

Arabinitolkvot i urin ger tidig diagnostik av Candidainfektion



BERTIL CHRISTENSSON, docent,
överläkare, infektionskliniken
bertil.christensson@med.lu.se
LENNART LARSSON, docent,

universitetslektor,
kliniskt mikrobiologiska
laboratoriet; båda
Universitetssjukhuset i Lund

Incidensen av invasiv candidiasis har ökat dramatiskt på senare år i takt med att immunsupprimerade patienter blivit allt vanligare. Svampodlingsbaserade diagnostiska metoder har låg sensitivitet liksom detektion av Candidaspecifika antikroppar och antigener [1]. Man har hyst stora förhoppningar om att PCR-baserad diagnostik skulle väsentligt öka känsligheten och specificiteten, men dessa har hittills inte till fullo infriats [2].

D-arabinitol (DA) är en sockeralkohol som produceras in vitro och in vivo av de viktigaste humanpatogena Candida spp med undantag av Candida krusei. Endogent DA och L-arabinitol (LA) förekommer i samtliga kroppsvätskor och utsöndras i urinen genom glomerulär filtration, vilket leder till ca 60 gånger högre koncentration i urin än i serum. Vid njursvikt med sänkt glomerulär filtrationshastighet (GFR) stiger serumkoncentrationerna av DA och LA, varför man måste korrigera för njurfunktionsnedsättningen, exempelvis med en DA/serumkreatininkvot. Kvoten DA/LA förblir dock konstant även vid njursvikt i såväl serum som urin, och DA/LA-kvoten är normalt $2,0 \pm 0,6$ hos vuxna och något högre hos barn [3]. DA-koncentrationen kan mätas i kroppsvätskor med en enzymatisk metod, där man utnyttjar enzymet D-arabinitoldehydrogenas, och med gaskromatografi (GC) eller gaskromatografi och masspektrometri (GC-MS) kan såväl DA som LA påvisas.

Fördelar med arabinitoltest

Redan 1979 kunde Kiehn et al påvisa förhöjd DA-koncentration i serum hos 15 av 20 patienter med invasiv candidiasis [4]. Under början av 1990-talet kom flera observationsstudier [5-7] som bekräftade den höga känsligheten (83-94 procent) vid denna infektion, och 1995 publicerades en stor amerikansk prospektiv multicenterstudie av 274 vuxna neutropena cancerpatienter med invasiv candidiasis [8]. I denna studie användes den enzymatiska metoden med korrigering för serumkreatinin, och trots att serumkreatinin relativt dåligt speglar aktuell glomerulär filtrationshastighet var känsligheten 83 procent (25/30) hos dessa cancerpatienter med persisterande candidemi. Dessutom kunde man se en tydlig korrelation mellan behandlingseffekt och sjunkande DA/kreatininkvot liksom mellan mortalitet och kvarstående förhöjda DA/kreatininvärden. Var tredje patient hade dessutom förhöjda värden 1-10 dagar (median 2 dagar) innan första positiva blododling togs, och man tolkade detta som en effekt av den ökande Candidabördan i vävnaderna som kan tänkas föregå fungemin.

I vår prospektiva studie av 100 barn med cancer och neutropeni vid barnonkologiska avdelningen i Lund använde vi DA/LA-kvot i urin analyserad med GC-MS [9]. Samtliga tio barn med invasiv candidiasis hade förhöjda DA/LA-kvoter, som vi kunde påvisa så tidigt som 3-21 dagar (median 8 dagar) innan den första positiva blododlingen togs, men då bör man

dessutom addera de dagar det tar att odla fram Candida från blododlingsflaskan. Behandlande läkare hade inte tillgång till DA/LA-resultaten, och som väntat gavs - trots negativa blododlingar - även empirisk svampbehandling till många barn. Det visade sig att hälften av dessa barn också hade förhöjda DA/LA-kvoter två veckor (median) innan empirisk behandling påbörjades.

I en motsvarande prospektiv studie av vuxna cancerpatienter med neutropeni som utfördes i Brisbane, Australien [10], visade vi likartade resultat, men i Australien var, och är, Candida krusei en allt vanligare patogen Candidaart, och Candida krusei-fungemi gav som väntat inga förhöjda DA/LA-kvoter.

Prematura barn som vårdas på intensivvårdsavdelning tillhör en annan riskgrupp för invasiv candidiasis. Våra resultat från en prospektiv studie vid neonatala intensivvårdsavdelningen i Lund visade 100-procentig sensitivitet, normalisering av DA/LA-kvoten i urin vid lyckad svampbehandling och förhöjda värden hos mer än hälften av de barn som fick empirisk svampbehandling [11].

Regelbundna arabinitoltest minskar morbiditet och mortalitet

När man gör kontrollerade, prospektiva, ofta blindade studier av läkemedel, annan medicinsk behandling eller av ny diagnostik är oftast alla förhållanden optimala vad gäller exempelvis engagemang från sjukvårdspersonal, dokumentation, provtagning, registrering av effekt och biverkningar och ekonomiska resurser. Alla vet att det finns en tendens att i första hand publicera positiva resultat, och det är också tyvärr alltför sällan som man efter publicering av en ny medicinsk landvinning följer upp med studier av vad som händer när de vetenskapliga resultaten ska omsättas i praktiskt kliniskt arbete.

Vi valde därför att retrospektivt studera effekterna på incidensen av och mortaliteten i invasiv candidiasis vid barnonkologiska respektive neonatala intensivvårdsavdelningen i Lund direkt efter att de prospektiva studierna var avslutade och resultaten analyserade [12]. Analys av DA/LA-kvot i urin infördes som rutinanalys vid mikrobiologiska laboratoriet i Lund direkt efter att barnonkologistudien var avslutad, och man valde vid barnonkologen att fortsätta med ambitionen att regelbundet monitorera alla riskbarn och att använda positiva DA/LA-kvoter som incitament för tidigt insättande av svampbehandling oavsett förekomst av positiva blododlingar.

På neonatalavdelningen, där incidensen är klart lägre, och

■ SAMMANFATTAT

D-arabinitol (DA) bildas in vivo av Candida spp (ej Candida krusei).

Kvoten av D-arabinitol och L-arabinitol (LA) i urin har högre sensitivitet än blododling vid invasiv candidiasis hos neutropena cancerpatienter och prematura barn.

DA/LA-kvoten i urin är positiv dagar/veckor innan blododling blir positiv hos dessa riskgrupper.

Regelbunden monitorering av riskgrupper kan minska incidensen och mortaliteten av invasiv candidiasis.

där de prematura barnen ofta insjuknar redan under de första levnadsveckorna, ansåg man det inte självklart med regelbunden DA/LA-monitorering på alla riskbarn utan använde analysen mer som ett komplement till övrig diagnostik. Den prospektiva barnonkologstudien pågick under 3,5 år, och under den följande 3,5-årsperioden, där patientklientelet och alla övriga medicinska förhållanden förblev oförändrade, sjönk incidensen av invasiv candidiasis signifikant. Även mortaliteten i invasiv candidiasis minskade från 50 procent till 0, men för små numeriska värden medgav ingen rimlig statistisk analys.

På neonatala intensivvårdsavdelningen var emellertid incidensen av och mortaliteten i invasiv candidiasis oförändrad under uppföljningsperioden. Dessa resultat stärker vår övertygelse att man med regelbundna DA/LA-analyser av riskpatienter i det vardagliga kliniska arbetet kan minska såväl morbiditet som mortalitet.

Arabinoltestets nackdelar

Finns det då ingen »baksida« med arabinoltestet? Jo, både egna opublicerade data och andra studier [13] visar på betydligt lägre sensitivitet hos icke-neutropena patienter med systemisk Candidainfektion med eller utan candidemi. Dessa patienter kan ha en CVK (central venkateter) -relaterad candidemi eller t ex vårdas postoperativt på intensivvårdsavdelning, med åtföljande långvarig bredspektrumantibiotikabehandling och multipla dräneringar och ha ett flertal positiva svampodlingar från olika lokaler. Patienter med mukokutan candidiasis, exempelvis HIV-positiva patienter med oral candidiasis eller candida-oesofagit, har normal DA/LA-kvot [10], och hos patienter med kronisk »hepatosplenisk« candidiasis, som kan vara en komplikation till långvarig neutropeni men med negativa blododlingar, har arabinolanalysen en sensitivitet på endast ca 50 procent [8]. Det är också viktigt att påpeka att man, kanske något överraskande, finner normala DA/LA-kvoter i urin även hos patienter med Candidakolonisation/-infektion i urinvägarna. Det ska också påpekas att inga andra humanpatogena svamparter, t ex aspergillus eller zygomyceter, bildar DA vare sig in vivo eller in vitro.

Successiv svamptillväxt i flera organ trolig förklaring

Hur kan man förklara att DA/LA-kvoten hos neutropena cancerpatienter stiger flera dagar till veckor innan man, trots ofta dagliga blododlingar, lyckas få växt av Candida i blododling? Vi tror att en successiv tillväxt sker i flera parenkymatösa organ vid en disseminerad infektion, vilket ger en ökande svampbörda med åtföljande successivt ökande DA-produktion. Först ef-

ter denna fas får man en fungemi, som kan påvisas med blododling. Detta skulle också förklara svårigheterna att få en Candida-DNA-baserad PCR-metod på blod att fungera, eftersom det i många fall av disseminerad infektion helt enkelt inte finns några Candidaorganismer i blodbanan. Vid kronisk hepatosplenisk candidiasis är å andra sidan tillväxten långsam, där till och med odling från lever eller mjälte ofta är negativ. Vid t ex en CVK-orsakad fungemi hos en intensivvårdspatient är blododling sannolikt den bästa metoden, medan den ganska begränsade utbredningen av candidainfektionen ofta inte är tillräcklig för att ge ett förhöjt DA/LA-värde.

Falskt positiva resultat kan förekomma

Falskt positiva DA/LA-kvoter kan förekomma. Eftersom dietärt DA resorberas i mag-tarmkanalen har vi visat [opubl data] att vid intag av fermenterade livsmedel (kinesisk soja) eller dryck (en flaska rödvin) blir DA/LA-kvoten förhöjd, om än snabbt övergående. Vi tror dock inte att detta ska störa diagnostiken av de definierade riskgrupperna, men det är viktigt att inte använda DA/LA-analysen okritiskt, t ex som ett led i en ospecifik feberutredning eller som screeningtest på förekomst av »sjukdom«, eftersom avsaknad av nära 100-procentig specificitet skulle leda till alltför låga positiva prediktiva värden i sådana populationer. DA/LA-kvoten i urin (och vid behov i serum) analyseras i dag med GC-MS-teknik vid mikrobiologiska laboratoriet i Lund. Urinen kan med fördel droppas på en bit filterpapper (ca 20 droppar är tillräckligt), som efter lufttorkning kan skickas per post. Provet analyseras alla vardagar till en kostnad av ca 400 kronor per prov. Resultatet kan alltså erhållas per telefon, i regel inom 24 timmar från provtagningstillfället.

Konklusion

Sammanfattningsvis anser vi att man i Sverige (där Candida krusei ännu är en ovanlig patogen) regelbundet bör analysera DA/LA-kvoten i urin 2-3 gånger per vecka på neutropena barn och vuxna med cancer och prematura riskbarn. Ett lätt förhöjt värde kan behöva bekräftas med ett nytt prov. Bortsett från resultat av sedvanliga blododlingar bör en förhöjd DA/LA-kvot leda till insättning av systemisk svampbehandling. Det finns också fog för att avvakta med insättning av empirisk svampbehandling vid normala DA/LA-värden om inte andra data starkt talar för systemisk candidiasis eller annan, ej Candidarelaterad svampinfektion. Mycket talar också för att man kan följa behandlingseffekten vid invasiv candidiasis med DA/LA-analys.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

REFERENSER

- Ellepola AN, Morrison CJ. Laboratory diagnosis of invasive candidiasis. *J Microbiol.* 2005;43:65-84.
- Metwally L, Fairley DJ, Coyle PV, Hay RJ, Hedderwick S, McCloskey B, et al. Improving molecular detection of Candida DNA in whole blood: comparison of seven fungal DNA extraction protocols using real-time PCR. *J Med Microbiol.* 2008;57:296-303.
- Stradomska T, Mielniczuk Z. Gas chromatographic determination of D-/L-arabinol ratio in healthy Polish children. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2002; 773:175-81.
- Kiehn TE, Bernard EM, Gold JW, Armstrong D. Candidiasis: detection by gas-liquid chromatography of D-arabinol, a fungal metabolite, in human serum. *Science.* 1979;206:577-80.
- Roboz J, Nieves E, Holland JF. Separation and quantification by gas chromatography-mass spectrometry of arabinol enantiomers to aid the differential diagnosis of disseminated candidiasis. *J Chromatogr.* 1990;500:413-26.
- Roboz J, Katz RN. Diagnosis of disseminated candidiasis based on serum D-/L-arabinol ratios using negative chemical ionization mass spectrometry. *J Chromatogr.* 1992; 575:281-6.
- Lehtonen L, Anttila VJ, Ruutu T, Salonen J, Nikoskelainen J, Eerola E, et al. Diagnosis of disseminated candidiasis by measurement of urine D-arabinol/L-arabinol ratio. *J Clin Microbiol.* 1996;34:2175-9.
- Walsh TJ, Merz WG, Lee JW, Schaufele R, Sein T, Whitcomb PO, et al. Diagnosis and therapeutic monitoring of invasive candidiasis by rapid enzymatic detection of serum D-arabinol. *Am J Med.* 1995;99:164-72.
- Christensson B, Wiebe T, Pehrson C, Larsson L. Diagnosis of invasive candidiasis in neutropenic children with cancer by determination of D-arabinol/L-arabinol ratios in urine. *J Clin Microbiol.* 1997;35: 636-40.
- Eisen DP, Bartley PB, Hope W, Sigmundsdottir G, Pehrson C, Larsson L, et al. Non albicans candidemia reduces the utility of urine D-arabinol/L-arabinol ratio in diagnosing Candida infection in cancer patients while oesophageal candidiasis in HIV patients does not lead to increased ratios. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2002;42:39-42.
- Sigmundsdottir G, Christensson B, Björklund LJ, Håkansson K, Pehrson C, Larsson L. Urine D-arabinol/L-arabinol ratio in diagnosis of invasive candidiasis in newborn infants. *J Clin Microbiol.* 2000; 38:3039-42.
- Sigmundsdottir G, Larsson L, Wiebe T, Björklund LJ, Christensson B. Clinical experience of urine D-arabinol/L-arabinol ratio in the early diagnosis of invasive candidiasis in pediatric high risk populations. *Scand J Infect Dis.* 2007;39:146-51.
- Lehtonen L, Rantala A, Oksman P, Eerola E, Lehtonen OP. Determination of serum arabinol levels by mass spectrometry in patients with postoperative candidiasis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1993;12:330-5.