

# Ny molekylärbiologisk metod skrotades trots god potential

## FÖRLUST AV VÄRDEFULLT VERKTYG INOM INFEKTIONS DIAGNOSTIKEN VISAR ATT ICKE-VINSTDRIVANDE TESTUTVECKLING KANSKE BEHÖVS

Sedan mer än 100 år har bakterieodling varit den helt dominerande metoden för mikrobiologisk diagnostik av bakteriella infektionssjukdomar. Odling har hög specificitet och möjliggör testning av antibiotikakänslighet. Nackdelarna med odling är att känsligheten inte är optimal och att analysstiden kan vara lång.

Under de senaste två decennierna har molekylära metoder såsom PCR (polymeraskedjereaktion) utvecklats för detektion av bakterier. Den amerikanska läkemedelsmyndigheten Food and Drug Administration (FDA) har godkänt PCR-metoder för detektion av utvalda bakterier, t ex grupp B-streptokocker, Mycobacterium tuberculosis, meningokocker, Chlamydia och Clostridium difficile. Hittills har dock ingen metod för utvidgad bakteriedetektion direkt på patientprov godkänts.

Med PCR för den allmänna bakteriegenen 16S rRNA följd av sekvensering



**Kristoffer Strålin**, docent, överläkare, patientområde infektionssjukdomar, tema inflammation och infektion  
● kristoffer.stralin@ki.se



**Måns Ullberg**, docent, överläkare



**Volkan Özenci**, docent, överläkare; de båda sistnämnda funktion Karolinska universitetssjukhuset, Stockholm

för identifiering av bakterieart kan många olika bakterier påvisas i normalt sterila vätskor och vävnader [1]. Denna metod används allt mer, men hittills saknas standardiserade metoder.

Några PCR-metoder för detektion av multipla bakterier i blod har blivit kommersiellt tillgängliga i Europa under det senaste decenniet, t ex SeptiFast (Roche) och MagicPlex (Seegene) [2]. Varierande resultat i utvärderingar och brist på effektstudier har dock gjort att användningen av dessa metoder blivit mycket begränsad.

**PCR/ESI-MS jämförs med odling**  
PCR/ESI-MS (PCR/elektrosprejjoniserings-masspektrometri) är en teknik där ett flertal PCR-analyser mot olika bakteriegen utförs samtidigt, varpå avancerad mätning av detekterat DNA görs [3]. Företaget Abbott-Ibis, som utvecklat denna teknik, kommersialiserade PCR/ESI-MS-systemet IRIDICA i Europa år 2014.

Metoden IRIDICA BAC kunde med en analysstid på 7-8 timmar i blodprov, steril vätska/vävnad och nedre luftvägssekret detektera >780 olika bakteriearter, ett flertal olika Candida-arter och markörerna för antibiotikaresistens mecA, vanA, vanB och blaKPC. Dessutom kunde metoden detektera fler än 5 olika bakteriearter samtidigt.

Metoden jämfördes med odling i en prospektiv observationsstudie av patienter med misstänkta infektioner vid nio europeiska intensivvårdsavdelningar [4]. Bland 616 tagna blodprov visade PCR/ESI-MS positivt fynd hos 37 procent, medan blododling var positiv hos 11 procent. Av 185 nedre luftvägsprov visade PCR/ESI-MS positivt fynd hos 63 procent, medan odling var positiv hos 44 procent. Slutligen: av 110 sterila vätskor/vävnadsprov visade PCR/ESI-MS positivt fynd hos 71 procent, medan odling var positiv hos 48 procent.

Någon värdering av betydelsen av positivt resultat med PCR/ESI-MS hos odlingsnegativa patienter gjordes inte. En subgruppsanalys visade dock att 28-dagarsmortaliteten var högre hos patienter med positiv än med negativ PCR/ESI-MS på blod (42 procent jämfört med 26 procent; P = 0,001). Samtidigt skilde den sig inte alls mellan patienter med positiv och negativ blododling [5].

### Fler bakterier hittas – ofta relevanta fynd

I nästan alla publicerade studier detekterade PCR/ESI-MS med IRIDICA-systemet fler bakterier än bakterieodling [4, 6-9]. En viktig fråga blev hur relevanta mikroorganismerna var som detekterades med PCR/ESI-MS i odlingsnegativa prov.

En spansk forskargrupp testade PCR/ESI-MS på blod i två olika studier och fann 80 respektive 84 mikroorganismer som inte påvisades i odling [6, 7]. Gruppen rap-

»I nästan alla publicerade studier detekterade PCR/ESI-MS med IRIDICA-systemet fler bakterier än bakterieodling ...«

porterade att den kliniska bilden i 41/80 fall (51 procent) respektive 42/84 fall (50 procent) stämde med de fynd som gjorts med PCR/ESI-MS.

Vår grupp testade PCR/ESI-MS på bronkoalveolärt lavage (BAL) från intuberade patienter med pneumoni [8]. Hos 8/10 patienter med positiv PCR/ESI-MS och negativ BAL-odling kunde de detekterade mikroorganismerna påvisas med andra mikrobiologiska metoder. Dessa resultat indikerade att metoden PCR/ESI-MS detekterade fynd som ofta var relevanta.

Vår grupp visade också att PCR/ESI-MS på BAL ofta samtidigt detekterade flera olika mikroorganismer, vilka i flertalet

### HUVUDBUDSKAP

- Genom att utnyttja tekniken PCR/elektrosprejjoniserings-masspektrometri detekterade metoden IRIDICA ett brett spektrum av bakterier.
- Metoden blev en uppskattad rutinmetod vid Karolinska universitetssjukhuset i Stockholm.
- I april 2017, under pågående bedömning för godkännande av amerikanska läkemedelsmyndigheten Food and Drug Administration (FDA), lades metoden ned av tillverkaren.
- Händelseförloppet visar på behovet av ekonomiska incitament för implementering av avancerade mikrobiologiska test. Möjligen behövs en icke-vinstdrivande utveckling av test som är viktiga för vården och/eller samhället.

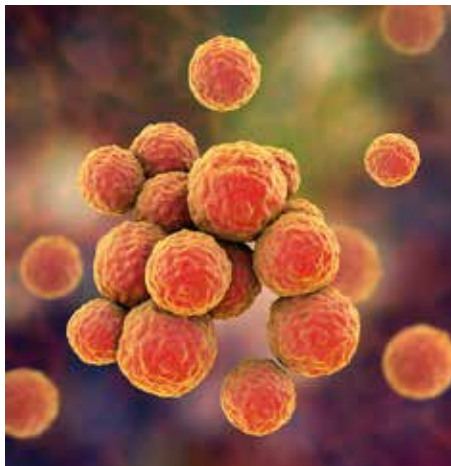


Foto: Shutterstock/IBL

Inom infektionsområdet efterfrågas nu nya diagnostiska metoder som kan förbättra utfallet vid bland annat sepsis. (Bilden visar *Staphylococcus aureus*, som är en vanlig patogen vid sepsis.)

fall också kunde påvisas med odlings- och PCR-baserade metoder [9].

## Introducerades som rutin hösten 2015

Baserat på våra egna förstudier [8-10] introducerade vi PCR/ESI-MS (IRIDICA) som rutinmetod på Karolinska universitetssjukhuset i Stockholm hösten 2015. Fram till april 2017 analyserade vi med metoden >1500 rutinprov, varav drygt hälften utgjordes av sterila vätskor/vävnader.

Vi har under 2017 publicerat resultaten av PCR/ESI-MS-analyserna på dessa rutinprov [11]. I knappt hälften av de analyserade proven påvisades mikroorganismer som till största delen utgjordes av vanliga grampositiva och gramnegativa bakterier samt *Candida*-arter. Metoden fann också atypiska bakterier (t ex *Legionella pneumophila* och *Mycoplasma pneumoniae*), mykobakterier och spiroketer (t ex *Borrelia*-arter).

På Karolinska universitetssjukhuset uppfattades metoden som ett värdefullt verktyg inom infektionsdiagnostiken, eftersom den tillförde användbar information som inte erhöles via gängse rutindagnostik, inte minst vid mjukdelinfektioner, ortopediska infektioner och nedre luftvägsinfektioner. Positiva resultat möjliggjorde bruk av riktad antibiotikabehandling, medan negativa resultat var till stöd för att sätta ut onödig antibiotikabehandling.

## FDA-ansökan drogs plötsligt tillbaka

Från december 2014 till mars 2016 genomförde Abbott-Ibis en multicenterstudie av IRIDICA BAC på blod, där 1501 patienter från 16 olika centrum inkluderades. Vår

grupp deltog i studien genom inklusion av intensivvårdspatienter med misstänkt sepsis och genom IRIDICA-analys av prov från tre europeiska centrum.

Studien utgjorde basen i Abbott-Ibis ansökan till FDA om godkännande för metoden IRIDICA BAC. Ansökan skickades in under 2016, men i april 2017 drog företaget tillbaka sin FDA-ansökan och upphörde omedelbart med att tillverka IRIDICA-instrument och IRIDICA-reagenser [11]. Därmed avbröts möjligheterna till användning av en metod som, enligt vår mening, var kliniskt värdefull och som hade positiv inverkan på antibiotikabruket, utan att någon ersättande metod fanns tillgänglig.

Utöver förlusten av tekniken PCR/ESI-MS är det möjligt att nedläggningen av IRIDICA får som följd att andra företag bromsar in eller stoppar sin utveckling av avancerade tekniker inom mikrobiologisk diagnostik.

## Troligen ekonomiska och logistiska skäl

Så vad berodde nedläggningen av IRIDICA på? Enligt vår kännedom berodde den inte på problem med diagnostiska prestanda hos metoden, utan snarare på ekonomiska och logistiska faktorer. Trots att metoden hade varit kommersiellt tillgänglig i Europa i mer än 2 år, var det endast tre sjukhus (inklusive Karolinska universitetssjukhuset) som hade infört IRIDICA som rutinmetod.

Sannolika orsaker till detta var avsaknad av studier som visade kliniska vinster med metoden samt praktiska aspekter som utrymmesbehov (30 m<sup>2</sup> fördelat på två rum), hög instrumentkostnad (ca 3 miljoner svenska kronor), hög reagenskostnad (ca 1800 kronor per prov), behov av heltidspersonal för systemdrift samt begränsad kapacitet (5 patientprov per analysomgång, maximalt 15 prov per 24 timmar). Även den utdragna och kostsamma FDA-processen kan ha bidragit till IRIDICA:s nedläggning.

## Icke-vinstdrivande utveckling kan behövas

I dagens pressade hälso- och sjukvårds ekonomi är det rimligt att väga kostnaden för användning av ny teknik mot nyttan för den enskilda patienten och för kollektivet av patienter. Inom infektionsfältet efterfrågas bl a nya diagnostiska metoder som kan förbättra utfallet vid sepsis [12] (för den enskilda patienten) och minska problemen med antibiotikaresistens (för kollektivet av patienter).

Dokumentationen omkring PCR/ESI-MS och IRIDICA [11] visade att tekniken hade god potential att vara till sådan nytta för den enskilda patienten och för kollektivet, vilket enligt vår mening berättigade mer kostnaden för metoden.

Dock tog det tid att genom studier få fram denna dokumentation, och många sjukhus väntade på dokumentationen före beslut om eventuell implementering. Denna för företaget utdragna process med uteblivna ekonomiska intäkter och höga kostnader för studier bidrog sannolikt till företagets beslut att lägga ned metoden.

Detta fall visar på behovet av ekonomiska incitament för att nå implementering av nya avancerade mikrobiologiska metoder. Om företag på liknande sätt framöver får svårt att utveckla och implementera mikrobiologiska test som fyller viktiga funktioner för vården och/eller samhället, behöver kanske initiativ tas för en icke-vinstdrivande utveckling av sådana test. Paralleller kan dras till de initiativ som tagits för icke-vinstdrivande antibiotikautveckling. ○

● Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

● Abbott-Ibis finansierade FDA-studien. Abbott-Ibis stod för instrument, testkit och reagenser i författarnas studier på bronkoalveolärt lavage och sterila vätskor/vävnader. Abbott-Ibis tillhandahöll också testkit till studier på blod relaterade till FDA-studien.

Citera som: *Läkartidningen*. 2018;115:EWVI

## REFERENSER

1. Woo PC, Lau SK, Teng JL, et al. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(10):908-34.
2. Opota O, Jaton K, Greub G. Microbial diagnosis of bloodstream infection: towards molecular diagnosis directly from blood. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(4):323-31.
3. Ecker DJ, Sampath R, Massire C, et al. Ibis T5000: a universal biosensor approach for microbiology. *Nat Rev Microbiol.* 2008;6(7):553-8.
4. Vincent JL, Brealey D, Libert N, et al; Rapid Diagnosis of Infections in the Critically Ill Team. Rapid Diagnosis of Infection in the Critically Ill, a multicenter study of molecular detection in bloodstream infections, pneumonia, and sterile site infections. *Crit Care Med.* 2015;43(11):2283-91.
5. O'Dwyer MJ, Starczewska MH, Schrenzel J, et al. The detection of microbial DNA but not cultured bacteria is associated with increased mortality in patients with suspected sepsis - a prospective multi-centre European observational study. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23(3):208.e1-6.
6. Jordana-Lluch E, Giménez M, Quesada MD, et al. Evaluation of the broad-range PCR/ESI-MS technology in blood specimens for the molecular diagnosis of bloodstream infections. *PLoS One.* 2015;10(10):e0140865.
7. Jordana-Lluch E, Rivaya B, Marcó C, et al. Molecular diagnosis of bloodstream infections in onco-haematology patients with PCR/ESI-MS technology. *J Infect.* 2017;74(2):187-94.
8. Strålin K, Ehn F, Giske CG, et al. The IRIDICA PCR/electrospray ionization-mass spectrometry assay on bronchoalveolar lavage for bacterial etiology in mechanically ventilated patients with suspected pneumonia. *PLoS One.* 2016;11(7):e0159694.
9. Ullberg M, Luthje P, Mölling P, et al. Broad-range detection of microorganisms directly from bronchoalveolar lavage specimens by PCR/electrospray ionization-mass spectrometry. *PLoS One.* 2017;12(1):e0170033.
10. Ullberg M, Vondracek M, Giske CG, et al. Comparison of PCR/electrospray ionization mass spectrometry and 16S rRNA gene sequencing for identification of microorganisms from clinical sterile body fluid specimens [abstract]. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Wien, 22-25 apr 2017.
11. Özenci V, Patel R, Ullberg M, et al. Demise of PCR/electrospray ionization mass spectrometry as an infectious diseases diagnostic tool. *Clin Infect Dis.* Epub 21 aug 2017. doi: 10.1093/cid/cix743.
12. Reinhart K, Daniels R, Kisson N, et al. Recognizing sepsis as a global health priority - a WHO resolution. *N Engl J Med.* 2017;377(5):414-7.