *Mycobacterium tuberculosis*-komplekset (MTb) og non-tuberkuløse mykobakterier (NTM) er mer aktuelt ved importinfeksjoner i bein og ledd enn ved infeksjon ervervet i Norge. Det er viktig å reservere en egen biopsi/vevsprøve til mykobakteriepåvisning (3, evt. 5, 6 og 7)) - i tillegg til en vevsprøve til annen mikrobiologisk diagnostikk (1,2) - siden disse NALC-behandles i laboratoriet. Vevsprøven sendes på litt fysiologisk saltvann, og dyrkning mtp. både MTb og NTM prioriteres. For NTM-påvisning dyrkes på flytende vekstmedium i seks uker og fast medium (Løvenstein-Jensen-medium) i åtte uker – i begge tilfeller ved 30 og 36°C. *M. ulcerans*, *M. chelonae*, *M. haemophilum* og *M. marinum* (f.eks.) vokser best ved 30°C. Hvis pasienten er immunsvekket, dyrkes i tillegg på buljong tilsatt jern ved 30°C for optimalisert vekst av *M. haemophilum* og *M. genavese*. *M. ulcerans* kan gi Buruli sår og av og til osteomyelitt. Mikroskopi (Auramin-Rhodamin- eller Ziehl-Neelsen-farging), og PCR mtp. MTb bør også gjøres. Spesifikk PCR-diagnostikk for enkelte NTM har vært prøvd ut, men er ikke ennå tilgjengelig i Norge, men ved Institute of Tropical Medicine i Antwerpen har de en spesifikk *M. ulcerans*-PCR (in house, ikke-akkreditert analyse). I tillegg tas TB-Igra i perifert blod på spesialglass (9).

Ved mistanke om *Mycobacterium leprae* gjøres mikroskopi av vevsprøve (3) fra affisert område, oftest stansebiopsi fra hud med nerver evt. fra bein og ledd. Man kan også mikroskopere etter syrefaste eller flouriserende staver i ublodige «skin slit smears» fra øreflipper, albuespisser og knær (prepatellært) og fra hudlesjoner. Tar man vevsprøver fra affisert(e) område(r), bør det tas tre biopsier fra hver lesjon hvorav én går til mikroskopi ved lokalt tuberkuloselaboratorium eller Infeksjonsmedisinsk laboratorium, Oslo universitetssykehus (OUS), én til histologisk undersøkelse og én til spesifikk *M. leprae*-PCR som utføres ved Bernhard Nocht Institut i Hamburg. Konvensjonell bakteriell PCR eller

mikrobiom-analyse ved Statens seruminstitut i København er et alternativ, men det må påregnes noe lavere sensitivitet enn den spesifikke PCR-analysen tilgjengelig ved BNI.

**For all mikrobiologisk påvisning av mykobakterier (3, evt. 5, 6 og 7)) gjelder prinsippet om jo mer materiale, jo bedre, og altså i tillegg til vevsprøver tiltenkt andre mikrobiologiske (1,2) og histologiske (4) undersøkelser.**

### Importerte bakterielle infeksjoner i bein og ledd

Her vil man kunne komme i mål ved å følge vanlige mikrobiologiske prinsipper med adekvat vevsprøve tatt etter minst 1 ukes, men gjerne 2 ukers, antibiotikafri hvis klinisk tilrådelig, og via frisk hud hvis mulig. Ved Infeksjonsavdelingen på OUS tar vi i tillegg blodkulturer (7) 2 timer etter gjennomgått prosedyre, evt. inkl. soppflaske og/eller mykobakterieflaske ved indikasjon.

Biopsiene (1,2) håndteres som angitt i innledningen. Laboratoriet bør få informasjon om at det er snakk om mulig importinfeksjon og aktuell reiseanamnese. Dette er både nyttig mtp. valg av videre dyrkningsmetodikk og viktig av HMS-hensyn i tilfelle mikroben ikke bør håndteres på vanlig benk i laboratoriet, f.eks. *Brucella* som kan forårsake sekundærtinfeller blant laboratorieansatte. I tillegg er det økt risiko for multiresistens ved importinfeksjoner, og informasjon om importsmitte på rekvisisjonen gjør at laboratoriet kan ta høyde for dette ved sitt primære resistensoppsett. Har man mulighet, bør man ta to biopsier til bakteriologisk undersøkelse der en legges på litt saltvann (1) og en på flytende transportmedium (2).

Kroniske osteomyelitter kan gi fistler, men prøver fra fistelåpningen kan ofte være lite representative og opphav til mer forvirring enn avklaring pga. kontaminasjon fra hud. Det bør tas peroperative prøver som merkes godt med nummer og lokalisasjon fra ytterst til innerst og den antatt beste prøven. Mykobakterier kan også gi en kombinasjon av bløtvevsinfeksjon og osteomyelitt, og ved slike infeksjoner hos personer fra høyendemiske områder for Mtb eller NTM, må det tas av egne prøver til mykobakteriepåvisning.

Aktuelle agens kan f.eks. være *Brucella*, *Coxiella* og *Burkholderia*. *Brucella* er mest aktuelt, og *Brucella*-spondylodiskitt kan likne på MTb-spondylodiskitt. *Brucella* kan vokse sakte, og ved klinisk mistanke bør kulturer forlenges til inntil 14 dager. For *Brucella* og *Coxiella* finnes serologisk diagnostikk ved Folkehelseinstituttet (8), og noen laboratorier har egne skåler for dyrkning av *Burkholderia*, men denne vokser på vanlig laktose-skål om enn noe saktere enn andre gramnegative staver. Ved salmonellose (inkl. tyfoide feber) kan man også få infeksjons artritt eller osteomyelitt, kanskje også ved bacillær dysenteri (shigellose). Andre prøvematerialer enn fra bein eller ledd kan være aktuelle: abscessmateriale, faeces, blod, lymfeknuter, hudlesjoner, abscesser og benmarg (10). Actinomykose kan affisere bein og ledd i tillegg til bløtvev og bør dyrkes anaerobt (2). Spiroketoser som non-treponematoser (yaws og bejel), lues, borreliose og tilbakefallsfeber kan gi artritt, og disse er i utgangspunktet vanskelig å dyrke, men kan enten påvises mikroskopisk (1, 9) (*Borrelia recurrentis*), serologisk (8) (*Treponema pallidum* og *Borrelia burgdorferi*) eller vha. PCR av vev (1) (spesifikk lues-PCR (OUS), borrelia-PCR (Mikrobiologisk avd., Sørlandet sykehus, avd.

Kristiansand) eller generell bakteriell PCR). Gonoré er i stor grad en importinfeksjon i Norge og kan gi artritt. Ved septisk artritt, vil de fanges opp i blodkulturer (7) eller ved bakteriell PCR av synovia (1,2) eller leddvæske (5, 6) – og dyrkning (2) (som er nyttig mtp. påvisning av evt. multiresistens). Gonokokker er lite robuste og må transporteres på transportmedium eller sås ut direkte. Rottebitt-feber forårsakes av *Streptobacillus moniliformis* i Nord-Amerika og *Spirillum minus* i Asia (sk. sodoku) kan visstnok også gi artritt.

**Bakteriell PCR kan være eneste diagnostiske metode for påvisning av et gitt agens der dyrkning er vanskelig, hemmet av antibiotikabruk eller krever lite tilgjengelige spesialmedier og spesiell håndtering.**

Importerte soppinfeksjoner i bein og ledd

Soppinfeksjoner i bein og ledd er sjelden. Immunsupprimerte pasienter er som hovedregel mer utsatt enn immunfriske, men noen dimorfe sopp gjerne ses hos immunkompetente personer (*Coccidioides*, *Blastomyces* og *Paracoccidioides*), mens andre primært rammer immunsvekkede. Andre risikofaktorer er intravasale katetere, parenteral ernæring, diabetes mellitus og bredspektret antibiotikabehandling. Sopp-osteomyelitt i Norge er hyppigst forårsaket av *Candida spp.*, typisk spondylodiskitt og er ikke nødvendigvis importert. Ved oppgitt reiseanamnese og immunstatus kan man få mistanke om andre mer klassisk tropiske sopp som kan kreve spesifikke dyrkningsmetoder (1) mtp. valg av medium, inkubasjonstid og –lengde, supplerende serologiske analyser og inneslutningsnivå i laboratoriet.

Klassisk velges utsæd på en Sabouraud-skål som inkuberes ved 25-30°C og 37°C. Gjærsopp vokser ofte innen et par dager, mens muggsopp trenger lengre tid. For vekst av dermatofytter og dimorfe sopp bør inkubasjonstiden forlenges til (minst) 4 uker.

Calcofluorwhite-farging av prøvematerialet er enkelt og kan gi nyttig informasjon om type sopp og valg av dyrkningsmetode, eks. behov for spesialsåler og/eller tilsetninger (konferer referanselaboratoriet for sopp-diagnostikk, OUS, Rikshospitalet). Fra kultur kan en også komme i mål ved hjelp av massespektrometri (MALDI-TOF) gitt adekvat ekstraksjon og oppdaterte databaser.

Serologisk diagnostikk (8) er aktuelt for *Aspergillus* og dimorfe sopp (spesielt coccidiomykose, sjeldnere blastomykose og histoplamose). Kryptokokk-antigen kan påvises i serum ved invasiv sykdom. Galaktomannan kan påvises i serum ved invasiv aspergillose og (1,3)- $\beta$ -D-glukan kan påvises i serum ved de fleste invasive soppinfeksjoner unntatt ved kryptokokkinfeksjon eller mucorales-infeksjoner. Mannan og anti-mannan kan benyttes ved invasive candida-infeksjoner.

Molekylærgenetiske metoder kan deles inn i sanntids-PCR med spesifikke primere, eks. *Aspergillus*-PCR og kryptokokk-PCR, og molekylærgenetisk påvisning av konserverte regioner i ITS-området til soppen med påfølgende sekvensering (ITS-PCR). Spesifikk PCR eller ITS-PCR med påfølgende sekvensering kan være til god hjelp for agensdiagnostikk på species-nivå, og prøvemateriale håndteres som beskrevet for vevsprøver til bakteriell PCR (1). Igjen gjelder at det er bedre med for mye materiale enn for lite, særlig om man har en bred tilnærming pga. usikker utløsende agens eller immunsvekket pasient. Radiologiske og histologiske undersøkelser kan i noen tilfeller gi en pekepinn om at det foreligger en soppinfeksjon.

Det kan være vanskelig å skille mellom kontaminering, kolonisering og faktisk infeksjon, og resultatet må alltid sammenholdes med klinikken. Uvanlige funn ved invasive infeksjoner skal sendes referanselaboratoriet for soppdagnostikk, OUS, Rikshospitalet, for konfirmasjon. Aktuelle sykdomsbilder kan være mycetom («Madura foot») og coccidioidomycose. Mange sopp kan gi osteomyelitt eller artritt, f.eks. *Aspergillus*, *Sporotrix* (sporotrichose), *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Cryptococcus*, *Mucorales*, *Scedosporium*, *Fusarium* og *Tricophyton*. Penetrerende skader i tropiske strøk kan gi inokulasjon av uvanlige sopp i bein og ledd.

Mikroskopi, soppsydding (mtp. gjær- og muggsopp), massespektrometri fra kultur og ITS-PCR bør utføres ved mistanke om importert soppinfeksjon i bein og ledd. Pasientens immunstatus bør sjekkes med minimum en hiv-test. Ved mer agensspesifikk mistanke kan «Strategirapport om soppinfeksjoner 2013» gi nyttig informasjon, eller man kan konsultere referanselaboratorium for soppdagnostikk, OUS, konsulteres mtp. valg av skåler og inkubasjonstid og -temperatur, serologiske og molekylærgenetiske analyser. Enkelte sopp (dimorfe sopp) krever håndtering i inneslutningsnivå 3 i laboratoriet for å beskytte mot laboratoriesmitte.

### Importerte parasittinfeksjoner i bein og ledd

Parasittær årsak til infeksjoner i bein og ledd er svært uvanlig. Noen parasitter kan imidlertid sette seg hvor som helst og gi lesjoner i bein og ledd som kan være umulig å fjerne kirurgisk. Aktuelle parasitter er først og fremst helmintene *Echinococcus*, *Taenia*, *Schistosoma* og filarier. Både *E. granulosus* og *multilocularis* kan ved affeksjon av skjelettet bli et livslangt problem tross adekvat medikamentell behandling. *Schistosoma*-ormer eller -egg og *Taenia solium*-larver (cysticerkose) kan i prinsippet havne hvor som helst i kroppen, inkl. bein og ledd. Ved flere filarioser kan man få artritt, f.eks. onchocerciasis, lymfatisk filariasis og loiasis. Amøbeinfeksjoner er nesten aldri aktuelle som årsak til infeksjoner i bein og ledd, men mukokutan leishmaniasis kan gi bruskestruksjon og sekundær bakteriell infeksjon i underliggende bein. Mange parasittinfeksjoner kan imidlertid ha artritt som ledsagerfenomen uten at de gir destruktiv, infeksiøs artritt eller osteomyelitt. Parasittinfeksjoner diagnostiseres mikroskopisk, serologisk og/eller molekylærgenetisk. Vevsprøver (1) sendes ufiksert på litt saltvann til mikroskopi for påvisning av leishmania og filarier. Ufikserte vevsprøver (1) kan undersøkes molekylærgenetisk med spesifikke PCR-analyser (leishmania- og schistosoma-PCR ved OUS). OUS videresender prøver ved behov til Statens seruminstitut som tilbyr spesifikk PCR for *Echinococcus* og *Taenia*, samt pan-parasitt-PCR, eller andre utenlandske laboratorier. Serum (8) for påvisning av antistoffer mot *Echinococcus*, *Schistosoma*, filarier og cysticerkose sendes UNN som videresender analyser de ikke selv utføres. Det finnes også antigenester i serum for enkelte filarioser. Histologiske analyser av fikserte vevsprøver er aktuelt som tilleggsundersøkelse med god informasjon om reiseanamnese og mistanke om parasittinfeksjon. Om man også analyserer faeces (10) mtp. *Taenia* ifbm. utredning av cysticerkose, må materialet håndteres som smitteførende (kontaktsmitte).

Referanselaboratoriene for henholdsvis serologisk parasitt-diagnostikk ved UNN og molekylærgenetisk parasitt-diagnostikk ved OUS og kompetansetjenestene for import- og tropesykdommer ved Infeksjonsmedisinsk seksjon, Haukeland universitetssykehus og Infeksjonsmedisinsk avdeling, OUS, kan kontaktes for råd om prøvetaking og forsendelse i forkant av prøvetaking. Referanselaboratoriene i parasittologisk diagnostikk på hhv. UNN og OUS er behjelpelige med videresending til aktuelle institusjoner utenfor Norge og sammen med og kompetansetjenestene i import- og tropesykdommer på hhv. HUS og OUS holder de seg oppdatert på hvilke laboratorier som tilbyr de ulike analysene.

## Oppsummering

**Diagnostikk av sjeldne importagens som årsak til infeksjoner i bein og ledd blir best med god reiseanamnese, sykehistorie, resultater av supplerende (radiologiske) undersøkelser og god dialog mellom kliniker og mikrobiolog før en evt. invasiv prøvetaking gjøres.**

Sykehistorien ved mistenkt importinfeksjon bør inneholde en detaljert reiseanamnese, opplysninger om fritidsaktiviteter og kontakt med dyr eller fugler, arbeid med jord eller på gårdsbruk kan bidra til å begrense antallet sannsynlige utløsende agens.

Ved sparsomt materiale og i fravær av en meget sannsynlig tentativ diagnose bør man prioritere (1) generell bakteriell dyrkning, evt. med anrikning og en sopp-skål, generell bakteriell PCR og ITS-PCR framfor spesifikke PCR-analyser og spesial-dyrkningsmetoder. Mikroskopi kan være til god hjelp før valg av videre analysemetoder, f.eks. Calcofluorourowhite mtp. sopp-diagnostikk.

Mykobakteriediagnostikk krever eget prøvemateriale (4) og bør avklares før biopsiering. Andre materialer enn vevsbiopsier og abscessmaterialer (eks. blod, urin, faeces) er lett tilgjengelige og kan suppleres.

## Kilder og kontaktinformasjon:

Manson's Tropical Diseases, 23rd Edition, eBook ISBN 9780702053061 eller Hardcover ISBN 9780702051012  
Medisinsk mikrobiologi, 4. utgave, Rollag H, et al. Gyldendal norsk forlag 2019. ISBN 978-82-05-50098-3  
Håndbok Infeksjonsmedisin (OUS), 2021, elektronisk tilgjengelig på [www.medisinous.no](http://www.medisinous.no) eller via app MyMedicalBooks

Brukerhåndbok i mikrobiologi (OUS), 2021, elektronisk tilgjengelig på [www.medisinous.no](http://www.medisinous.no)  
<https://www.fhi.no/globalassets/dokumenterfiler/rapporter/strategirapporter/soppinfeksjoner-pdf.pdf>

Bariteau JT, et al, Fungal Osteomyelitis and Septic Arthritis, J Am Acad Orthop Surg 2014;22:390-401

Gamaletsou MN, et al, Epidemiology of Fungal Osteomyelitis, Cur Fungal Infect Rep 2014;8:262-270

Prosedyre for «Avlesning av mykobakterier», Mikrobiologisk avdeling, Ullevål, OUS

## Kontaktinformasjon kompetansetjenestene i trope- og importmedisin:

Regional kompetansetjeneste for import- og tropesykdommer, HSØ-RHF, Oslo universitetssykehus, Ullevål

Nasjonalt kompetansetjeneste i importerte infeksjonssykdommer, Haukeland universitetssykehus

## Lenker til hjemmesider og rekvisisjoner:

Referanselaboratoriene i parasittologisk diagnostikk: [www.parasittdiagnostikk.no](http://www.parasittdiagnostikk.no)

Folkhälsomyndigheten: [www.folkhalsomyndigheten.se](http://www.folkhalsomyndigheten.se)

Statens seruminstitut: [www.ssi.dk](http://www.ssi.dk)

## 5 Vedlegg

### 5.1 Deltagerliste og observatører

#### Strategimøte 27 oktober 2021: Ortopediske infeksjoner

1

Foredragsholdere/ møteledere	Institusjon/sykehus	Funksjon
Karianne Wiger Gammelsrud	OUS, Ullevål	Innleder/Programkomité
Truls Leegaard	AHUS	Innleder
Bergh, Kåre	St. Olavs hospital	Innleder/Representant
Vegard Osland	St. Olavs hospital	Innleder
Kjersti Wik Larssen	St. Olavs hospital	Innleder/Programkomité/Ref.gr
Therese Johansen	Nordlandssykehuset	Innleder/Programkomité
Kyriakos Zaragkoulias	Sykehuset i Levanger	Innleder/Representant
Dag Harald Skutlaberg	Haukeland	Innleder/Programkomité
Olaf Strømme	St. Olavs hospital	Innleder/Observatør
Jørgen V Bjørnholt	OUS, Rikshospitalet	Innleder/Representant
Arnfinn Sundsfjord	Universitetssykehuset Nord-Norge	Innleder
Frank O Pettersen	OUS, Ullevål	Innleder
<b>Øvrige deltakere</b>		
Aasmund Fostervold	Stavanger	Ref.gr
Heidi Syre	Stavanger	Representant
Trond Egil Ranheim	Først	Representant
Fabian Åhrberg	Molde, Ålesund	Representant
Einar Tollaksen Weme	Drammen	Representant/Ref.gr
Rolf-Arne Sandnes	Lillehammer	Representant
Nina Handal	AHUS	Representant
Kristine Karlsrud Berg	Kristiansand	Representant
Marit Ebbesen	Haukeland	Representant
Nils Olav Hermansen	OUS, Ullevål	Representant
Anja D Guleng	Kalnes	Representant
Kamila Karolewska	Førde	Representant
Heidi Cecilie Villmones	Sykehuset Vestfold	Representant
Karina Olsen	Universitetssykehuset Nord-Norge	Representant
Åsheim, Sandra	Nordlandssykehuset	Representant
Mina Øydis Høye	Bærum (digital deltagelse)	Representant
Liv Jorunn K. Hafne	Haugesund (digital deltagelse)	Representant
Anne Torunn Mengshoel	FHI	Arbeidsgruppen
Polina Katsioulari	FHI	Arbeidsgruppen
Lene Haakensen Kolstad	FHI	Arbeidsgruppen
Astrid L. Wester	FHI (digital tilhører)	Arbeidsgruppen
Astri Lervik Larsen	Kalnes	Ref.gr

<b>Observatører</b>		
Hege Snøsen	St. Olavs hospital	Tilhører digital
Hege Enger	St. Olavs hospital	Tilhører digital
Kristin M Bechensteen	St. Olavs hospital	Tilhører digital
Maria Schei Haugan	St. Olavs hospital	Tilhører digital
Katrine Rønning Neramo	Lillehammer	Tilhører digital
Kristina Papp	Telelab, skien	Tilhører digital
Liv Reidun Tverelv	Tromsø	Tilhører digital
Renate Sørjoten	Furst	Tilhører digital
Hege Vangstein Aamot	AHUS	Tilhører digital
Anne-Marthe Urdal Sand	OUS, Rikshospitalet	Tilhører digital
Berit Harbak	Levanger	Tilhører digital
Eldbjørg Berg	Levanger	Tilhører digital
Johan Christian Berild	OUS, Ullevål	Tilhører digital
Else Quist-Paulsen	OUS, Ullevål	Tilhører digital
Janne Møller-Stray	Drammen	Tilhører digital
Åslaug Misund Hovda	Molde/Ålesund	Tilhører digital
Elisabeth Sirnes	Førde	Tilhører digital
Siri Tandberg Knoop	Bergen	Tilhører digital
Ghantous Milad Chedid	Haugesund	Tilhører digital
Marianne Hille Jakobsen	Stavanger	Tilhører digital
Anita Løvås Brekken	Stavanger	Tilhører digital
Robin Belaska	Tønsberg	Tilhører fysisk
Linda Merethe Oudalstøl	Kristiansand	Tilhører digital
Ståle Tofteland	Kristiansand	Tilhører digital



## 5.2 Resultat av Quest back

### Spørreundersøkelse i forbindelse med Strategimøtet i bakteriologi: Ortopediske infeksjoner (18 laboratorier)

Therese Johansen (quest-back-sjef)  
NLSH Bodø

Karianne Wiger Gammelsrud (presentatør)  
OUS Ullevål

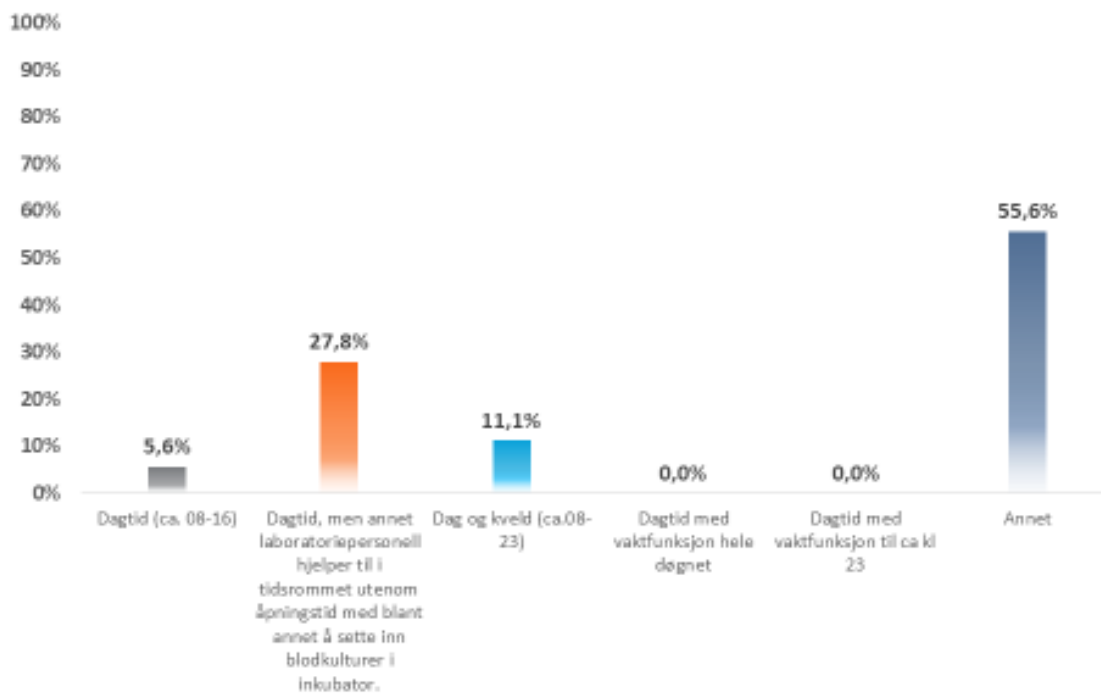
#### Temaer

- Åpningstid
- Transportmedier og håndtering av prøver
- Medier/inkubasjonstid
- Anrikningsbuljong
- PCR-metoder



### HVILKEN ÅPNINGSTID HAR DET MIKROBIOLOGISKE LABORATORIET?

*Dersom ingen av alternativene passer, bruk «annet» og beskriv hvordan det er hos dere*



## HVILKEN ÅPNINGSTID HAR DET MIKROBIOLOGISKE LABORATORIET?

Dersom ingen av alternativene passer, bruk «annet»  
og beskriv hvordan det er hos dere

Antall	Åpningstid baktlab	Utenom åpningstid
1	8-16	
6	"dagtid"	blk utenom åpningstid
1	8-17	vaktlege + blk hele døgnet
1	8-19:30	blk+spv annet personell
2	8-21	blk hele døgnet
1	8-21 hverdager, 8-15 lørd.	
1	8-21 hverdager, 8-16 helg	
1	8-21:30	MBK-oppgaver hele døgnet
1	8-22	leger 8-16, MBK hele døgnet
1	8-22	vaktfunksjon hele døgnet
1	8-22 hverdager, 8-16 helg	blk i mottak hele døgnet
1	24/7	

8 stk:  
kl. 8-21/22  
(ivertfall hverdager)

Korona-effekt?  
Samme åpningstid helger/helligdager?  
Hvor mye gjøres på vakt?

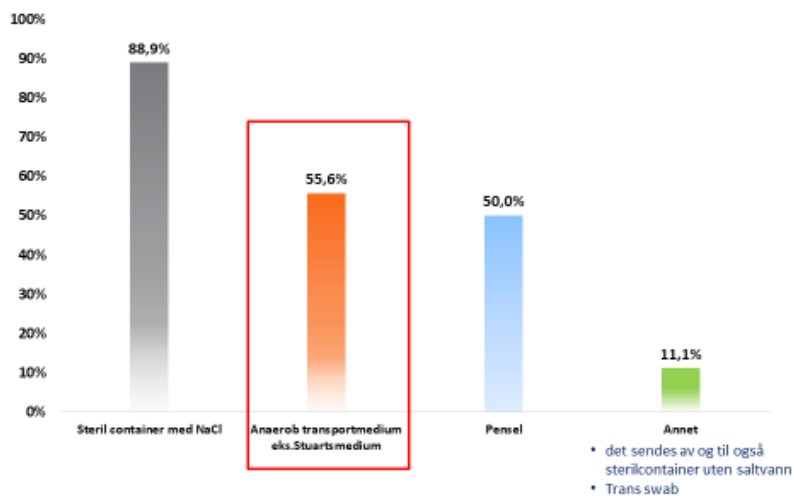
## BLIR PRØVER FRA ALVORLIGE INFEKSJONER SÅDD UT OG MIKROSKOPERT I VAKTTIDEN?



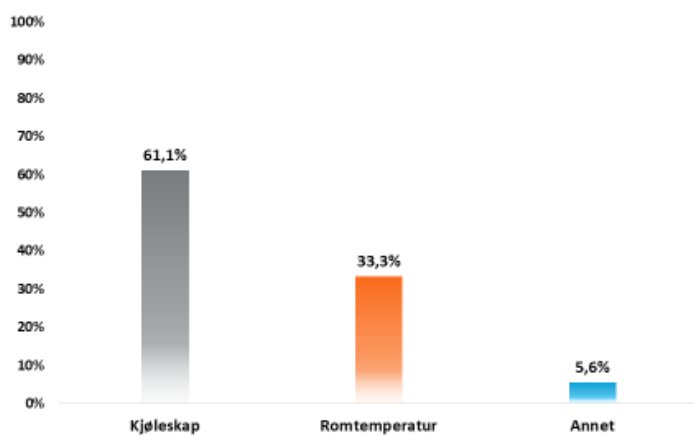
## Konklusjon åpningstid og mulighet for rask utsæd av prøver

- Svært varierende åpningstider og vaktordninger
- Åpningstiden er en begrensende for ideell håndtering av viktige prøver som må sås ut raskt
  - For noen er også lang transportvei en utfordring/begrensning
- Fremtidsdrøm:  
Alle mikrobiologiske laboratorier driftes 24/7 for alle typer prøver (samt systemer for optimal logistikk på plass) 🍷❤️

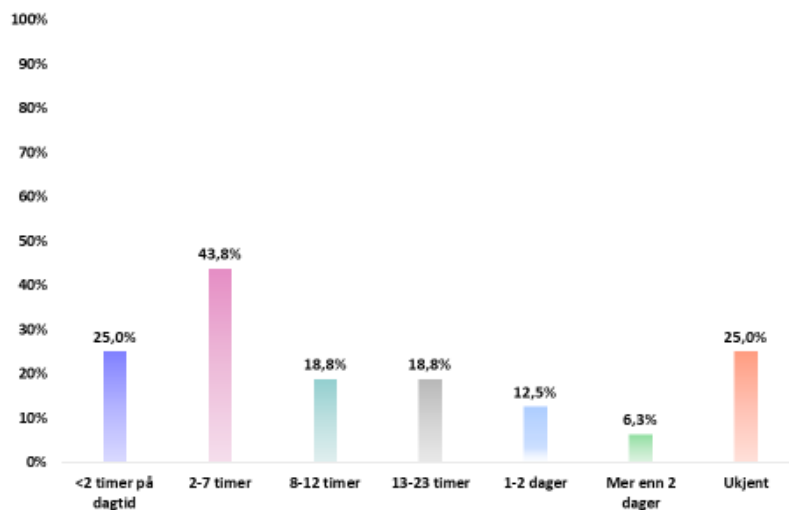
FOR VEV OG BEINBIOPSIER, HVILKET  
PRØVETAKNINGSMEDIUM BENYTTES AV REKVIRENTEN  
FOR INNSENDING TIL LAB? FLERE VALG MULIG.



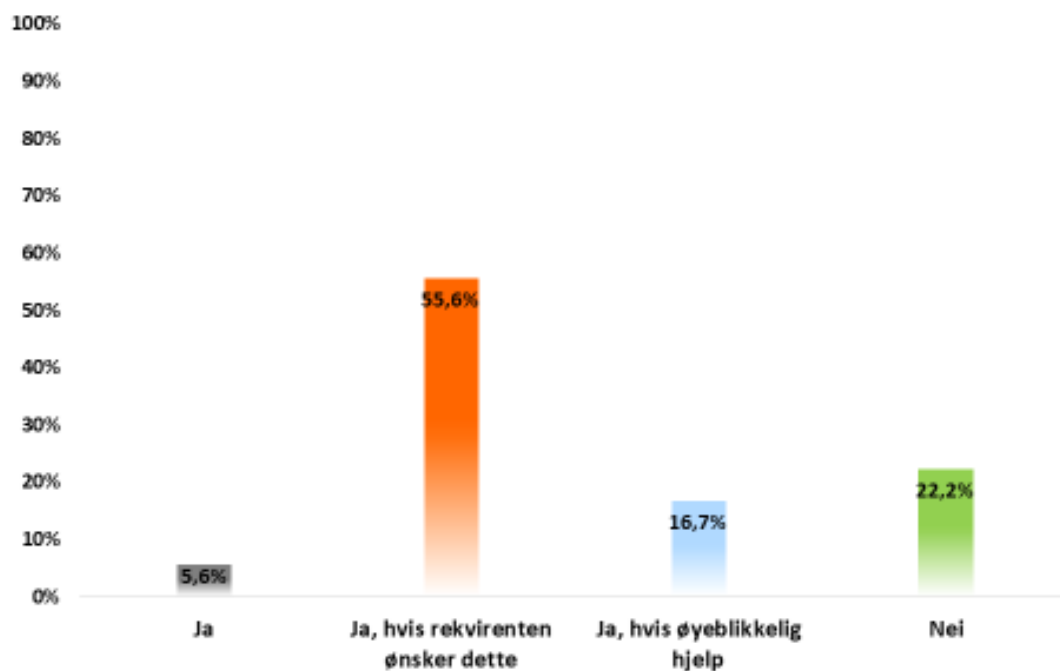
OPPBEVARING AV PRØVER I LABORATORIET



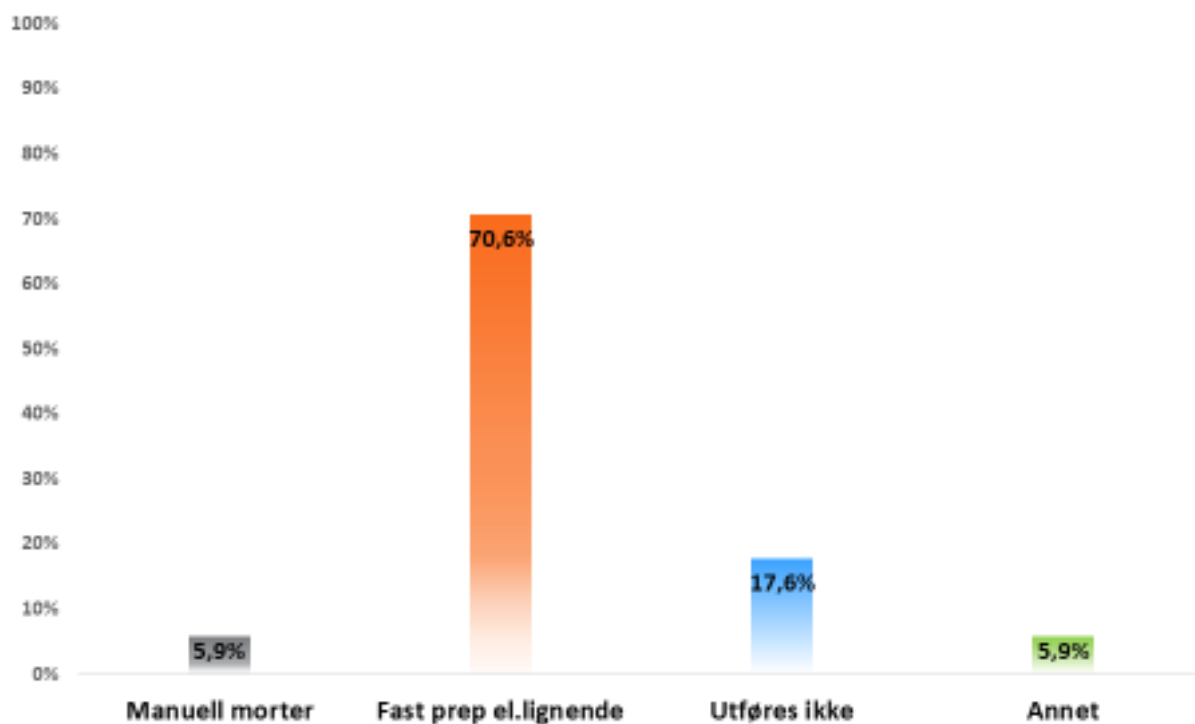
HVA ER GJENNOMSNITTLIG TID FRA PRØVETAKING AV  
VEVSPRØVER TIL PRØVEN BLIR SÅDD UT?



### BLIR VEVSPRØVER DIREKTE MIKROSKOPERT?



### HOMOGENISERING AV VEVSPRØVER GJØRES VED HJELP AV:



## Hvilke medier/inkubasjonstid benyttes ved de ulike problemstillingene?

	Inkub. tid (dager):	Anaerobt	Brun	Blod	Laktose/MacConkey	Direkte mikroskopi	Tilleggsmedium	N
Proteseinfeksjon - penselprøve	2-10 (evt 14)	93,8%	100%	93,8%	37,5%	0%	31,3%	16
Proteseinfeksjon - biopsi	5-10 (evt 14-15)	100%	100%	94,1%	29,4%	0%	47,1%	17
Proteseinfeksjon - leddvæske	2-7 (evt 10-15)	100%	100%	94,1%	17,6%	29,4%	35,3%	17
Penselprøve - diabetes fot	2-3 (aer) 3-5 (ana)	70,6%	58,8%	94,1%	88,2%	0%	35,3%	17
Benbiopsi - diabetes fot	2-7	94,1%	100%	100%	58,8%	5,9%	47,1%	17
Septisk artritt	2-7	94,1%	100%	94,1%	5,9%	58,8%	35,3%	17
Osteomyelitt	2-7	94,1%	94,1%	100%	41,2%	17,6%	41,2%	17
Spinale infeksjoner	2-7	76,5%	100%	88,2%	17,6%	35,3%	35,3%	17
Frakturrelaterte infeksjoner	2-7	88,2%	94,1%	100%	52,9%	5,9%	35,3%	17
Bittinfeksjoner	2-7	100%	100%	94,4%	72,2%	0%	27,8%	18

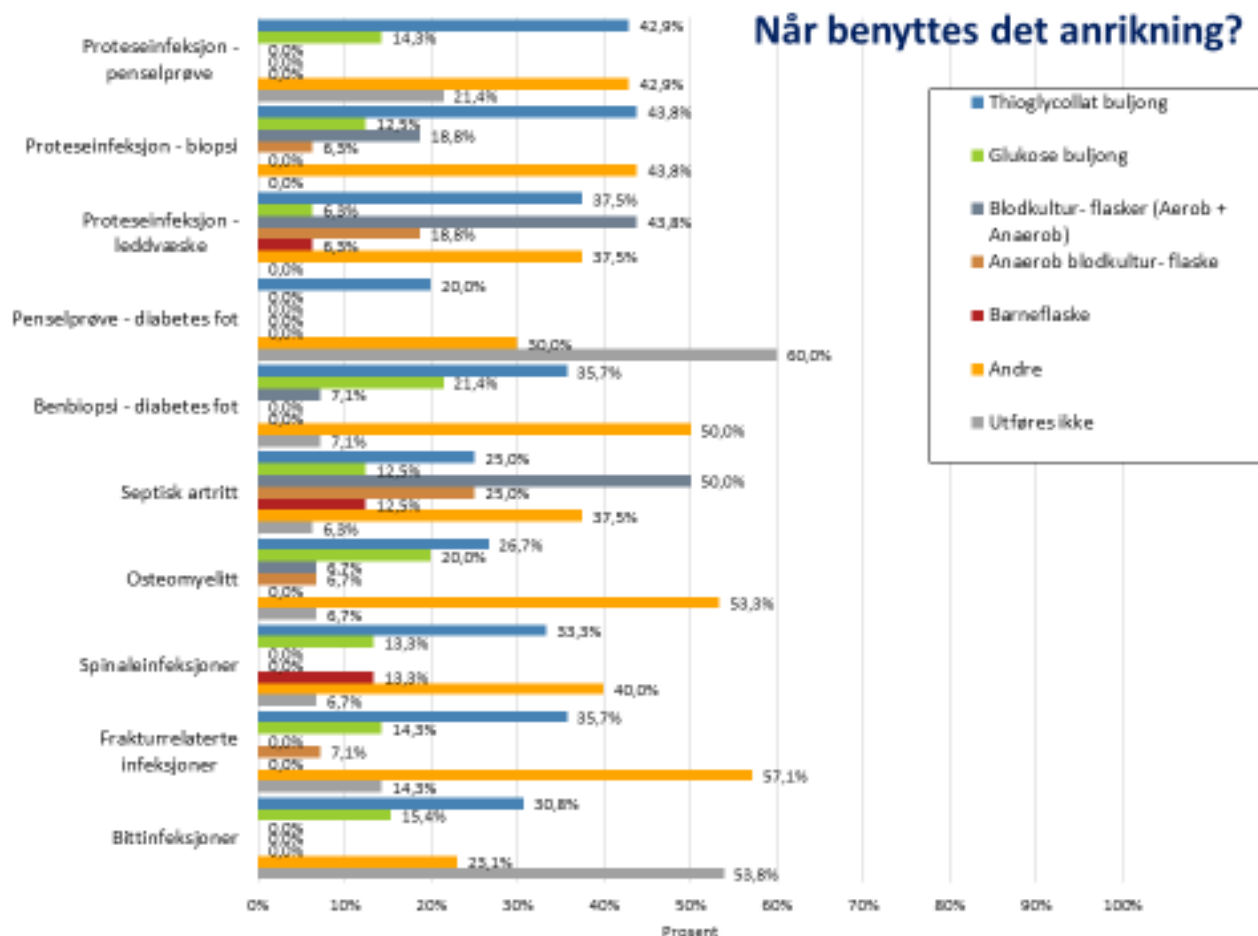
Kan variere mtp lokalisasjon, inneligg., pol., prim. m/m

### Hvis tilleggsmedium benyttes; hvilke/t?

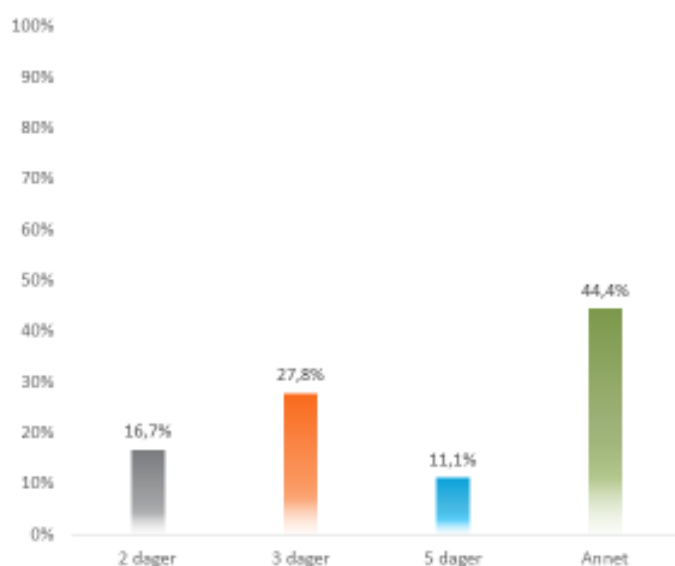
- CNA (bitt og diabetes fot)
- Sabouraud og Chrom Candida (diabetes fot)
- Mikroaerofil dyrkning (bitt)
- FA-agar og anaerob buljong
- FAA, FAA Kana-vanko og FAA-Neomycin
- Selektiv skål for stafylokokkar (Manitol-skål)
- Selektiv (og differensierende) medium for *Candida* arter (spinale infeksjonar)

### Hvis andre anrikninger benyttes, oppgi hvilke

- Serumbuljong (BHI med hesteserum)
- Glukosebuljong 5%
- Thioglykonatbuljong
- BHI-buljong (Brain Heart Infusion)
- HiB buljong.
- Blodkultur (aerob og/eller anaerob og/eller barneflaske)  
«blk flaske når rekvert (vill vest)»



## INKUBASJONSTID VED UTSÆD AV BULJONG



### Annet:

- Varierer avhengig av prøvematerialet 2 (vev) – 5 (ben)døgn
- Vanligvis 5 dager etter utsæd
- Ved 7 døgns inkubasjon gjøres utsæd av buljong på dag 2 og 5.
- 7 dager
- 3 el 9 (9+5 =14)
- Sås ut dag 6, leses av etter 1 døgn. Hvis blakket før, sås den ut tidligere også.
- Inkuberer 6 dager, leses av etter 1 døgn, sås ut før dersom blakket.
- 1 døgn

### Hvilke PCR (molekylær-) undersøkelser gjør laboratoriet på ben og leddinfeksjoner?

Type molekylærundersøkelse	Antall laborer?
16SrDNA sekvensering	4
<i>S. aureus</i> PCR	3
<i>Kingella kingae</i> PCR	3
Div Sopp PCR	1
<i>C. acnes</i> PCR	1
PVL PCR (og evt andre virulensegener hos <i>S. aureus</i> )	1
mecA PCR på Cefoxitin S KNS proteseinfeksjoner	1
GBS PCR i sjeldne tilfeller	1
Peumolysin PCR i sjeldne tilfeller	1
<b>Ingen</b> - må evt sende til annen lab (særlig 16S og <i>K.kingae</i> )	<b>13</b>

### Hvilke PCR-analyser skulle dere ønske var tilgjengelig?

- 16SrDNA sekvensering
- *Kingella*
- Direkte NGS/dypsekvensering
- FilmArray
- *C. canimorsus* (alvorlige bittinfeksjoner)
- Stafylokokk (*S. aureus*/KNS) (til bruk på klinisk materiale)
- GAS
- Flere spesifikke bakterie PCR undersøkelser som f. eks *Kingella kingae* osv.

Utgitt av Folkehelseinstituttet

Februar 2023

Postboks 4404 Nydalen

NO-0403 Oslo

Telefon: 21 07 70 00

Rapporten kan lastes ned gratis fra

Folkehelseinstituttets nettsider

[www.fhi.no](http://www.fhi.no)