

Effektiv og rimelig påvisning av MRSA og *Clostridioides difficile*-sporer fra hygiene-stoler ved hjelp av kontaktagar

Kontaktagarmetoden har god sensitivitet og er enkel å utføre. Det kan føre til at det blir tatt flere prøver, noe som vil styrke smittevernet.

Av Bjarne Hjeltnes
Bioingeniør, MSc¹

Colin Charnock
PhD¹

André Ingebretsen
MSc^{2,4}

Jörn Klein J,
PhD³

Hege S. Tunsjø
Bioingeniør, PhD¹.
E-post: hetu@oslomet.no

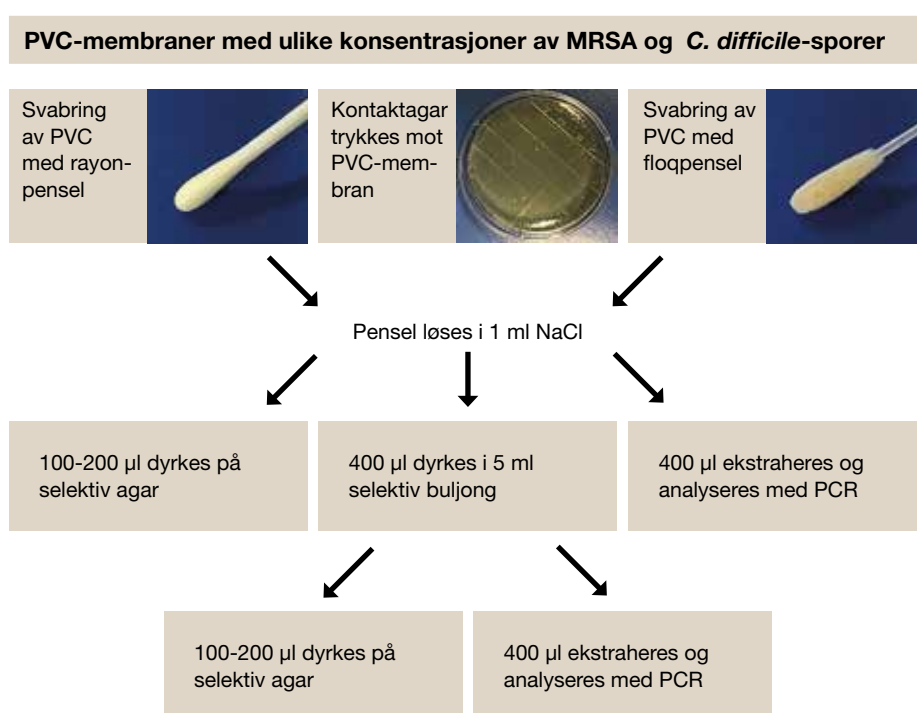
Sykehjemsbeboere er særlig mottagelige for infeksjoner på grunn av høy alder, hyppige sykehusopphold og gjentakende antibiotikabehandlinger. Forekomst av resistente mikrober i sykehjem er ikke uvanlig, og overføring av resistente mikrober mellom beboere og helsepersonell kan foregå på mange ulike måter. Kommuner tar i stadig større grad i bruk velferdsteknologi både i hjemmetjenestene og på sykehjem. Dette kan være mobile trykksalarmer, automatiske medisindispensere, avanserte stelletoler/hygienestoler og robotteknologi (1). Noen av produktene kommer i tett kontakt med flere pasienter og kan

1. Institutt for naturvitenskapelige helsefag, OsloMet – storbyuniversitetet.

2. Avdeling for Mikrobiologi, Oslo universitetssykehus.

3. Institutt for sykepleie- og helsevitenskap, Universitetet i Sørøst-Norge.

4. Avdeling for smittevern, Oslo universitetssykehus.



FIGUR 1: Oversikt over ulike prøvetakings- og analysemetoder som er sammenliknet i studien. Selektiv agar og buljong for MRSA var henholdsvis CHROMagar™ MRSA (CHROMagar, Paris, Frankrike) og polyhexamethylene biguanide hydrochloride (PHMB)-buljong ((3), modifisert fra (4)). Selektiv agar og buljong for *C. difficile* var henholdsvis Braziers *C. difficile* selective agar (Oxoid Ltd, Hampshire, UK) og CCFT-buljong (5). MRSA PCR ble utført med Xpert SA nasal complete assay (Cepheid, Sunnyvale, CA) og in-house PCR (3). *C. difficile*-sporer ble mekanisk lysert ved bruk av keramiske kuler (Lysing Matrix E, MP Biomedicals, California, USA) og risting ved 6 m/s i 45 s i PowerLyser24 (Qiagen, Hilden, Tyskland). DNA ble ekstrahert med PureLink® Genomic DNA extraction kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) før *C. difficile* PCR (6).

utgjøre en kilde for smitte. Risikoen for overføring av mikrober og resistensgener gjennom slike produkter er lite kjent.

Hvilke metoder som egner seg best til å ta prøver fra de velferdsteknologiske hjelpemidlene er i liten grad undersøkt, og litteraturen er ikke entydig. For å eta-

blere en god nok overvåking av overflatekontaminasjon, er det viktig med rutiner som gir pålitelige svar og som er enkle å gjennomføre. Denne studien har undersøkt ulike prøvetakingsmetoder fra polyvinylmembraner (PVC), som ofte utgjør overflaten på hygienestoler, ➤

og flere påvisingsmetoder for to utvalgte bakterier som er assosiert med utbrudd i sykehjem; *Clostridioides difficile* og methicillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA). Analytisk sensitivitet, tidsbruk, pris og ressursbruk er faktorer som ble vurdert i studien. I tillegg ble det gjort en overvåking av hvor lenge mikroben kunne detekteres på PVC-overflatene.

Metode

C. difficile (CCUG 54206) ble dyrket på Braziers *C. difficile* selective agar (Oxoid Ltd, Hampshire, England) i 10 dager for å fremme sporulering. En oppslemming av bakteriene i 0,9% NaCl ble så varmet opp til 70°C i 20 minutter for å lysere levende celler slik at kun sporer var igjen i løsningen. En 10-folds fortynningsrekke ble laget og 100 µl (i seks replikater) av hver av åtte fortyninger ble spredt utover på hvert sitt stykke (5 x 5 cm) av PVC-membran fra Carino/Carendo Hygienestoler tilsendt fra produsent (ArjoHuntleigh, Stockholm, Sverige). En fortyningsserie ble også laget av MRSA (CCUG 25922) og applisert på PVC-membraner som beskrevet. Det ble benyttet ulike protokoller for prøvetaking fra PVC-membranene og ulike metoder for påvisning av de to ulike mikroben (figur 1). For å undersøke hvor lenge mikroben kunne detekteres på tørre overflater ble ulike inokulum sådd ut på PVC-membraner som ble oppbevart ved romtemperatur før de ble undersøkt med kontaktagarmetoden etter 7, 14, 21 og 28 dager. Alle forsøkene ble utført ved to tidspunkter.

Resultater og diskusjon

I denne studien hadde kontaktagarmetoden bedre eller tilsvarende sensitivitet som alle de andre metodene som ble undersøkt, også de molekylære metodene (tabell 1). Tid til svar med kontaktagar var to dager og dermed lenger enn ved direkte PCR-analyse. Ved miljøovervåking er tid til svar imidlertid ikke like kritisk som i en diagnostisk situasjon. Svabring med pensel etterfulgt av dyrkning på selektiv agar var den minst sensitive metoden. Selv om det ble sådd ut en mindre mengde på agar enn ved de andre metodene, kan ikke forskjellene kun forklares med dette. Det var ingen forskjell

TABELL 1: Sammenlikning av ulike metoder benyttet i studien

	Pensel + PCR	Pensel + dyrkning	Pensel, buljong, dyrkning	Pensel, buljong, PCR	Kontakt-agar
Pris per prøve MRSA (NOK)	600*/100**	25	30	100**	20
Tid til svar MRSA	2 t	2 d	3 d	2 d	2 d
Deteksjonsgrense MRSA	10 ³ cfu	10 ⁴ cfu	10 ³ cfu	10 ³ cfu	100 cfu
Pris per prøve <i>C. difficile</i> (NOK)	100**	25	30	100**	20
Tid til svar <i>C. difficile</i>	3 t	2 d	11 d	10 d	2 d
Deteksjonsgrense <i>C. difficile</i>	100 cfu	100 cfu	10 cfu	10 cfu	10 cfu

*Utført med Xpert SA nasal complete. **In house PCR. Alle priser er estimater og uten mva. NOK = norske kroner, t = timer, d = dager, cfu = kolonidannende enheter (colony forming units).

mellom bruk av rayon- eller floppensel, to materialer som har vist seg å ha ulik sensitivitet ved prøvetaking fra luftveier (2). Da materialet fra penselen ble oppformert i selektiv buljong, etterfulgt av dyrkning på agar eller PCR, økte sensitiviteten. For *C. difficile* ble sensitiviteten tilsvarende god som ved kontaktagarmetoden, men tid og ressurser benyttet var betydelig høyere (tabell 1). Våre resultater er i tråd med flere andre studier der ulike typer kontaktagarer kom best ut (7,8).

Etter fire uker var det fortsatt mulig å påvise både *C. difficile* og MRSA fra PVC-overflater med kontaktagarmetoden. MRSA krevde imidlertid svært stort inokulum for å overleve på PVC-overflatene (10⁵–10⁶ cfu/ml). *Clostridioides difficile*-sporer var mulig å påvise i fire uker fra et betydelig lavere inokulum (10³ cfu/ml). Resultatene kan skyldes at levende stafylokokkceller er mer følsomme for ytre faktorer enn *C. difficile*-sporer, som blant annet uttørking og mulig antibakteriell aktivitet fra PVC-membranen.

Undersøkelse av et stort nok antall prøver og overflater er avgjørende for god miljøovervåking. Hygienestoler og glatte overflater ser ut til å være spesielt godt egnet for å bruke kontaktagar. I tillegg til fortrinn i sensitivitet, er prisen for kontaktagarmetoden signifikant lavere enn for molekylære metoder. Undersøkelse med kontaktagar kan også utføres av personalet som jobber i sykehjemmene. God sensitivitet kombinert med effektive metoder og lave priser vil trolig føre til at det tas flere prøver og det vil totalt sett gi et bedre smittevern.

Takk

Takk til ArjoHuntleigh, for bidrag med PVC-membraner og Norsk Overvåking av Resistente Mikroorganismer (NORM) for finansiering av studien. ■

Referanser

- Nakrem S og Jóhannes S. Velferdsteknologi i praksis: perspektiver på teknologi i kommunal helse- og omsorgstjeneste. Oslo: Cappelen Damm akademisk; 2017.
- Warisa M, Osterbacka R, Lahtib E, Vuorinena T, Ruuskanen O, Peltola V. Comparison of sampling methods for the detection of human rhinovirus RNA. *J Clin Virol.* 2013;58:200–4.
- Tunnsjø HS, Follin-Arbelet B, Clausen NM, Ness Y, Leegaard TM, Bemanian V. A rapid, high-throughput screening method for carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *APMIS.* 2013;21(9):865–70.
- Wertheim H, Verbrugh HA, van Pelt C, de Man P, van Belkum A, Vos MC. Improved detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using phenyl mannitol broth containing aztreonam and ceftizoxime. *J Clin Microbiol.* 2001;39(7):2660–2.
- George WL, Sutter VL, Citron D, Finegold SM. Selective and differential medium for isolation of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol.* 1979;9(2):214–9.
- Mutters R, Nonnenmacher C, Susin C, Albrecht U, Kropatsch R, Schumacher S. Quantitative detection of *Clostridium difficile* in hospital environmental samples by real-time polymerase chain reaction. *J Hosp Infect.* 2009;71(1):43–8.
- Buggy BP, Wilson KH, Fekety R. Comparison of Methods for Recovery of *Clostridium difficile* from an Environmental Surface. *J Clin Microbiol.* 1983;18(2):348–52.
- Claro T, Daniels S, Humphreys H. Detecting *Clostridium difficile* Spores from Inanimate Surfaces of the Hospital Environment: Which Method Is Best? *J Clin Microbiol.* 2014;52(9):3426–8.