

RAPPORT

2021

STRATEGIMØTE 2019

Mikrobiologisk diagnostikk ved virale CNS-infeksjoner

Program • Oppsummering • Abstrakter

Redaktører:

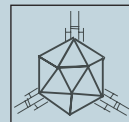
Garth Tylden, Universitetssykehuset Nord Norge

Andreas Christensen, St. Olavs Hospital

Andreas Lind, Oslo universitetssykehus, Ullevål

Anita Kanestrøm, Sykehuset Østfold Kalnes

Referansegruppen for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi



Referansegruppe for ekstern
kvalitetssikring i virologi og serologi

Utgitt av Folkehelseinstituttet
Område for smittevern, miljø og helse
September 2021

Tittel:

Strategimøte oktober 2019
Mikrobiologisk diagnostikk ved virale CNS-infeksjoner

Forfattere:

Andreas Christensen, Andreas Lind, Anita Kanestrøm, Garth Tylden

Oppdragsgiver:

Referansegruppen for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi

Publikasjonstype:

Strategirapport virologi og serologi

Bestilling:

Rapporten kan lastes ned som pdf
på Folkehelseinstituttets nettsider: www.fhi.no

Grafisk designmal:

Per Kristian Svendsen og Grete Sømmer

Grafisk design omslag:

Fete Typer

ISBN elektronisk utgave:

978-82-8406-187-0

Sitering: Christensen A, Lind A, Kanestrøm A, Tylden G. Strategimøte 2019: Mikrobiologisk diagnostikk ved virale CNS-infeksjoner, Folkehelseinstituttet med flere. Rapport september 2021. Tilgjengelig på fhi.no

Programmet ble satt sammen av en programkomite bestående av Andreas Christensen, Andreas Lind, Anita Kanestrøm og Garth Tylden som var leder for komiteen.

Møteledere var Anita Kanestrøm (del I), Andreas Christensen (del II) og Garth Tylden (del III).

Programkomiteens medlemmer og møtelederne har samarbeidet ved utarbeidelsen av rapporten.

Rapporten inneholder et uttrekk av generelle anbefalinger om prøvebehandling etterfulgt av

sammendrag av presentasjoner og anbefalinger slik det kom frem på møtet.

Oslo, september 2021.

Innhold

Innhold	4
Forkortelser	6
Innledning	7
Program	8
GENERELLE ANBEFALINGER OM PRØVEHÅNTERING	9
Forslag til rutiner for prøvetaking og lagring av prøver ved CNS-infeksjoner	9
Prioritering av diagnostikk ved CNS-infeksjoner	10
Prioritering ved for lite spinalvæske	12
Forebygging av kontaminering ved PCR-diagnostikk av CNS-infeksjoner	14
OPPSUMMERING AV ABSTRAKTER OG ANBEFALINGER	15
Virale CNS-infeksjoner	15
Virale CNS-infeksjoner hos barn	15
Uoppklart encefalitt/meningitt og ikke-infeksiøse tilstander	16
Herpes simplex virus og varicella-zoster-virus	16
Virale CNS-infeksjoner hos immunosupprimerte	17
Enterovirus	18
Cytomegalovirus	19
Epstein-Barr-virus	20
Humant herpesvirus-6	20
Humant immunsviktivirus	21
JC polyomavirus	22
Intratekal antistoffproduksjon	23
Syndrombasert hurtig-PCR ved CNS-diagnostikk	24
Black box i CNS-diagnostikk	25
Spørreundersøkelse	26
ABSTRAKTER	27
Virale CNS-infeksjoner	27
Herpes simplex virus (HSV) og varicella-zoster virus (VZV)	31
Virale CNS-infeksjoner hos immunosupprimerte	36
Virale CNS-infeksjoner hos barn	38
Uoppklart encefalitt og meningitt - uvanlige agens, ikke -infeksiøse tilstander	40
Enterovirusdiagnostikk ved CNS-infeksjoner	42
Syndrombasert hurtig-PCR ved CNS-infeksjoner	45
Intratekal antistoffproduksjon	50
Cytomegalovirus	56

Epstein-Barr-virus	59
Humant herpesvirus 6	61
HIV i CNS	64
JC Polyomavirus og progressiv multifokal leukoencefalopati	66
Black-box i CNS-diagnostikk	71
Vedlegg 1: Spørreundersøkelse CNS-infeksjonsdiagnostikk	73
Vedlegg 2: FilmArray-Spv vurderingsskjema	78

Forkortelser

ADEM	Akutt disseminert encefalomyelitt
aids	Ervervet immunsvikt
CMV	Cytomegalovirus
CNS	Sentralnervesystemet
EBV	Epstein-Barr-virus
HAD	hiv-assosiert demens
HAND	hiv-assosiert nevrokognitiv sykdom
HHV-6	Humant herpesvirus-6
hiv	Humant immunsvikt virus
HSV	Herpes simplex virus
JCPyV	JC polyomavirus
PCR	Polymerasekjedereaksjon
PML	Progressiv multifokal leukoencefalopati
NGS	Neste-generasjons sekvensering
RT-PCR	Revers transkriptase PCR
SCID	Alvorlig kombinert immunsvikt
VZV	Varicella-zoster-virus

Innledning

Garth Tylden, Avdeling for mikrobiologi og smittevern, Universitetssykehuset Nord-Norge

garth.tylden@unn.no

I regi av Referansegruppen for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi, ble det den 31.10.2019 holdt strategimøte med temaet «Mikrobiologisk diagnostikk ved virale CNS-infeksjoner» på Gjestehuset, Lovisenberg sykehus i Oslo. Årets strategimøte var en oppdatering av et tidligere strategimøte fra 2002 med samme tittel. Nylig omtalte infeksjoner ble utelatt pga. tidshensyn, deriblant nevroborreliose (strategimøte 2011), Zikavirusindusert mikrokefali, medfødt CMV- og parechovirusencefalitt (strategimøte 2018), samt vestnilvirus, eastern equine og western equine encefalittvirusinfeksjon, samt skogflåttencefalitt (strategimøte 2015).

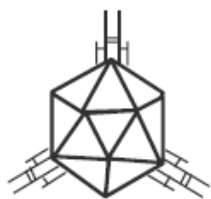
Virale CNS-infeksjoner omfatter mange ulike kliniske syndromer. Forløpet kan variere fra akutt fulminant og fatalt, til kronisk progressivt, og videre til forbigående og godartet. Det blir stadig klarere at etiologien er meget variert og påvirkes av alder, eksponering, geografisk lokalisasjon, immunstatus og vaksinasjonsstatus. Agens som ikke infiserer CNS direkte kan utløse autoimmune reaksjoner som gir sykdomsbilder som minner om CNS-infeksjon. Representativt prøvemateriale er vanskelig tilgjengelig. Nukleinsyrer fra agens i hjerneparenkymet vil ikke alltid kunne detekteres i spinalvæsken, selv med sensitiv PCR-metodikk. Påvisning av intratekal antistoffproduksjon vil derfor være eneste metode som kan gi en etiologisk diagnose i en del tilfeller.

Oppklaringsprosenten ved CNS-infeksjoner er lav. Forsinket diagnosestilling forverrer ofte prognosen og uopklarte tilfeller etterlater hull i den epidemiologiske kunnskapen. Det er derfor behov for en diagnostisk algoritme for å sikre rask diagnose av CNS-infeksjoner som kan behandles og samtidig øke andel opklarte infeksjoner.

CNS-infeksjoner er sjeldne og kan forårsakes av agens som forekommer hyppig i prøver fra andre lokalisasjoner. Lav insidens og samtidig fare for forurensning reduserer positiv prediktiv verdi. Det er derfor spesielt viktig å ha gode rutiner for å forhindre og avsløre forurensning.

Klinisk irrelevante analyser har definisjonsmessig lav pretest sannsynlighet og overforbruk av PCR-tester kan redusere den positive prediktive verdien av diagnostikken ytterligere. Analyse av store paneler med ulike CNS-agens medfører at noen klinisk irrelevante analyser utføres ved hvert oppsett. Bruk av syndrombasert diagnostikk bør derfor styres strengt. Ved anskaffelse bør produsenter oppfordres til å gi tilgang til mest mulig informasjon om amplifikasjons- og deteksjonsprinsipper, primer-/probesekvenser og planer for analyseovervåkning og oppdatering. Fleksible løsninger bør velges foran store rigide paneler.

Program



Referansegruppe for ekstern kvalitetssikring i virologi og serologi inviterer landets mikrobiologiske laboratorier til strategimøte om

Mikrobiologisk diagnostikk ved virale CNS-infeksjoner

Møtedato:
31.10.2019

Møtested:
Gjestehuset, Lovisenberg sykehus, Oslo

Tidspunkt	Tid	Tittel	Foredragsholder
09.45 - 10.00	15 min	Frukt og kaffe	
10.00 - 10.05	5 min	Velkommen Innledning ved leder for referansegruppen	Gro Njølstad
		Møteleder Del I: Anita Kanestrøm	
10.05 - 10.25	20 min	Virale CNS-infeksjoner	Else Quist-Paulsen
10.25 - 10.40	15 min	HSV og VZV	Veselka Dimova
10.40 - 11.00	20 min	Virale CNS-infeksjoner hos immunsupprimerte	Ingvild Nordøy
11.00 - 11.10	10 min	Diskusjon og oppsummering	
11.10 - 11.25	15 min	Kaffepause	
11.25 - 11.45	20 min	Virale CNS-infeksjoner hos barn	Claus Klingenberg
11.45 - 11.55	10 min	Uoppklart encefalitt og meningitt - uvanlige agens, ikke-infeksiøse tilstander	Claus Klingenberg
11.55 - 12.05	10 min	Enterovirus	Susanne Dudman
12.05 - 12.20	15 min	Syndrombasert hurtig-PCR	Andreas Lind
12.20 - 12.30	10 min	Diskusjon og oppsummering	
12.30 - 13.20	50 min	Lunsj	
		Møteleder Del II: Andreas Christensen	
13.20 - 13.35	15 min	Antistoffanalyser i spinalvæske og serum	Gro Njølstad
13.35 - 13.55	20 min	CMV/EBV/HHV-6	Grete Birkeland Kro
13.55 - 14.05	10 min	Humant immunsviktvirus	Anne Marte Bakken Kran
14.05 - 14.15	10 min	JC polyomavirus	Garth Tylden
14.15 - 14.25	10 min	Diskusjon og oppsummering	
14.25 - 14.40	15 min	Kaffepause	
		Møteleder Del III: Garth Tylden	
14.40 - 14.50	10 min	Black box i CNS-diagnostikk	Andreas Lind
14.50 - 15.05	15 min	Resultater av spørreundersøkelsen	Andreas Christensen
15.05 - 15.20	15 min	Prioritering av CNS-diagnostikk	Komiteen
15.20 - 15.40	20 min	Diskusjon og oppsummering	
15.40 - 15.50	10 min	Oppsummering av møtet	

GENERELLE ANBEFALINGER OM PRØVEHÅNTERING

Forslag til rutiner for prøvetaking og lagring av prøver ved CNS-infeksjoner

Ved mistanke om CNS-infeksjon anbefales tapping av spinalvæske og serum samtidig.

Spinalvæske:

Det tappes 20 dråper (1 ml) i 5 rør:

- 2 rør til biokjemiske/immunologiske analyser – leukocyttertall, protein, glukose, albumin, ev. total IgM/G
- 3 rør til mikrobiologiske og ev. immunologiske analyser
 1. Bakteriologiske analyser.
 2. Virologiske analyser.
 3. Lagring (≥ 1 år) og ev. supplerende analyser (eks. NGS, påvisning av intratekal antistoffproduksjon, encefalitt-/paraneoplastiske antistoffer)

Spinalvæske er et verdifullt prøvemateriale og alle rester bør fryselagres.

Serum:

4 rør:

- 1 rør til biokjemiske analyser – glukose, albumin, CRP, ev. total IgM/G
- 1 rør til immunologiske analyser – encefalitt-antistoffer/paraneoplastiske antistoffer
- 2 rør til mikrobiologiske og infeksjonsimmunologiske analyser:
 1. Hiv og eventuelt HSV, VZV, EBV, CMV, Toxoplasma, Treponema
 2. lagring (≥ 1 år) og evt. supplerende analyser (f.eks. påvisning av intratekal antistoffproduksjon)

Lokale tilpasninger vil kunne være nødvendig. Opprettelse av felles prosedyrer for infeksjonsmedisin, mikrobiologi og medisinsk biokjemi anbefales.

Prioritering av diagnostikk ved CNS-infeksjoner

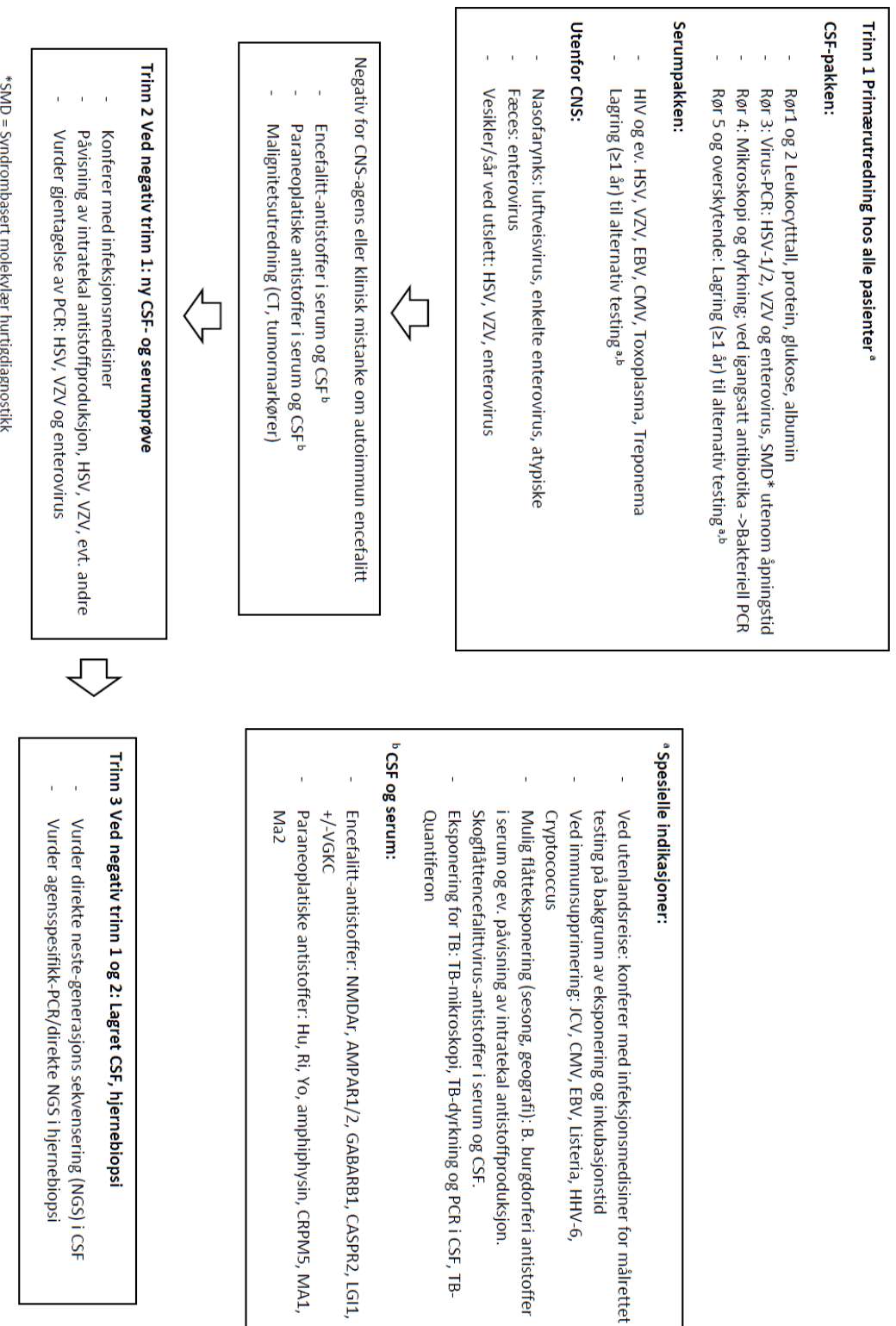
Det er behov for å redusere svartid og øke oppklaringsprosent ved mistenkt CNS-infeksjon. Derfor er det etablert en algoritme for trinnvis utredning. Fokuset i trinn 1 er på rask avklaring av agens med terapeutisk konsekvens. Påfølgende trinn fokuserer på diagnostisk bredde. Syndrombasert hurtigdiagnostikk bør oftest følges opp med konfirmerende PCR (se eget avsnitt). Uavklarte tilfeller etter primærdiagnostikk bør utredes videre. Ny spinalvæske- og serumprøve med påvisning av intratekal antistoffproduksjon kan være nyttig for diagnostikk av flere agens (se eget avsnitt). Ved fortsatt uavklart etiologi, vurderes direkte sekvensering. Siden mengden med agensspesifikk nukleinsyre i spinalvæske ved infeksjoner i hjerneparenkymet kan ligge under deteksjonsnivået for både direkte sekvensering og PCR, bør hjernebiopsi også vurderes.

Overforbruk av CNS-diagnostikk må unngås for å redusere belastningen på laboratoriet og for å øke pretest sannsynlighet. Sterkt varierende klinikk ved CNS-infeksjoner gjør det vanskelig å definere avvisningskriterier og terskelen for mikrobiologisk diagnostikk må nødvendigvis være nokså lav. Fullstendig avvisning av rekvisisjoner bør begrenses til pasienter som er immunfriske, >2 år, uten nyoppstått encefalopati, kranial nevropati, myelopati eller meningisme, og som har normale biokjemiske parametere i spinalvæsken. Ved slag bør CNS-diagnostikk ikke avvises inntil cerebral vaskulitt (VZV) er utelukket. I noen tilfeller vil man kunne avvise umiddelbart, for eksempel elektiv hodepineutredning og terapeutisk tapping for trykkreduksjon hos ellers friske voksne. Ved infeksjoner vil det kliniske bildet gjerne forandre seg over tid og avslutning av videre diagnostikk etter noen timer med empirisk behandling/observasjon i samråd med kliniker vil ofte være mulig. Avviste prøver bør lagres og kliniker bør gjøres oppmerksom på avvisning og varighet av lagring. I en del tilfeller ønsker kliniker analyse for luftveisvirus, *C. pneumoniae* og *M. pneumoniae* i spinalvæske. Disse agens vil normalt ikke prioriteres i primærutredning ettersom deres patogene betydning er høyst usikker. Skal man undersøke for luftveisagens bør det foreligge samtidige funn i luftveisprøver og innsykning med CNS-symptomer innen få dager etter symptomdebut i øvre luftveier. Vanlige agens utelukkes først. Adenovirus kan av og til forårsake CNS-infeksjon hos immunsupprimerte, vanligvis som ledd i en systemisk infeksjon. Adenovirus kan ligge latent og reaktiveres, samt overføres ved transplantasjon. Analyse i spinalvæske vil kunne være aktuelt ved encefalitt hos immunsupprimerte med negativ primær CNS-diagnostikk.

Ovennevnte uvanlige agens er ikke tatt med i algoritmen (figur 1) men vil kunne fanges opp ved NGS i trinn 3.

Utredning av pasienter med mistenkt CNS-infeksjon

Figur 1.



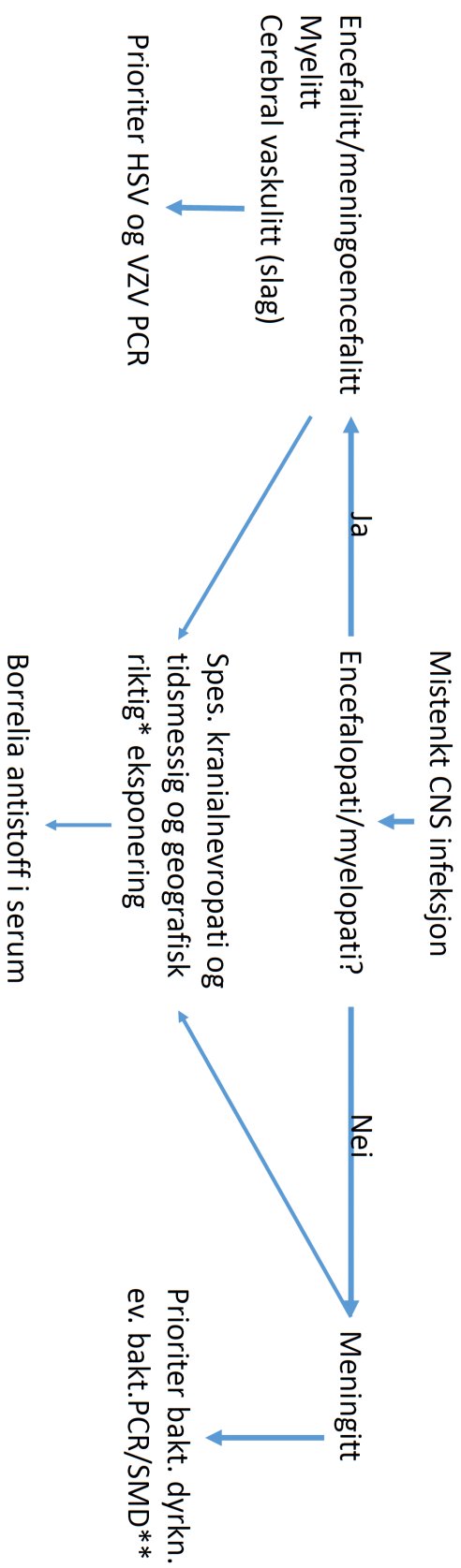
Adaptert fra Quist-Paulsen, E., et al. (2019). BMC Infect Dis **19**(1): 80.

Prioritering ved for lite spinalvæske

Etablering av prøvetakingsrutiner som sørger for nok materiale til alle analyser bør være et overordnet mål. Likevel vil man iblant motta for lite spinalvæske og være nødt til å prioritere. Som regel vil bakteriologisk dyrkning prioriteres pga. behov for levende bakterier til fenotypisk resistensbestemmelse. Virologisk diagnostikk påvirkes derimot ikke av antiviral behandling de første dagene og man har tid til å innhente en ny prøve. I enkelte tilfeller bør man likevel prioritere virologisk diagnostikk primært. Avgjørelsen tas i samråd med kliniker og kan underbygges ved å skille grovt klinisk mellom meningitt og encefalitt. Meningitt har ofte en behandlingskrevende bakteriell årsak eller en godartet viral årsak (pnemokokker, enterovirus), mens encefalitt ofte har en behandlingskrevende viral årsak (HSV-1, VZV). Ved ren meningitt vil hjernefunksjonen være intakt langt ut i forløpet mens ved encefalitt og meningoencefalitt affiseres hjernefunksjonen (encefalopati) tidlig i forløpet. Biokjemiske parametere i spinalvæsken (celletall, glukoseratio, protein) kan også bidra til å skille mellom bakteriell og viral genese (se figur 2).

Prioritering av mikrobiologisk CNS-diagnostikk ved lite materiale

Figur 2.



Virus	Bakterier
Leukocytter <1000 (<5) x10 ⁶ /L	Leukocytter >2000 (<5) x10 ⁶ /L
Protein < 1500 (150 – 450) mg/L	Protein >2000 (150 – 450) mg/L
CSF/serum glukoseratio >0,5	CSF/serum glukoseratio <0,5

* Skog og mark fra Bønnøysund og sørover (fra mars til oktober)

**Syndrombasert molekylær hurtigdiagnostikk

Negativ? -> Innhent:

- mer materiale
- Serum
- Reise/eksponeringsanamnese
- Radiologiske funn

og følg vanlig algoritme

Forebygging av kontaminering ved PCR-diagnostikk av CNS-infeksjoner

Infeksjoner i CNS er sjeldne og etiologien er variert. Enkelte CNS-agens er vanlige i andre prøvetyper. PCR-diagnostikk har lav deteksjonsgrense og er derfor utsatt for falskt positive resultater pga. nukleinsyrekontaminering. Denne konstellasjonen reduserer den positive prediktive verdien til PCR i spinalvæske. Krysskontaminering mellom prøver er en vanlig kilde til falskt positive resultater. Aspirat fra vesikler og pinnep prøver fra lesjoner kan inneholde svært høye virusmengder. Dette gjelder for HSV og VZV men også for enterovirus. Virusmengden i spinalvæske ved viral meningitt og encefalitt er som regel lav. Forurensning av spinalvæske med virus/viral nukleinsyre kan skje både før og under ekstraksjon, samt før amplifisering. På bakgrunn av innlegg, spørreundersøkelsen og diskusjonen på møtet, foreslår komiteen følgende tiltak for å redusere faren for forurensning:

1. Separat ekstraksjon anbefales: Spinalvæske og ev. andre prøvetyper med lav virusmengde (f.eks. øye) ekstraheres i egne oppsett, separat fra vesikkel- og sårprøver.
2. Separat amplifikasjon anbefales: Spinalvæske amplifiseres i egne oppsett, separat fra vesikkel- og sårprøver.
3. Duplikat ekstraksjon kan benyttes: Eksempelvis kan man ekstrahere fra 2 duplikater med 200 µl inn-volum og 50 µl ut-volum, istedenfor 400 µl inn-volum og 100 µl ut-volum.
4. Duplikat amplifikasjon: Det er en god regel å amplifisere i 2 paralleller ved viktige infeksjoner, men ved blandede amplifikasjonsoppsett (spinalvæske og vesikkel-/sårprøver) bør prøvene analyseres i duplikat.
5. Ved diskrepans mellom duplikatene, kan prøven reekstraheres (ev. i 2 paralleller) og amplifiseres i 4 paralleller (ev. med og uten 10x fortykning for å kontrollere for inhibisjon).

Ellers bør vanlige forholdsregler for forebygging av kontaminering med persisterende PCR-produkter følges, inkludert enveis flyt mellom arbeidsstasjoner for tillaging av mastermix, ekstraksjon, PCR-oppsett og amplifikasjon. Spesielt bør amplifikasjon foregå på eget rom og avfall etter amplifikasjon bør håndteres forsiktig. Mastermix som inneholder Uracil-DNA-glycosylase og dUTP istedenfor dTTP begrenser også faren for PCR-produkter som persisterer i laboratoriemiljøet. Mens kontaminering med persisterende amplikon kan gi falskt positive resultater, kan kontaminering med persisterende primer-dimerer gi falskt negative resultater¹. Sistnevnte kan være vanskelig å oppdage uten internkontroller med samme primerbindingsseter som mål-amplikonet.

¹ Bacich, D. J., et al. (2011). "False negative results from using common PCR reagents." BMC research notes 4: 457-457.

OPPSUMMERING AV ABSTRAKTER OG ANBEFALINGER

Virale CNS-infeksjoner

Mens viral meningitt har en god prognose, regnes HSV-encefalitt blant de alvorligste infeksjonene i CNS. Tidlig aciklovirbehandling reduserer mortaliteten betydelig.

Oppklaringsprosenten ved mistenkt viral CNS-infeksjon er lav, spesielt ved encefalitt (maksimalt 30-50 %). Trinnvis utredning og samarbeid mellom kliniker og mikrobiologer kan øke andel oppklarte infeksjoner. Syndrombasert molekylær hurtigdiagnostikk detekterer de vanligste CNS-agens raskt. Dypsekvenseringsstudier tyder på at et stort spekter av ulike agens kan forårsake CNS-infeksjoner.

Anbefalinger:

- For å sikre rask diagnostikk og samtidig øke oppklaringsprosent er det utarbeidet en algoritme for utredning av pasienter med mistenkt CNS-infeksjon som kan brukes av klinikere og laboratorieleger². Komiteen har modifisert algoritmen etter innspill under og etter møtet (se figur 1).
- Verdien av serologiske analyser i blod og spinalvæske understrekes.
- Det bør etableres et nasjonalt tilbud for dypsekvensering ved uavklarte CNS-infeksjoner.

Virale CNS-infeksjoner hos barn

Barn <10 år har høyest insidens av encefalitt (10-15/100 000 barneår). Enkelte virus får tilgang via hematogen eller intranevronal spredning. Andre virus kan forårsake sentralnervøs skade direkte eller via trigging av autoimmunitet men lar seg sjelden detektere i spinalvæske. Andre materialer som luftveissekret, fæces, og serum kan også være aktuelle.

Kommunikasjon mellom klinikere og mikrobiologer bør optimaliseres for å sikre hensiktsmessig prioritering av analyser. I tillegg til det kliniske bildet er immunstatus, reise-/eksponeringsanamnese og vaksinasjonsstatus viktig informasjon.

Aktuelle virus er som for voksne med følgende unntak: Hos nyfødte kan HSV-2, enterovirus og parechovirus alle forårsake et alvorlig sepsislignende bilde med meningoencefalitt. Tick-borne encephalitis-virus (TBEV) gir oftest meningitt hos barn. Medfødt CMV, rubellavirus- og Zikavirusinfeksjon ble dekket på strategimøtet i 2018.

Anbefalinger:

- Påvisning av HSV, VZV og CMV kan ha stor klinisk betydning.
- Andre virus kan som oftest ikke behandles, men en diagnose kan likevel være viktig for prognose, isolering og seponering av unødvendig antibiotikabehandling.

² Quist-Paulsen, E., et al. (2019). "To what extent can clinical characteristics be used to distinguish encephalitis from encephalopathy of other causes? Results from a prospective observational study." BMC Infect Dis 19(1): 80.

Uoppklart encefalitt/meningitt og ikke-infeksiøse tilstander

Encefalitt hos barn er en meget kompleks tilstand med både infeksiøse, postinfeksiøse og ikke-infeksiøse årsaker samt en rekke differensialdiagnoser. Utredding av alvorlig syke barn kan være en stor utfordring for klinikerne. Lav oppklaringsprosent ved encefalitt skyldes delvis ikke-infeksiøs encefalitt. Herunder er immunmediert encefalitt som akutt disseminert encefalomyelitt (ADEM) og andre antistoffmedierte encefalitter viktige differensialdiagnoser. ADEM oppstår oftest etter en viral/atypisk luftveisinfeksjon og gir demyelinisering som kan sees på MR. De senere årene er det avdekket en rekke andre antistoffmedierte encefalitter med autoantistoffer rettet mot nevroner.

Bakterielle meningitter kan forbli uoppklarte når behandling startes før prøvene tas.

Anbefalinger:

- PCR som dekker både bakterielle og virale agens bør utføres når antibiotika er gitt før prøvetaking.
- Utreddingen ved encefalitt hos barn bør inkludere kjente CNS-autoantistoffer

Herpes simplex virus og varicella-zoster-virus

Herpesencefalitt skyldes oftest HSV-1. HSV-1-encefalitt kan oppstå i alle aldersgrupper. HSV-2 kan gi meningitt med god prognose hos voksne og alvorlig meningoencefalitt hos nyfødte. VZV er det nest hyppigst forekommende virale encefalitt-agens og kan i tillegg forårsake transvers myelitt, kranial nevritt (f.eks. zoster oticus) og cerebral vaskulitt med slag. Både primærinfeksjon og reaktivering av latent virus kan føre til CNS-infeksjon.

Ved HSV-1-encefalitt har pasientene definisjonsmessig påvirket cerebraalfunksjon (encefalopati) med symptomer som forvirring, adferd/personlighetsforandring, taleforstyrrelser, epileptiske anfall og fokale nevrologiske utfall.

Neonatal HSV-meningoencefalitt presenterer i 2-3 (opptil 6) ukers alder med uspesifikke manifestasjoner som anfall, slapphet, irritabilitet, skjelvinger, dårlig matinntak, temperaturlabilitet og spent fontanelle.

Det kliniske bildet VZV-encefalitt kan ligne HSV-encefalitt. Hjerneslag er en undervurdert manifestasjon av cerebral vaskulitt assosiert med VZV-infeksjon.

Mikrobiologisk diagnostikk baseres i hovedsak på PCR utført på spinalvæske. Sensitivitet og spesifisitet er generelt høy den første uken tross aciklovirbehandling.

Anbefalinger:

- Ved infeksjon i hjerneparenkymet kan viruskonsentrasjonen i spinalvæsken være lav. Oppkonsentrering vha. høyt inn-volum og lavt ut-volum anbefales.
- Da herpes simplex-virus forekommer i store mengder i prøver fra lesjoner på hud og slimhinner, bør forebygging av krysskontaminering fra sårprøver prioriteres høyt (se eget avsnitt).
- Påvisning av intratekal antistoffproduksjon kan være aktuelt for HSV og VZV CNS-infeksjoner ved prøvetaking senere enn 7 til 10 dager etter symptomdebut.
- Kombinasjonen av negativ PCR og fravær av intratekal antistoffproduksjon 10-14 dager etter symptomdebut har høy negativ-prediktiv verdi.

Virale CNS-infeksjoner hos immunsupprimerte

Immunsupprimerte kan rammes av de samme agens som immunfriske men utfallet er ofte verre. I tillegg kan en rekke opportunistiske agens forårsake CNS-infeksjoner hos immunsupprimerte.

Reaktivering av latent infeksjon er vanligst men primærinfeksjon oppstår også og kan gi fatal utgang. Aktuelle herpesvirus i tillegg til HSV og VZV er EBV, CMV, og HHV-6.

HSV-encefalitt oppstår like sjeldent som hos immunfriske men har et mer alvorlig forløp. VZV CNS-infeksjon kan opptre uten utslett. Enterovirus kan gi kroniske CNS-infeksjoner hos immunsupprimerte. EBV kan utløse lymfoproliferasjon og gi CNS-lymfom. CMV gir mye oftere CNS-infeksjon hos immunsuprimerte. JC polyomavirus (JCPyV), som de fleste bærer, kan gi fatal progressiv multifokal leukoencefalopati. Arbovirus som West Nile virus kan også gi spesielt alvorlig infeksjon hos immunsupprimerte.

T-cellesvikt disponerer for virusinfeksjoner. Utsatte grupper inkluderer medfødt immunsvikt som SCID, og sekundær immunsvikt som ved hiv/aids eller immunmodulerende behandling.

Ulike virus kan ikke alltid skilles klinisk. Rask og adekvat virusdiagnostikk kan derfor være avgjørende for utfallet. I noen tilfeller er direktevirkende antiviral behandling mulig. Ellers er tiltak for å gjenopprette immunfunksjon sentrale.

Anbefalinger:

- Det regionale analyseutvalget bør dekke akuttbehovet til de immunsupprimerte pasientgruppene som følges i regionen. Stamcelletransplanterte bør kunne tilbys semikvantitativ EBV- og CMV-analyse i spinalvæske regionalt.
- Virus-diagnostikk er viktig selv om det ikke finnes etablert antiviral behandling for det aktuelle viruset, da man av og til kan kontrollere infeksjonen ved å gjenopprette immunfunksjonen.
- Negative funn kan være like viktig som positive funn når valget står mellom immunrestitusjon og immunsupprimering.

Enterovirus

Enterovirus-slekta omfatter 7 arter som infiserer mennesker (enterovirus (EV) A-D og rhinovirus (RV) A-C) med til sammen mer enn 280 typer. Enterovirus gir ofte meningitt og sjeldnere myelitt og encefalitt. Poliovirus 1-3 hører til EV-C og gir myelitt med slappe lammelser. I senere år har også enterovirus-A71 og -D68 vært assosiert med slappe lammelser.

Klassiske EV replikerer primært i tarmen mens EV-D68 og alle RV replikerer i luftveiene. Hos nyfødte oppstår EV CNS-infeksjon som ledd i en disseminert infeksjon og virusmengden kan være høyere i blodet. Optimalt prøvemateriale er derfor avhengig av pasientgruppe og klinikk. Virusmengden i spinalvæsken er ikke alltid høy nok til at typing lar seg gjøre, og i noen tilfeller er virus ikke detekterbart i spinalvæske (EVD68). Virusfunns i fæces er ikke nødvendigvis representativt for CNS-infeksjonen. Enterovirus kan skiller ut i fæces i lang tid, ofte uten ledsagende symptomer. Typebestemmelse av EV vha. sekvensering av kapsidproteingenet VP1 utføres i overvåkningsammenheng eller i forskningsprosjekter. Typespesifikke revers transkriptase PCR (RT-PCR)-metoder gir raskere typing og benyttes av referanselaboratoriet i utbruddssammenheng.

Flere kommersielle multipleks-kit gir falskt negative resultater i prøver med lav viruskonsentrasjon. EV og spesielt RV-C-typer er nært beslektet og man skal være oppmerksom på faren for kryssreaksjoner i både EV- og RV-PCRer.

Anbefalinger:

- Ved CNS-infeksjon hos barn < 2 år bør man også teste for nært beslektede Parechovirus (diskutert i strategirapport 2018)
- Fæces og nasofarynxprøver anbefales i tillegg til spinalvæske ved mistanke om CNS-infeksjon med enterovirus.
- Anbefalt metode er RT-PCR med målområde i den høyt konserverte 5'-UTR. Metodens evne til å påvise alle EV-typer bør valideres og kontrolleres jevnlig.
- Negative resultater hos klinisk suspekterte tilfeller ved bruk av syndrombasert molekylær hurtigdiagnostikk bør konfirmeres med en mer sensitiv metode.
- Enterovirus som forårsaker CNS-infeksjoner skal typebestemmes.
- Hos spedbarn bør prøvemateriale tas fra multiple lokalisasjoner, blod er særlig aktuelt.

Cytomegalovirus

Hos voksne er cytomegalovirus (CMV) en sjelden årsak til encefalitt som rammer hovedsakelig immunosupprimerte pasienter via reaktivering av latent virus. Rundt 60 % av befolkningen er seropositiv. Reaktivering skjer hyppig, spesielt ved immunsupprimering, og er ofte subklinisk. Små mengder CMV-DNA kan påvises i spinalvæske uten klinisk korrelat. Tolkning av positive funn i spinalvæsken avhenger av virusmengde. Målte virusmengder varierer mellom analyser og laboratorier. Tolkning av lav/middels/høy virusmengde er derfor laboratorie- og metodeavhengig. In-house PCR-metoder kan ha bedre sensitivitet enn kommersielle metoder. (Dette kan skyldes bla. bruk av lange amplikon³. CMV-DNA'et i spinalvæsken kan være ubeskyttet og fragmentert⁴.)

CMV kan gi encefalitt hos nyfødte med medfødt CMV-infeksjon. Omkring 15 % av dem med medfødt infeksjon har påvisbart CMV-DNA i spinalvæsken, men funnet har usikker prediktiv verdi for hjerneskade (se også strategimøte 2018).

Anbefalinger:

- CMV-PCR på spinalvæske anbefales hos immunosupprimerte ved encefalitt/meningoencefalitt og negativ PCR for HSV, VZV og enterovirus.
- Positive kvalitative analyser bør følges opp med kvantitative/semikvantitative analyser.
- Funn av CMV i spinalvæske vektlegges, men det må alltid letes etter annen årsak til encefalitt.
- Ved negativt resultat med en kommersiell metode og klinisk mistanke om CMV-infeksjon anbefales alternativ CMV-PCR (fortrinnsvis in-house-PCR).
- Ved mistanke om CMV-encefalitt anbefales også antistoffanalyser i serum, samt CMV-PCR i plasma/blod.

3 Naegele, K., et al. (2018). "Cytomegalovirus sequence variability, amplicon length, and DNase-sensitive non-encapsidated genomes are obstacles to standardization and commutability of plasma viral load results." *Journal of Clinical Virology* 104: 39-47.

4 Edridge, Arthur W D et al. "Viral Metagenomics on Cerebrospinal Fluid." *Genes* vol. 10,5 332. 30 Apr. 2019, doi:10.3390/genes10050332

Epstein-Barr-virus

Epstein-Barr-virus (EBV)-infeksjon er oftest subklinisk hos barn, og gir mononukleose hos ungdom og voksne. Rundt 90 % av voksne er seropositive og har latent EBV i B-hukommelsesceller livet ut, med hyppig asymptomatisk reaktivering. Latent virus kan drive proliferasjon av vertscellene og forårsake malign lymfoproliferasjon. Immunsupprimerte er spesielt utsatt.

EBV forårsaker sjeldent CNS-infeksjoner, men kan gi encefalitt, meningitt, meningoencefalitt og lymfoproliferativ sykdom i CNS. CNS-infeksjon sees i sjeldne tilfeller ved primærinfeksjon hos immunfriske men påvises oftest hos immunsupprimerte, spesielt hos stamcelletransplanterte, organtransplanterte og AIDS-pasienter. EBV-DNA fraktes i B-lymfocytter til inflammete områder og årsakssammenhengen ved påvisning av EBV-DNA i spinalvæske kan være uklar.

Anbefalinger:

- Vanlige CNS-agens bør utelukkes før EBV vurderes. Funn av EBV-DNA alene i spinalvæske tillegges vekt ved encefalitt, ved CNS-lymfoproliferativ sykdom og ved primær EBV-infeksjon med nevrologiske symptomer.
- Kvantitativ/semikvantitativ PCR anbefales.
- EBV-antistoffanalyser i serum og EBV-DNA-quantitering i fullblod eller plasma bør utføres samtidig.
- EBV-PCR på biopsi fra lesjoner i hjernen bør vurderes ved mistenkt CNS-lymfoproliferativ sykdom og negativ PCR i spinalvæske.

Humant herpesvirus-6

Humant herpesvirus-6 (HHV-6) overføres via spytt og de fleste har gjennomgått primærinfeksjon allerede i 2-årsalderen. Primærinfeksjon kan forløpe subklinisk, gi kortvarig uspesifikk feber, eller klassisk 3-dagers feber med utslett (exanthema subitum/roseola infantum). Alvorlig infeksjon med CNS-afleksjon oppstår sjeldent hos immunfriske. Virusene replikerer i aktiverte CD4+ T-celler og etablerer latens i makrofager. Viralt DNA kan derfor påvises i hjernevev i fravær av encefalitt. I tillegg har ca. 0,5 % av befolkningen kromosomalt integrert HHV-6 med høye mengder viralt DNA i alle vev. Reaktivering påvises hyppig ved encefalitt hos beinmargstransplanterte. I likhet med EBV, er årsakssammenhengen ved encefalitt ofte uklar. Selv om pasienter med klinisk HHV-6-CNS-infeksjon har høyere gjennomsnittlig HHV-6-DNA-mengde enn ved tilfeldige funn, er det betydelig overlapp.

Anbefalinger:

- Kvantitativ/semikvantitativ PCR anbefales, og andre agens bør utelukkes.
- Isolert positiv HHV-6 i høy mengde i spinalvæske tillegges vekt ved encefalittsymptomer hos immunsupprimerte.
- Ved funn av HHV-6 som tillegges vekt, anbefales samtidig kvantitering i fullblod.
- Hårrøtter bør også analyseres for å avsløre kromosomalt integrert HHV-6.
- Tilfeldige funn (eks. ved syndrombasert multiplex PCR) tillegges oftest ikke vekt.

Humant immunsviktvirus

Humant immunsviktvirus invaderer CNS tidlig etter primærinfeksjon og persisterer der livet ut. Hiv affiserer CNS direkte ved å forårsake meningoencefalitt, hiv-assosiert demens (HAD) eller mildere hiv-assosiert nevrokognitiv sykdom (HAND). Hiv affiserer CNS indirekte ved å fasilitere opportunistiske CNS-infeksjoner som konsekvens av langtkommen immunsvikt. I årene før cART utviklet 30 % av aids-pasienter alvorlig hiv-assosiert demens og de fleste hadde histologiske tegn på hiv-encefalitt ved obduksjon. Da effektiv behandling ble tilgjengelig, falt forekomsten av hiv-demens, men samtidig økte forekomsten av milde hiv-assosierte nevrokognitive lidelser.

Virus i CNS og i resten av kroppen kan gjennomgå ulike evolusjonsforløp. Ulike antiretrovirale midler har ulik penetrasjon til CNS. Subterapeutiske konsentrasjoner i CNS medfører risiko for lokal resistensutvikling med påfølgende disseminering.

Pasienter med ikke-detekterbart virus i plasma kan ha høye virusnivåer i spinalvæske. På den annen siden kan mild nevrokognitiv funksjonsforstyrrelse opptre selv uten økt hiv-RNA-spinalvæske/plasma-ratio. Forbigående forhøyet virusnivå i spinalvæske kan sees ved tilfeldig måling og i forbindelse med andre CNS-infeksjoner/inflamasjonstilstander.

Anbefalinger:

- Serologisk hiv-test anbefales hos alle som utredes for CNS-infeksjon eller encefalopati.
- Hiv RNA-kvantitering i spinalvæske er mest aktuelt ved lavt/ikke påvisbart virus i plasma.
 - Spinalvæske sentrifugeres for å fjerne lymfocytter med provirus DNA.
 - Spinalvæske og plasma analyseres samtidig.
 - Spinalvæske hiv-RNA-nivået er forhøyet når det er $>0,5 \text{ Log}_{10}$ høyere enn nivået i plasma, eller > 200 kopier/ml når plasma hiv-RNA er <20 kopier/ml.
 - Ved forhøyet ratio kan genotypisk resistensundersøkelse i spinalvæske vurderes i samråd med referanselaboratoriet.

JC polyomavirus

JC polyomavirus (JCPyV) gir livslang asymptomtomatisk infeksjon hos 40-80 % av voksne og skilles ut i urinen hos 1/3 av de infiserte. I sjeldne tilfeller forårsaker JCPyV hjernesykdommen progressiv multifokal leukoencefalopati (PML) hos immunsupprimerte. Hematologisk malignitet, hiv/aids, organ-/stamcelletransplantasjon, og immunmodulerende behandling disponerer for PML. Spesielt høy risiko sees ved natalizumab-behandling for multippel sklerose. Det finnes ingen effektiv antiviral behandling og mortalitet ved PML varierer fra 22-70 % avhengig av mekanisme for immunsupprimering og muligheter for immunrestitusjon.

Anbefalinger:

- Sykehistorie med kronisk progredierende nevrologiske utfall bør gi mistanke om PML.
- Spredte høysignalforandringer subkortikalt på T2-vektet- og FLAIR MR med eller uten kontrastoppladning i en klinisk setting som nevnt i punktet over bør utløse JCPyV-PCR på spinalvæske og utredning av immunstatus.
- JCPyV-PCR-analysen bør ha deteksjonsgrense i nærhet av 10 kopier/ml spinalvæske. Oppkonsentrering vha. høyt inn-volum og lavt ut-volum anbefales.
- Negativ PCR utelukker ikke PML da virusmengden i spinalvæsken kan være lav tidlig i infeksjonsforløpet og ved immunrestitusjon. PCR på hjernebiopsi eller påvisning av intratekal antistoffproduksjon kan også være aktuelt.

Intratekal antistoffproduksjon

Påvisning av intratekal antistoffproduksjon utføres oftest ved PCR-negativ meningoencefalitt og kan anvendes i diagnostikk av mange ulike agens som forårsaker CNS-infeksjoner.

Hos friske individer er det mye lavere antistoffmengde i spinalvæsken enn det er i blodet. Dette forholdet forskyves noe ved CNS-infeksjoner på grunn av intratekal antistoffproduksjon. Måling av spinalvæske/serum-forholdet for antistoffer som er spesifikke mot et bestemt virus kan derfor avsløre CNS-infeksjon med det viruset.

Spinalvæske og serum må tappes samtidig vanligvis ≥ 10 dager etter sykdomsdebut og undersøkes parallelt med en antistofftest som er validert for spinalvæske. Optimalt tidspunkt og antistoffklasse (IgM/IgA/IgG) er avhengig av agens. Patologisk forskyvning av forholdet kan vedvare i måneder til år. To vanlige matematiske metoder for påvisning av intratekal antistoffproduksjon er Rieber-metoden og antistoffindeks. Begge metoder går ut på å sammenligne spinalvæske/serum-ratio for agens-spesifikke antistoffer med spinalvæske/serum-ratio av en korreksjonsmarkør (albumin eller total Ig). Blod-hjernebarrieresvikt og spinalvæskesirkulasjonsforstyrrelse kan gi økt totalantistoffmengde i spinalvæsken og må korrigeres for. Rieber-metoden benytter pasientens spinalvæske/serum-albuminratio, og «antistoff indeks» benytter pasientens spinalvæske/serum-total Ig-ratio som korreksjonsfaktor.

Ved demyeliniserende CNS-sykdommer som MS er det vanlig med intratekal antistoffproduksjon mot tilfeldige antigener, noe som kan gi falskt positive resultater.

Som for andre serologiske analyser, gir parprøver (akutt og konvalesent) større treffsikkerhet.

Anbefalinger:

- Serum og spinalvæske tatt tidlig i forløpet bør oppbevares til eventuell senere analyse.
- Påvisning av intratekal borrelia-antistoffproduksjon bør tilbys lokalt i flåttområder, HSV og VZV - regionalt, og andre agens – nasjonalt. Andre aktuelle agens er kusmavirus, meslingvirus, TBE og importvirus
- HSV og VZV bør analyseres sammen pga. kryssreaksjoner og overlappende klinikk.
- Ved prøvetaking > 2 uker etter symptomstart og ved myelitt/nevritt/radikulitt bør ratiobestemmelse utføres i tillegg til PCR. Aktuelle agens er Borrelia ved flåtteksponering og positiv antistofftest i serum, samt VZV.

Syndrombasert hurtig-PCR ved CNS-diagnostikk

I løpet av de siste årene har det kommet kommersiell syndrombasert molekylær hurtigdiagnostikk for utredning av CNS-infeksjoner. Et eksempel er FilmArray som kan påvise 14 ulike CNS-agens i ca. 70 minutter. FilmArray har vært i bruk ved OUS siden 2016. Ved validering korrelerte funnene godt med etablerte metoder for alle mikroorganismer i panelet. Tilgangen til analysen styres av medisinsk mikrobiolog på bakgrunn av definerte kliniske kriterier og bruken loggføres vha. et kasusvurderingsskjema. Prøvene dyrkes parallelt og reanalyseres med in-house-analyser ved behov. Frem til oktober 2019 var 716 pasientprøver analysert med 134 (19 %) positive funn. Et mulig falskt positivt og et falskt negativt tilfelle (begge HSV-1) ble registrert. Samlet sett var erfaringen positiv for både mikrobiologer og klinikere. Raske prøvesvar kunne leveres også utenfor vanlig åpningstid.

Ulemper inkluderer høy pris per kassett, lukket system – «black box», og rigid oppsett. Det er derfor ikke mulig å feilsøke, oppdatere eller tilpasse analysene til det kliniske bildet.

Som andre molekylære metoder er FilmArray utsatt for falskt positive resultater pga. forurensning. FilmArray og lignende instrumenter bør derfor kun anvendes av kyndig personale innenfor rammene av et kvalitetssystem med dokumentstyrt validering, opplæring, vedlikehold, kontaminasjonsforebygging, og løpende kvalitetssikring. Spesifikke problemer med syndrombasert hurtigdiagnostikk som ble diskutert under møtet var lav sensitivitet for enterovirus og parechovirus og hyppig deteksjon av HHV-6 med usikker klinisk betydning alene eller sammen med andre agens.

Anbefalinger:

- Syndrombasert hurtigdiagnostikk anbefales etablert for å sikre god pasientbehandling ved CNS-infeksjoner. Døgnkontinuerlig tilgjengelighet bør etterstrebes.
- Mikrobiologiske avdelinger bør stå for anskaffelse, lokal validering, og drift av syndrombasert hurtigdiagnostikk.
- Lokal vurdering av panelets relevans anbefales.
- Instrumentet bør kobles opp til laboratoriets datasystem.
- Indikasjonen for analysen bør være streng for å øke pretest sannsynlighet.
- Resultater som ikke korrelerer med klinikk bør diskuteres med kliniker og verifiseres med en alternativ test. Laboratorier som kun har syndrombasert hurtigdiagnostikk bør etablere samarbeid om konfirmasjon.
- Negative resultater med syndrombasert hurtigdiagnostikk ved sannsynlig viral meningitt/encefalitt bør konfirmeres med alternativ analyse for HSV, VZV og enterovirus, samt parechovirus hos barn <2 år.
- Positiv HHV-6 bør ledsages av en kommentar om usikker klinisk betydning og konfirmeres med kvantitativ PCR hos immunsupprimerte.
- Det frarådes å konfirmere negative funn for agens i panelet som, utfra klinisk vurdering ikke ville ha blitt analysert, eksempelvis negativ kryptokokk-analyse hos en immunfrisk pasient.

Black box i CNS-diagnostikk

Syndrombasert molekylær hurtigdiagnostikk har vist seg å være nyttig ved diagnostikk av CNS-infeksjoner, men slike lukkede systemer byr på utfordringer ved kvalitetssikring og tolkning av prøvesvar. Hittil markedsførte syndrombaserte systemer har utilgjengelige primer-/probesequenser og amplifikasjonskurver. Kassettdesignet gir heller ikke rom for bruk av kit-uavhengige kontroller og man risikerer derfor at tekniske feil ikke oppdages. Designet innebærer overføring av ansvaret for kvalitetssikring i sin helhet til produsenten, noe som bør være uakseptabelt for akkrediterte laboratorier hvor produsentuavhengig kvalitetssikring står sentralt.

Fast bredt panel medfører noen unødvendige enkeltanalyser ved alle oppsett. Overforbruket av analyser gir en systematisk reduksjon av pretest sannsynlighet, og selv med høy spesifisitet, vil positiv prediktiv verdi kunne bli lav. Falskt positive resultater kan føre til feilbehandling, for tidlig avslutning av utredning og tolkningsproblemer når positive svar ikke passer med det kliniske bildet.

Anbefalinger:

- Mikrobiologiske laboratorier som tar inn syndrombasert hurtigdiagnostikk bør sørge for å vedlikeholde den lokale molekylærkompetansen og ivareta konfirmasjon med alternative metoder.
- Ved anskaffelse av syndrombasert hurtigdiagnostikk bør produsenten bes om å oppgi deteksjonsprinsipper og primer-/probesequenser. Alternativt kan produsenten dokumentere planer for overvåkning av genetiske endringer som kan påvirke analysen og påfølgende oppdatering av analysen.
- Laboratoriene bør ha en løsning for løpende produsentuavhengig kvalitetssikring av syndrombasert hurtigdiagnostikk. Dette kan for eksempel være en kombinasjon av fast konfirmasjon med alternativ diagnostikk, roterende periodevis testing av positive kontroller og/eller sentralisert godkjenning av nye lot for enkelte agens.
- Forhandling om redusert pris på kassetter til lokalt kvalitetssikringsarbeid og ev. simultananalyse av flere positive kontroller i samme kassett kan forsøkes.
- Fleksible løsninger fremfor store faste paneler foretrekkes. Muligheten til å granske amplifikasjonskurver foretrekkes.

Spørreundersøkelse

Før strategimøtet ble det sendt ut et spørreskjema for å kartlegge praksis ved diagnostikk av CNS-infeksjoner. Fjorten av 17 laboratorier svarte (82 %). Se vedlagt presentasjon (**vedlegg 1**) for en grafisk framstilling.

Det ble stilt spørsmål om svartid, tilgang til syndrombasert hurtigdiagnostikk, påvisning av intratekal antistoffproduksjon, Overstyring av rekvisisjoner, lagring av spinalvæske, og anvendelse av CNS-dedikerte oppsett kontra oppsett med blandede prøvetyper.

Svartiden for de vanligste virale CNS-agens HSV, VZV og enterovirus var jevnt over god. De fleste hadde lengre svartid for enterovirus enn for HSV og VZV. Fem av ti laboratorier oppga testing i helgene.

Syndrombasert hurtigdiagnostikk fantes hos syv laboratorier og fem av disse hadde in-house analyser i tillegg. Fire verifiserte både positive og negative resultater fra syndrombasert hurtigdiagnostikk, enten alltid eller kun på klinisk indikasjon, og ett laboratorium verifiserte kun positive resultater.

Påvisning av intratekal antistoffproduksjon mot *Borrelia* ble utført av elleve laboratorier. Av disse benyttet ni Reiber-metoden. Tre laboratorier oppga påvisning av intratekal antistoffproduksjon mot HSV, VZV og CMV. Ett laboratorium undersøkte i tillegg for meslingvirus og kuumavirus.

Avvisning av rekvirerte analyser ble rapportert av åtte laboratorier på grunnlag av celletall (fire), klinikk (åtte) og eller telefonsamtale med kliniker (seks). Ti av elleve oppga etterrekvirering av analyser.

Lagring av spinalvæske: Seks laboratorier oppga lagring i ≥ 10 år. Fem oppga lagring i 1-10 år og to lagret < 2 måneder. To laboratorier oppga evig lagring av positive prøver og lagring av negative prøver i 1-2 år. Ekstrahert materiale ble lagret > 1 år av fire laboratorier, 1-6 måneder av fire laboratorier og < 1 måned av to laboratorier.

CNS-dedikerte oppsett: Åtte av tolv laboratorier oppga håndtering av spinalvæske sammen andre prøvetyper. Syv laboratorier svarte på neste delspørsmål om separat ekstraksjon og/eller amplifisering. Fire av disse svarte at spinalvæske ble ekstrahert separat. Alle syv svarte at spinalvæske ble amplifisert sammen med andre prøvetyper.

ABSTRAKTER

Virale CNS-infeksjoner

Else Quist-Paulsen, Avdeling for mikrobiologi, OUS, Ullevål
elpa1@ous-hf.no, elpa37@gmail.com

Innledning

Infeksjoner i CNS kan være alvorlige med betydelig mortalitet og komorbiditet for pasientene. Virus kan forårsake både encefalitt (hjernevevsbetennelse), meningitt (hjernehinnebetennelse) og myelitt (påvirket ryggmargsfunksjon grunnet inflammatoriske forandringer i medulla). Encefalitt forårsaket av Herpes simplex type 1 (HSV1) blir ansett som den mest alvorlige virusinfeksjonen i CNS. HSV1 har ubehandlet en mortalitet på 70%, men ved tidlig innsatt behandling med Aciclovir kan denne reduseres til 5-15%[1, 2]. Også for andre virale (f.eks. VZV) og ikke-virale årsaker (f.eks. Borrelia og tuberkuløs encefalitt) kan tiden før behandling ha prognostisk betydning.

I motsetning til encefalitt er viral meningitt assosiert med lav mortalitet, og god dokumentasjon på effekt av behandling mangler [3-5].

Spesielt encefalitt er forbundet med en rekke kliniske og diagnostiske utfordringer, og agens detekteres kun i rundt halvparten av tilfellene[6-8].

Kliniske og diagnostiske utfordringer forbundet med infeksjon i CNS

- Gjenkjenne pasienten: påvirket mental funksjon (encefalopati) er vanlig og kan forekomme ved flere ulike tilstander, blant annet ved sepsis, ikke-CNS-relaterte infeksjoner, vaskulære hendelser, neoplasi, metabolske forstyrrelser, intox, epilepsi, og psykiatriske tilstander. Symptomene ved encefalitt er uspesifikke og kan være sparsomme. Gjenkjennelse av pasienten er første trinn i god og målrettet behandling.
- Vurdere indikasjon for empirisk behandling og evt. steroider.
- Sikre at adekvat prøvemateriale i tilstrekkelige mengder kommer til rett laboratorium.
- Behandling er dårlig dokumentert for en rekke agens.
- Riktig prioritering av analyser på ofte sparsomt og verdifullt materiale må gjøres på bakgrunn av klinikk og kunnskap om testegenskaper. Behandelbare årsaker må prioriteres.
- Sensitivitet av ulike tester varierer med tidspunktet for prøvetagning i sykdomsforløpet.
 - ved kort sykehistorie har PCR høy sensitivitet, selv om falsk negativ PCR kan forekomme dersom prøven er tatt tidlige (dvs. < 3 dager etter symptomdebut).
 - ved sykehistorie >7-10 dager etter symptomdebut kan antistoffbestemmelse være en bedre metode.
 For mange klinikere er dette ukjent.
- Kjenne til de ulike diagnostiske metoder tilgjengelig; kostnad vs. nytte.
- Tolkning av prøvesvar kan være krevende og mikrobiologisk kompetanse nødvendig.
- Krav om kort analysetid.

- Kjenne til aktuelle agens i forhold til reiseanamnese og særskilte grupper så som hos immunsupprimerte og uvaksinerte. På mange remisser mangler opplysninger om dette og tett kommunikasjon med klinikere er nødvendig for god utredning.
- Etiologien er i stadig endring og nye diagnostiske metoder har avdekket nye og hittil ukjente agens ved CNS infeksjoner.

Trinnvis utredning og samarbeid mellom kliniker og mikrobiologer kan bidra til at agens detekteres hos flere pasienter. Det foreligger enkelte gode oversikter over diagnostiske kriterier for ulike agens, gradert etter sannsynlighet for sammenheng med aktuell CNS infeksjon [9, 10]. Siden 2015 har Ullevål i økende grad tatt i bruk FilmArray Meningitt/Encefalitt Panel. Metoden kan i løpet av 70 minutter gi svar på de vanligste årsaker til encefalitt og meningitt. Nye diagnostiske metoder som Next generation sequencing (NGS) har detektert nye agens i CSF til pasienter med encefalitt og meningitt [11, 12], men for mange av de påviste agens må sikker sammenheng med CNS infeksjon bekreftes. Analysen er så langt ikke tilgjengelig i Norge og kostnadene forbundet med disse analysene er høye. Dessuten er analysene tidkrevende. Videre utvikling av disse metodene, samt bedre tilgjengelighet, er nødvendig.

I denne presentasjonen vil jeg kort gå gjennom kliniske utfordringer forbundet med disse tilstandene og kort presentere de vanligste agens ved encefalitt og viral meningitt, både fra vårt materiale på Ullevål og fra andre studier som det er naturlig å sammenligne seg med. Videre vil jeg kort presentere noen funn fra NGS/sekvenseringsstudier som har kommet de senere år.

Konklusjon

Rask diagnostikk kan ha terapeutisk og prognostisk betydning, og hovedmål med diagnostikk av CNS infeksjoner må være å påvise agens med terapeutisk konsekvens. Videre betyr det mye for pasienter og pårørende å få svar på hva som har forårsaket infeksjonen i CNS. Nye diagnostiske metoder er under utvikling, og tilgang til og utvikling av disse kan få stor betydning for fremtidige pasienter med virale CNS infeksjoner. Encefalitt er en sjelden tilstand, og da svært mange virus kan forårsake encefalitt er god oversikt over etiologi nødvendig. Tett samarbeid på tvers av klinikker og laboratorier er viktig.

Diskusjonspunkter/anbefalinger

- a. Er det mulig å definere et flytskjema/utredningslinje for pasienter med CNS infeksjon både til støtte for klinikere og til bruk i laboratoriet?
 - Agensutredning må graderes etter lokal epidemiologi og terapeutisk konsekvens. Primært må fokus være å utelukke agens som får behandlingmessig konsekvens.
 - Utredning av spesielt encefalittpasienter bør inkludere en bred serologisk utredning/ «screening» før en evt går videre med analyser av CSF. Viktigheten av serologi i blod må poengteres for klinikere.
- b. Kommunikasjon:

- Klinikere trenger råd om aktuelle analyser og sensitivitet til de ulike analyser i forhold til innsykning/ klinikk, gjerne ved hjelp av kommentarer på de ulike analyser når svarrapport foreligger.
 - Mikrobiologisk avdeling trenger bedre informasjon fra klinikere om reiseanamnese, immunsuppresjon, og sykdomsvarighet. Når kan man slå seg til ro med negative prøvesvar?
- c. Optimalisere agensdiagnostikken og redusere andel pasienter med ukjent etiologi:
- Klinikere (på Ullevål i hvert fall) ønsker gode og raske analysetilbud for f.eks. arbovirus.
 - FilmArray kan bidra til å øke andel pasienter med rask diagnostisk avklaring, spare antibiotika og mulig redusere antall liggedøgn.
 - Det bør etableres mulighet for sekvensering av CSF ved ukjent agens, spesielt hos immunsupprimerte pasienter.

Referanser

- 1 Whitley, R. J. *et al.* Vidarabine versus acyclovir therapy in herpes simplex encephalitis. *The New England journal of medicine* **314**, 144-149, doi:10.1056/nejm198601163140303 (1986).
- 2 Stahl, J. P., Mailles, A. & De Broucker, T. Herpes simplex encephalitis and management of acyclovir in encephalitis patients in France. *Epidemiology and infection* **140**, 372-381, doi:10.1017/s0950268811000483 (2012).
- 3 Aurelius E., B. M., Eriksson BM., Fohlman J., Franzen-Röhl E., Günther G., Lindquist L., Studahl M. Vårdprogram för Virala CNS-infektioner. (2016).
- 4 Studahl, M. *et al.* Acute viral infections of the central nervous system in immunocompetent adults: diagnosis and management. *Drugs* **73**, 131-158, doi:10.1007/s40265-013-0007-5 (2013).
- 5 Logan, S. A. & MacMahon, E. Viral meningitis. *BMJ (Clinical research ed.)* **336**, 36-40, doi:10.1136/bmj.39409.673657.AE (2008).
- 6 Granerod, J. *et al.* Causes of encephalitis and differences in their clinical presentations in England: a multicentre, population-based prospective study. *The Lancet. Infectious diseases* **10**, 835-844, doi:10.1016/s1473-3099(10)70222-x (2010).
- 7 Mailles, A. & Stahl, J. P. Infectious encephalitis in france in 2007: a national prospective study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **49**, 1838-1847, doi:10.1086/648419 (2009).
- 8 Kupila, L. *et al.* Etiology of aseptic meningitis and encephalitis in an adult population. *Neurology* **66**, 75-80, doi:10.1212/01.wnl.0000191407.81333.00 (2006).
- 9 Granerod, J. *et al.* Causality in acute encephalitis: defining aetiologies. *Epidemiology and infection* **138**, 783-800, doi:10.1017/s0950268810000725 (2010).
- 10 Tunkel, A. R. *et al.* The management of encephalitis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **47**, 303-327, doi:10.1086/589747 (2008).

- 11 Zanella, M. C., Lenggenhager, L., Schrenzel, J., Cordey, S. & Kaiser, L. High-throughput sequencing for the aetiologic identification of viral encephalitis, meningoencephalitis, and meningitis. A narrative review and clinical appraisal. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **25**, 422-430, doi:10.1016/j.cmi.2018.12.022 (2019).
- 12 Brown, J. R., Bharucha, T. & Breuer, J. Encephalitis diagnosis using metagenomics: application of next generation sequencing for undiagnosed cases. *The Journal of infection* **76**, 225-240, doi:10.1016/j.jinf.2017.12.014 (2018).

Herpes simplex virus (HSV) og varicella-zoster virus (VZV)

Veselka Petrova Dimova-Svetoslavova, Avdeling for mikrobiologi, OUS, Ullevål

vesdim@ous-hf.no

Epidemiologi

Herpesencefalitt skyldes oftest HSV-1, men omtrent 10 % forårsakes av HSV-2. HSV-1-encefalitt er den vanligste årsaken til dødelig sporadisk encefalitt i industrialiserte land med en årlig forekomst fra 2,2 til 4,64 tilfeller per million innbyggere per år [1,2]. Det utgjør rundt 30-40 % av tilfellene med en identifisert årsak [3]. Infeksjonen oppstår i alle aldersgrupper. En tredjedel forekommer hos barn og unge [4].

Neonatal infeksjon med HSV forekommer hos 1 av hver 3200 til 10 000 levende fødsler og kan være årsak til alvorlig sykkelighet, dødelighet og permanente sekveler [5].

VZV er det nest hyppigste virale årsak til encefalitt. Dødeligheten er på opptil 12-15 % hos immunkompetente pasienter [6].

Smittemåte

HSV smitter gjennom slimhinne- eller skadet hud. Etter primærinfeksjon infiseres sensoriske nevroner og viruset føres til dorsal rot ganglion via rask retrograd aksonal transport. Mekanismen for tilgang til sentralnervesystemet (CNS) hos mennesker er uklart. De mest sannsynlige rutene inkluderer retrograd transport gjennom olfaktorisk- og trigeminus-nervene [7-9] og via hematogen spredning.

Nyfødte kan smittes ved fødselen gjennom slimhinner i fødselskanalen dersom moren har utbrudd ved fødselen [5,10]. Smittefare for barnet er størst under primær genitalinfeksjon, og er om lag 30 - 50%.

VZV overføres ved luftsmitte (fjerndråpesmitte) og gjennom direkte kontakt med væske fra utslett. Etter primærinfeksjon oppholder viruset seg latent i ett dorsalrotsganglion. Reaktivering av latent virus fører til herpes zoster, encefalitt, Guillain-Barrés syndrom, transvers myelitt og hjernenerveutfall.

Klinisk bilde

HSV encefalitt kan utvikles over timer til flere dager. Feber ved innleggelse eller anamnese om febrile episoder i de siste dagene er ofte fremvist. Klinikken varierer mellom pasientene. Noen av symptomene er hodepine, fokale nevrologiske utfall, nedsatt bevissthet, forvirring, personlighetsforandring - endret adferd, taleforstyrrelser, anfall, kvalme/oppkast [11].

HSV-2 kan forårsake serøs meningitt - en selvbegrensende sykdom med god prognose hos voksne. Hos en liten andel av pasienter kan HSV føre til tilbakevendende lymfocytisk hjernehinnebetennelse over mange år. Hos voksne er det oftest HSV-2 assosiert (Mollarets meningitt) [4].

Neonatal HSV meningoencefalitt presenterer vanligvis i andre eller tredje uke etter fødsel, men kan forekomme når som helst i løpet av de første seks ukene av livet. Kliniske manifestasjoner av neonatal HSV CNS-sykdom inkluderer anfall (fokal eller generalisert), slapphet, irritabilitet, skjelvninger, dårlig matinntak, temperaturlabilitet og spent

fontanelle. Tidlig i forløpet av HSV CNS-sykdom kan disse tegnene eller symptomene mangle [5,10].

VZV encefalitt ved primærinfeksjon (vannkopper) kan følge utslettet med et intervall på dager eller uker, selv om det av og til skjer før utslettet, eller til og med hos pasienter uten utslett. Reaktivering av VZV kan også føre til hjernebetennelse, spesielt hos eldre eller immunkompromitterte.

Det typiske zoster-utslettet med utbredelse langs dermatom, tillater vanligvis en rask klinisk diagnose. Imidlertid, hvis utslett er fraværende, kan diagnosen bli forsinket. Det kliniske bilde kan ligne HSV encefalitt med eller uten parese av en eller flere hjernenerver [13]. Hjerneslag er en undervurdert presentasjon av VZV cerebralvaskulitt. Anamnesen kan avsløre tidligere zoster-infeksjon (siste seks uker) hos voksne eller varicella (ca.4 måneder) hos barn. Manifestasjonene er hodepine, kognitiv svikt / forvirring eller ustøhet [12].

Aktuelle analyser

Spinalvæskeundersøkelse

Typisk lymfocytisk pleocytose (10-2000 cellerx10⁶/L), forhøyet protein og normal glukose. Tidlig i forløpet kan neutrofile granulocytter dominere. Normal CSF-profil kan imidlertid sees [14].

DNA-påvisning med PCR

Preanalytiske hensyn

De fleste HSV PCR-analyser krever mellom 0,2 og 0,5 ml CSF. En evaluering av stabiliteten av HSV-DNA i CSF som inneholder lymfocytter og monocytter, avslørte liten nedbrytning av HSV-DNA i prøver som ble lagret i 30 dager ved romtemperatur (20 til 23 °C), nedkjølt (2 til 8 °C) eller frosset (-20 til -70°C) [15]. Prøver blir lagret nedkjølt til testen er utført. Testing skal ikke utføres på supernatant fraksjonen (cellefri) av spinalvæske som er blitt sentrifugert, da sensitiviteten kan bli redusert siden celleassosiert virus fjernes fra prøven [11]

PCR

PCR for HSV-1 og 2 og VZV i spinalvæske mellom dag 2 og 10 har en generell sensitivitet og spesifisitet på > 95 % hos immunkompetente voksne, selv om HSV PCR kan være negativt i første sykdomsdager. En ny spinalvæske, tatt 3-7 dager senere vil ofte være positiv, selv om aciclovir behandling er startet.[11]

Det er flere kommersielle kit som er godkjent for spinalvæskeundersøkelse.

De fleste laboratorier utvikler sine egne in-house tester som må løpende kvalitetssikres, bl.a. ved at man regelmessig deltar i et opplegg for ekstern kvalitetskontroll.

PCR-resultatene skal tolkes forsiktig, siden verken testens sensitivitet eller spesifisitet er 100 %. Testresultatene skal alltid tolkes i sammenheng med pasientens klinisk bilde.

- Falskt negative PCR-resultater kan skyldes lav sensitivitet for en bestemt analyse. Tilstedeværelsen av stoffer i CSF som hemmer amplifisering (f.eks. blod) kan også føre til falskt negative resultater. Analysen bør således inkludere en metode for å fjerne inhiberende stoffer fra CSF-prøven og omfatte en intern positiv kontroll for hver prøve.
- Falskt positive PCR-resultater skyldes oftest forurensning fra overføring av forsterket produkt eller kryssforurensning under prøvebehandling. Laboratorier som utfører PCR, bør følge strenge rutiner for å minimere denne risikoen. Den utbredte bruken av sanntids PCR-testing har redusert risikoen for forurensning på grunn av overføringen av det amplifiserte produktet. I tillegg må man passe på å unngå kryssforurensning under håndtering og bearbeiding av prøver når man tester både vesikler- og CSF-prøver. Behandle og teste vesikkel- og CSF-prøver hver for seg er en god løsning.
- Tolkning av svakt positive PCR-resultater kan være utfordrende. En nyttig strategi for å påvise lav konsentrasjon av virus DNA er å utføre rutinemessig analysen i duplikat. Ved diskrepans mellom duplikatene kan analysen retestes i 4 paralleller. Oppkonsentrering av DNA med større inn-volum og/eller mindre ut volum kan være nyttig.

Ratio-undersøkelse

Intratekal syntese av virus-spesifikke IgG-antistoffer oppdages normalt etter 10-14 dager, topper etter en måned og kan vedvare i flere år. Analysen kan bidra til å etablere diagnosen HSV eller VZV-encefalitt hos pasienter som ble spinalpunktert etter dag 10-12 av sykdommen eller ble ikke testet med HSV(VZV) PCR. En europeisk konsensus uttalelse anbefalte den kombinerte tilnærmingen for å teste CSF ved PCR og antistoff deteksjon, slik at et negativt PCR-resultat tidlig i sykdomsforløpet kombinert med en negativ virus-spesifikk CSF-antistoff undersøkelse i prøve tatt 10-14 dager etter symptomdebut, utelukker diagnosen. Imidlertid, intratekal immunrespons kan bli forsinket eller fraværende når antiviral behandling startes. [4,11,13,17]

Meldings- og varslingsplikt

Meldingspliktig til MSIS kun ved serøs meningitt/encefalitt, gruppe A-sykdom under sekkeposten "Virale infeksjoner i sentralnervesystemet". Kriterier for melding er laboratoriepåvisning av virus i cerebrospinalvæske ved isolering eller nukleinsyrepåvisning eller påvisning av spesifikk antistoff respons i serum og/eller cerebrospinalvæske [18]. Varsling av den behandlende lege er en del av rutineene av det mikrobiologiske laboratoriet.

Diskusjonspunkter

- a. Hvilken algoritme for metodevalg bør anbefales avhengig av sykdomsvarighet og LP tidspunkt?
- b. Er det fortsatt aktuelt å sentrifugere blodtilblandet spinalvæske?
- c. Bør vesikkel og CSF-prøver behandles og testes hver for seg?
- d. Gir analysering av spinalvæsken i duplikat høyere nøyaktighet?
- e. Hvilke tiltak kan anbefales ved diskrepante resultater mellom duplikater?
 - Analysere i 4 paralleller

- Oppkonsentrere DNA
- Annet

Referanser

- 1 Herpes simplex encephalitis in Sweden, 1990-2001: incidence, morbidity, and mortality. Hjalmarsson A, Blomqvist P, Sköldenberg B, Clin Infect Dis. 2007; 45(7):875.
- 2 Incidence and mortality of herpes simplex encephalitis in Denmark: A nationwide registry-based cohort study. Jørgensen LK 1, Dalgaard LS 2, Østergaard LJ 3, Nørgaard M 4, Mogensen TH 5, J Infect. 2017 Jan; 74(1):42-49.
- 3 Epidemiology of infectious encephalitis causes in 2016. Boucher A, Herrmann JL, Morand P, Buzel  R, Crabol Y, Stahl JP, Mailles A. Med Mal Infect. 2017 May; 47(3):221-235.
- 4 Herpes simplex encephalitis: children and adolescent, Whitley RJ, Kimberlin DW, Semin Pediatr Infect Dis. 2005; 16(1):17.
- 5 Neonatal herpes simplex virus infection: Clinical features and diagnosis <https://www.uptodate.com/contents/neonatal-herpes-simplex>
- 6 De BT, Mailles A, Chabrier S, Morand P, Stahl JP. Acute varicella zoster encephalitis without evidence of primary vasculopathy in a case-series of 20 patients. Clin Microbiol Infect. 2012; 18:808-19.
- 7 Shukla ND, Tiwari V, Valyi-Nagy T. Nectin-1-specific entry of herpes simplex virus 1 is sufficient for infection of the cornea and viral spread to the trigeminal ganglia. Mol Vis 2012; 18: 2711-2716.
- 8 Mori I, Nishiyama Y, Yokochi T, Kimura Y. Olfactory transmission of neurotropic viruses. J Neurovirol 2005; 11:129-137.
- 9 Jennische E, Eriksson CE, Lange S, Trybala E, Bergstrom T. The anterior commissure is a pathway for contralateral spread of herpes simplex virus type 1 after olfactory tract infection. J Neurovirol 2015; 21:129-147.
- 10 Neonatal herpes simplex virus infections. Pinninti SG, Kimberlin DW. Semin Perinatol. 2018 Apr; 42(3):168-175.
- 11 Herpes simplex virus type 1 encephalitis Robyn S Klein <https://www.uptodate.com/contents/herpes-simplex-virus-type-1-encephalitis>
- 12 Varicella Zoster Virus: A Common Cause of Stroke in Children and Adults. Amlie-Lefond C et al. J Stroke Cerebrovasc Dis. (2016)
- 13 Skripuletz T, Pars K, Schulte A, Schwenkenbecher P, Yildiz  , Ganzenmueller T et al. BMC Infect Dis. 2018 May 25; 18(1):238.
- 14 Management of suspected viral encephalitis in adults-Association of British Neurologists and British Infection Association National Guidelines. J Infect. 2012 Apr; 64(4):347-73
- 15 Challenges in HSV encephalitis: normocellular CSF, unremarkable CCT, and atypical MRI findings. Bewersdorf JP, Koedel U, Patzig M, Dimitriadis K, Paerschke G, Pfister HW, Klein M. Infection. 2019 Apr; 47(2):267-273
- 16 Stability of herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid specimens. Wiedbrauk DL, Cunningham W, Diagn Mol Pathol. 1996; 5(4):249.

- 17 Cinque P, Cleator GM, Weber T, Monteyne P, Sindic CJ, van Loon AM. The role of laboratory investigation in the diagnosis and management of patients with suspected herpes simplex encephalitis: a consensus report. The EU Concerted Action on Virus Meningitis and Encephalitis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1996;61:339e45.
- 18 <https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/varicella-vannkopper-og-herpes-zost/#meldings-og-varslingsplikt>

Virale CNS-infeksjoner hos immunsupprimerte

Ingvild Nordøy, Seksjon for klinisk immunologi og infeksjonssykdommer, OUS, Rikshospitalet
inordoy@ous-hf.no

Immunsupprimerte pasienter kan i tillegg til virale CNS infeksjoner man ser hos immunkompetente pasienter, få helt spesielle infeksjoner – såkalte opportunist infeksjoner [1]. De fleste av disse dreier seg om reaktivering fra latent til aktiv infeksjon. Man må imidlertid være klar over at voksne immunsupprimerte pasienter kan få sen primærinfeksjon med Herpesvirus. Også CNS kan bli affisert ettersom dette ofte er disseminerte infeksjoner. De kan få fatal utgang med mindre immunsuppresjonen reverseres og potent anti-viral behandling innsettes raskt.

Per i dag er de aktuelle virus fra Herpesvirus familien: HSV, VZV, EBV, CMV og HHV6. HSV encefalitt skjer ikke oftere hos immunsupprimerte pasienter, men har et mer alvorlig forløp og er primært HSV2 [2]. VZV kan opptre uten det karakteristiske vesikulære hudutslettet [2]. EBV kan ved immunsvikt være assosiert med lymfomutvikling i CNS [2]. CMV infeksjon i CNS ser man ikke hos immunfriske pasienter [2]. Polyomaviruset, JCV, som er årsaken til progressiv multifokal leukoencefalopati, ser man kun hos pasienter ved alvorlig T-cellesvikt og infeksjonen er dødelig uten intervensjon [3,4]. West Nile virus kan også gi spesielt alvorlig infeksjon hos immunsupprimerte [5].

Hvem er så de immunsupprimerte pasientene? Det dreier seg om pasienter med primær eller sekundær immunsvikt. Primær immunsvikt dominerer blant barn. Enkelte typer immunsvikt kan ses hos voksne, men for å være utsatt for virale infeksjoner er det primært T-celle svikt som er grunnleggende. I prinsippet dreier dette seg om pasienter som har kombinert T- og B-celle svikt – dvs. alvorlig kombinert immunsvikt (SCID). Som oftest får de andre virale infeksjoner enn CNS infeksjoner. Sekundær immunsvikt opptrer enten som følge av annen tilstand – for eks. HIV, eller sekundært til immunsvikt pga. immunmodulerende behandling som er gitt for andre lidelser blant annet cancer, autoimmune sykdommer eller ved organtransplantasjon.

Det kliniske bilde ved de enkelte virusinfeksjonene er uspesifikke. Det radiologiske bilde kan variere noe. Avgjørende for diagnostikken er viruspåvisning primært i spinalvæske, hjernebiopsi eller blod. Tempo er avgjørende da det fins potente antivirale midler for noen av disse infeksjonene [6]. Videre må man om mulig lette på den immunsuppresjon pasienten får. T-celle stimulerende midler kan være aktuelt ved flere av disse tilstandene [7]. Endelig kan allogene benmargstransplantasjon være aktuelt hos enkelte.

Referanser

- 1 Agnihotri SP. Central nervous system opportunistic infections. *Seminar Neurol*, 2019;39:383-90. Doi:10.1055/s-0039-1687842
- 2 Meyding-Lamadé U, Strank C. Herpesvirus infections in the central nervous system. *Ther Adv Neurol Dis*, 2012;5:279-296. Doi:10.1177/175685612456234
- 3 Khalili A, Craigie M, Donadoni M, Sariyer IK. Host-immune interactions in JC Virus reactivation and development of progressive multifocal leukoencephalopathy (PML). *J Neuroimmunol Pharmacol*, 2019. Doi:10.1007/s11481-019-09877-8.

- 4 Pietropaolo V, Prezioso C, Bagnato F, Antonelli G. John Cunningham virus: an overview on biology and disease of the etiologic agent of the progressive multifocal leukoencephalopathy. *New Microbiol*, 2018;41:179-86.
- 5 Lim SM, Koraka P, Osterhaus ADME, Martina BEE. West Nile Virus: Immunity and pathogenesis. *Viruses*, 2011;3:811-28. Doi:10.3390/v3060811
- 6 Bookstaver PB, Mohorn PL, Shah A, Tesh LD, Quidley AM et al. Management of viral central nervous system infections: a primer for clinicians. *J Centr Nerv System Dis*, 2017;9:1-2.
- 7 Davies SI, Muranski P. T cell therapies for human polyomavirus diseases. *Cytotherapy*, 2017;19:1302-16. Doi.org/10.1016/j.jcyt.2017.08.011

Virale CNS-infeksjoner hos barn

Claus Klingenberg, Barneavdelingen, UNN

claus.klingenberg@unn.no

Innledning/bakgrunn

Serøs meningitt og akutt infeksjøs encefalitt er primære infeksjoner med viral invasjon av sentralnervesystemet (CNS). De oppstår hyppigst via viremi med hematogen spredning til CNS. Sjeldnere er det intranevroneal spredning til CNS, f.eks. herpes simpleks virus (HSV) eller rabies. Encefalitt forekommer sjelden, men barn < 10 år har den høyeste insidensen blant alle pasienter (omtrent 10-15/100 000 barneår).

Viral etiologi skiller seg noe mellom serøs meningitt og encefalitt:

Serøs meningitt: Enterovirus er klart vanligste årsak i Norge (andre mulige agens, se under encefalitt).

Encefalitt: «Vanligste» agens avhenger til dels av hvor i verden man befinner seg og hvilken immunstatus pasienten har.

Aktuelle agens:

- Herpes-virus: HSV, VZV, EBV, CMV, human herpes virus 6 (immunstatus?)
- «Luftveisvirus»: Adenovirus, RS virus, influensavirus, parainfluensavirus.
- «Tarmvirus»: Enterovirus, parechovirus. Langt mere sjelden rotavirus, norovirus
- «Eksotiske» virus: Tick-borne encephalitis(TBE)-virus (gir sjeldent encefalitt hos barn, vanligere med serøs meningitt; finnes i økende grad i Norge), Dengue-feber, japansk encefalitt, rabies, poliovirus etc (reiseanamnese!)
- Barnesykdommer: Kuma og meslinger (vaksinestatus?)

Status

- Antiviral behandling er primært aktuelt ved HSV-encefalitt, og sjeldnere ved VZV- og CMV-encefalitter. Påvisning av HSV, VZV og CMV har, eller kan ha, stor klinisk betydning for valg av behandling.
- Et antiviralt medikament mot enterovirus (pleconaril) har vært studert i mange år med «lovende» resultater, men er ikke i klinisk bruk. Prognosen ved enterovirusinfeksjoner er ganske god etter nyfødtp perioden, mens både enterovirus- og parechovirusinfeksjoner kan gi alvorlige forløp hos nyfødte.
- Påvisning av visse agens i CSF er helt avhengig av dialog med mikrobiologisk laboratorium og evt funn av virale agens i avføring/luftveier som evt indikerer samme agens i CSF
- Selv med omfattende utredning vil man ikke finne infeksjøs årsak hos flere enn maksimalt 30-50% av pasientene med antatt infeksjøs encefalitt.

Referanser

- 1 Messacar K, et al. Encephalitis in US Children. *Infect Dis Clin North Am.* 2018;32:145-62.
- 2 Aneja S, et al. Diagnosis and Management of Acute Encephalitis in Children. *Indian J Pediatr.* 2019; 86: 70-5.
- 3 Ongradi J, et al. Roseolovirus (HHV6-7)-associated encephalitis in immunocompetent and immunocompromised individuals. *J Neurovirol.* 2017;23:1-19.
- 4 Aizawa Y et al. Human parechovirus type 3 infection: An emerging infection in neonates and young infants. *J Infect Chemother.* 2017;23:419-26.
- 5 James SH, Kimberlin DW. Neonatal herpes simplex virus infection: epidemiology and treatment. *Clin Perinatol.* 2015; 42: 47-59
- 6 Verboon-Macielek MA et al. Human parechovirus causes encephalitis with white matter injury in neonates. *Ann Neurol* 2008; 64: 266-73
- 7 Skram MK, et al. Severe parechovirus in Norwegian infants. *Pediatr Infect Dis J.* 2014; 33:1222-5.
- 8 Fowler A, et al. Childhood encephalitis in Sweden: etiology, clinical presentation and outcome. *Eur J Paediatr Neurol.* 2008; 12:484 – 490
- 9 Management of suspected viral encephalitis in children e Association of British Neurologists and British Paediatric Allergy, Immunology and Infection Group National Guidelines. *Journal of Infection* 2012; 64: 449-477
- 10 Hattori F, et al. Survey of rotavirus-associated severe complications in Aichi Prefecture. *Pediatr Int.* 2018;60:259-63.
- 11 Meningitis (bacterial) and meningococcal septicaemia in under 16s: recognition, diagnosis and management. <https://www.nice.org.uk/guidance/cg102>
- 12 Luck SE, et al. Congenital Cytomegalovirus – A European Expert Consensus Statement on Diagnosis and Management. *Ped Inf Dis J* 2017; 36: 1205-12
- 13 Pinninti SG et al. Management of neonatal herpes simplex virus infection and exposure. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2014; 99: F240–F244
- 14 Kimberlin DW, et al. Oral acyclovir suppression and neurodevelopment after neonatal herpes. *N Engl J Med* 2011; 365: 1284–92.
- 15 N-methyl-D-aspartate receptor antibody-mediated neurological disease: results of a UK-based surveillance study in children. *Arch Dis Child* 2015;100: 521–26
- 16 Ramanathan S, et al. Autoimmune encephalitis: Recent updates and emerging challenges. *Journal of Clinical Neuroscience* 2014; 21: 722–30.
- 17 Koskiniemi M, et al. Epidemiology of encephalitis in children. A prospective multicentre study. *Eur J Pediatr.* 1997 Jul;156(7):541-5.
- 18 McRae JE, et al. Paediatric Active Enhanced Disease Surveillance (PAEDS) annual report 2016: Prospective hospital-based surveillance for serious paediatric conditions. *Commun Dis Intell* 2019;43. doi: 10.33321/cdi.2019.43.5.

Uoppklart encefalitt og meningitt - uvanlige agens, ikke -infeksiøse tilstander

Innledning/bakgrunn

Diagnosen encefalitt stilles ofte på bakgrunn av kliniske funn og etter å ha ekskludert andre mulige årsaker. Utredning av pasienten, parallelt med et alvorlig klinisk bilde, er ofte en stor utfordring for legen. Diagnostiske kriterier for encefalitt (fra studier) er at det skal foreligge følgende 3 «kriterier»:

1. Tegn på encefalopati
 - Nedsatt/endret bevissthet
2. Tegn på inflammasjon (minst ett av kriteriene)
 - Feber, CSF > 5 celler/mm³, MR-funn forenlig med inflammasjon, EEG-funn forenlig med encefalitt
3. Tegn på spesifikk nevrologiske avvik
 - Kramper (fokal/generell) eller andre fokale nevrologiske symptomer

Ikke-infeksiøse tilstander (Akutt immunmediert encefalitt)

Ved encefalitt skiller man også mellom en akutt infeksiøs encefalitt (se eget abstrakt) og en akutt/subakutt immunmediert encefalitt som igjen har to hovedtyper:

- A. Akutt disseminert encefalomyelitt (ADEM): Oppstår etter en infeksjon, oftest viral LVI. Kan også oppstå etter infeksjoner med *Mycoplasma pneumoniae* og *Chlamydia pneumoniae*. ADEM typen gir ofte en demyelinisering av hvit substans (MR diagnose).
- B. Antistoffmediert encefalitt: Dette er en relativt «ny type» som det har vært økende fokus på siste 10 år og der man enten i CSF og/eller serum kan påvise forskjellige typer antistoffer mot nevroner (Anti-NMDAR antistoffer, andre «nevronoverflate-antistoffer»)

Som man ser er det en kompleks inndeling, mens det kliniske bildet kan overlappe i betydelig grad mellom infeksiøse og immunmedierte encefalitter.

Ikke-detekterbare bakterielle meningitter:

CNS-infeksjoner kan forbli uoppklarte også på grunn av at behandling er igangsatt før prøvetaking. Dette vil først og fremst gjelde bakterielle meningitter. I slike tilfeller er det viktig å huske på PCR-analyser for de vanligste bakterielle agens. Bakteriell meningitt er i dag en sjelden tilstand både hos nyfødte og eldre barn. Dette skyldes vaksiner (HiB og pneumokokk), en endret epidemiologisk situasjon (meningokokk) og økt fokus på intrapartum antibiotika-profylakse (GBS). Hos nyfødte vil det i en del tilfeller være startet antibiotika på mistanke om sepsis før man erkjenner at man også mistenker meningitt eller at man avventer spinalpunksjon pga. ustabil pasient. Også hos barn etter nyfødtp perioden er det av og til gitt antibiotika før spinalpunksjon selv ved mistanke om meningitt. Ved analyse av spinalvæske (CSF) etter oppstart antibiotika vil dyrkning bli påvirket (negativ).

Status

- Encefalitt hos barn er en meget kompleks tilstand/diagnose med både infeksiøse, postinfeksiøse og ikke-infeksiøse årsaker samt en rekke differensialdiagnoser.
- Mulighet for rask diagnostikk av de mest sentrale agens er sentralt for å kunne gi målrettet behandling samt utelukke behov for anti-infeksiøs behandling.
- Hos barn med mistenkt meningitt/encefalitt vil nukleinsyrebasert analyse av CSF både med tanke på bakterielle og virale agens være svært nyttig i situasjoner der antibiotika er startet før man gjør spinalpunksjon.

Referanser

Se foregående abstrakt.

Enterovirusdiagnostikk ved CNS-infeksjoner

Susanne Gjeruldsen Dudman, Avdeling for mikrobiologi, OUS Rikshospitalet
susanne.dudman@ous-hf.no

Enterovirus klassifikasjon

Humane enterovirus (EV) er en stor gruppe på mer enn to hundre virus som inkluderer poliovirus (PV), coxsachievirus, enterocytopathic human orphan (ECHO) virus og enterovirus 68-71. Basert på fylogenetiske studier av VP1 kan de inndeles i 4 hovedgrupper A – D [1]. Ved enterovirus infeksjon sees mer hyppig meningitt enn encefalitt og spesielt species B virustyper er i vår del av verden oftest årsak til slikt sykdomsbilde [2,3]. EV-A71 og EV-D68 er assosiert med akutt myelitt og slappe lammelser, mens neonatal infeksjon vanligvis forårsakes av coxsackie- og echovirus og EV-71 [2,3].

Andre nært beslektede humanpatogene virus i familien Picornaviridae, parechovirus (HPeV) og rhinovirus (HRV som nå tilhører genus enterovirus), forekommer hyppig i samme populasjon som infiseres av EV og kan detekteres i samme type prøvemateriale [2,3]. EV forekommer over hele verden og i Norge er det høyere forekomst og risiko for utbrudd sommer og høst, i denne perioden vil terskelen for EV diagnostikk være lavere.

Prøvematerialer

Vanlig smitteåte er fekal-oralt og kontaktsmitte, men noen enterovirus overføres også via nærdråpesmitte (f.eks. EV-D68). Det primære replikasjonsstedet for EV er intestinaltraktus.

EV kan påvises i fæces (vanligvis høyest virusmengde), halsprøve, nasofarynkssekret (EV-D68), spinalvæske, vesikkel/sårprøve, blod og i spesielle tilfelle i fostervann eller autopsmateriale ved dyrking eller PCR [4]. Klinikk avgjør best egnet prøvemateriale, men det anbefales å ta prøve fra flere lokalisasjoner spesielt hos små barn som kan ha uspesifikke symptomer. EV RNA detekteres i spinalvæske i majoriteten av meningitt tilfeller ved PCR, men ikke hos alle encefalittpasienter. EV utskillelse i fæces og halsprøver kan være langvarig, og deteksjon er derfor ikke nødvendigvis synonymt med etiologisk årsak.

Klinikk ved sepsis-lignende sykdom hos nyfødt/spedbarn er ofte vanskelig å skille fra meningitt. Spesielt hos nyfødte kan virusmengden være høyere i blod enn i spinalvæske [5]. Anbefalt prøvemateriale er spinalvæske, blod, fæces og luftveisprøve (evt. også navlestrengsblod).

Det bør også vurderes å teste for parechovirus hos barn under to år (se parechovirus av S.A. Nordbø strategimøte 2018).

Ved akutte slappe lammelser / polioliignende pareser bør spinalvæske testes for EV, men ved EV-D68, EV-A71 eller poliovirus infeksjon er virus i mange tilfeller kun detekterbart i luftveisprøve og/eller fæces. Derfor bør testing av luftveisprøve og fæces gjøres i tillegg for alle tilfeller med paralys/myelitt affeksjon [4].

Metoder

Anbefalt screening metode for påvisning av EV (og HPeV) er revers transkriptase PCR (RT-PCR) som amplifiserer et fragment innen den høyt konservative 5'-UTR (untranslated region). Det nylig etablerte ENPEN-nettverket har publisert retningslinjer om hvilke PCR-målområder som anbefales [4]. EV er et nakent lite RNA virus, enkeltrådet og ca. 7300 baser langt, og har et kapsid bestående av fire virusproteiner (VP1-4) med ikosaederform. Siden 116 ulike typer EV er påvist per i dag, må det tas hensyn til at panEV PCR metoden designes for å kunne fange opp alle disse. Påvisning av ekstremt konservative sekvenser i 5'-UTR delen av genomet, åpner for at PCR metoden kan fange opp alle kjente EV typer. Validering av evnen til RT-PCR metoden for å påvise alle typer EV er viktig og det bør også gjøres regelmessig kontroll av behov for oppdateringer.

Sensitiviteten ved in-house PCR metoder og kommersielle kit kan variere mye. En europeisk kvalitetsstudie der både laboratorier som brukte in-house PCR eller kommersielle kit deltok, sammenlignet RNA standarder for EV, HPeV og HRV i 2019 [6]. Studien viste at noen kommersielle multipleks kit (BioFire, AusDiagnostics, Progenie, Seegene) hadde for lav sensitivitet til å kunne påvise materialene med minst virus, mens in-house testene detekterte disse. Det kan være relativt lave mengder virus i spinalvæske selv ved alvorlig infeksjon, derfor bør man ved negativt resultat hos klinisk suspekterte tilfeller ved bruk av kommersielt kit, vurdere å analysere med en alternativ sensitiv metode. I samme studie var det spesifisetsproblemer i noen assays som gav positivt resultat (ct verdier mellom 30-40) for EV i prøver som inneholdt rhinovirus type C, og dette ble observert både med enkelte kommersielle kit og in-house PCR metoder.

Typing av EV gjøres i overvåkingssammenheng (spesielt for å skille mellom non-polio EV og poliostammer f.eks vaksinstammer) ved referanselaboratoriet på FHI [2] eller som del av forskningsprosjekter (eks. Oslo Universitetssykehus, St Olavs Hospital). Anbefalt målområde er minimum 350nt lang del av kapsidproteingenet VP1, mens komplett VP1 sekvens (~900nt) er nødvendig for nye EV typer [4,7].

Typespesifikke egenproduserte RT-PCR metoder har blitt utviklet og brukt i utbruddssammenheng for rask og effektiv påvisning av EV typer som EV-D68 [8]. Slike tester kan være nyttig klinisk og folkehelsemessig sett da de muliggjør raskere typing under utbrudd, men må i likhet med panEV PCR metoder re-valideres regelmessig.

Antistoffpåvisning i serum er av meget liten verdi på grunn av høy forekomst av EV i generell befolkning og lav klinisk spesifisitet, samt at metoden ikke utføres lenger i Norge. Derfor bør agenspåvisning tilstrebes.

Alle CNS-infeksjoner meldepliktige til MSIS under sekkebetegnelsen virale encefalitter.

Diskusjonspunkter

- a. I tillegg til spinalvæske bør luftveisprøve og fæces testes for EV hos alle tilfeller med paralyse/myelitt. Bør fæces testes i større grad ved spørsmål om EV i CNS?
- b. Hos spedbarn bør prøvematerialer tas fra multiple lokalisasjoner, blod er særlig aktuelt.
- c. Siden parechovirus er en av de hyppigste årsakene til meningitt/encefalitt bør det testes for parechovirus PCR hos spedbarn i tillegg til EV.
- d. Ved negativt resultat på kommersielle multipleks-PCR (eks. BioFire), bør mer sensitiv EV PCR metode utføres, så fremt ingen annen årsak eller agens er påvist?

Referanser

- 1 Oberste MS, Maher K, Kilpatrick DR, Flemister MR, Brown BA, Pallansch MA. Typing of human enteroviruses by partial sequencing of VP1. *J Clin Microbiol.* 1999;37(5):1288-93
- 2 Folkehelseinstituttet. Enterovirus infeksjoner – veileder for helsepersonell. <https://www.fhi.no/nettpub/smittevernveilederen/sykdommer-a-a/enterovirusinfeksjoner---veileder-f/>
- 3 Bubba L, Broberg EK, Jasir A, Simmonds P, Enterovirus study participants and Harvala H. Circulation of non-polio enteroviruses in 24 EU/EEA countries between 2015 and 2017: clinical relevance and considerations for systematic surveillance. *Lancet Infect Dis.* 2019. In press.
- 4 Harvala H, Broberg E, Benschop K et al. Recommendations for enterovirus diagnostics and characterisation within and beyond Europe. *J Clin Virol.* 2018 Apr;101:11-17. doi: 10.1016/j.jcv.2018.01.008. Epub 2018 Feb 6. Review.
- 5 Lafolie, J., et al. (2018). "Assessment of blood enterovirus PCR testing in paediatric populations with fever without source, sepsis-like disease, or suspected meningitis: a prospective, multicentre, observational cohort study." *Lancet Infect Dis* 18(12): 1385-1396.
- 6 Hayes A Nguyen D, Harvela H, Simmonds P et al. The application of RNA molecular standards for evaluation of diagnostic screening and typing methods for human enteroviruses and parechoviruses; a pan-European Study. Submitted 2019.
- 7 WHO, Enterovirus Surveillance Guidelines – Guidelines for Enterovirus Surveillance in Support of the Polio Eradication Initiative, World Health Organization Regional Office for Europe, 2015.
- 8 Bragstad, K., Jakobsen K, Rojahn AE, Skram MK, Vainio K, Holberg-Petersen M, Hungnes O, Dudman SG, Kran AM. (2015). "High frequency of enterovirus D68 in children hospitalised with respiratory illness in Norway, autumn 2014." *Influenza Other Respir Viruses* 9(2): 59-63.

Syndrombasert hurtig-PCR ved CNS-infeksjoner

Andreas Lind, Avdeling for mikrobiologi, OUS

uxlindr@ous-hf.no

Bakgrunn

Meningitt og encefalitt kan forårsakes av virus, sopp og bakterier, og er assosiert med høy morbiditet og mortalitet. Som oftest blir det gitt bred empirisk behandling frem til årsaken er avklart. Ut ifra kliniske tegn alene er det ikke mulig å skille på etiologisk årsak, da symptomene vanligvis er uspesifikke (hodepine, lysskyhet, nakkestivhet, endret mental status). Tradisjonell utredning av spinalvæske ved mistanke om CNS-infeksjon er beskaftenhet (åpningstrykk, blakket væske), mikroskopi (celletall og morfologi), klinisk-kjemisk undersøkelse (proteiner, glukoseinnhold, celletall) og dyrkning. Dessuten har man antigenester (f.eks. pneumokokk-antigen) og ulike molekylære enkelttester (Herpes simplex 1 og 2, Varicella zoster, Enterovirus, Pneumokokker, *Staphylococcus aureus* o.l.). I tillegg kan det gjøres antistoffundersøkelser for Borrelia, Syfilis, Herpes simplex, Varicella zoster og for en rekke andre agens som arbovirus [1].

I løpet av de siste årene har det kommet kommersielle syndrombaserte hurtiginstrumenter også for utredning av CNS-infeksjoner [2, 3]. Disse systemene skal sikre raskt svar på bakenforliggende årsak ved meningitt og encefalitt. BioFire Diagnostic FilmArray er et kassetbasert multipleks PCR-system med automatisert forbehandling, amplifikasjon og samtidig deteksjon og analyse av ulike mikrober. I 2015 ble Meningitt/Encefalitt-panel («FilmArray ME») FDA-godkjent for dette systemet, som samtidig var den første multipleks-hurtigttesten for CNS-infeksjon som kom på markedet [4]. Dette panelet kan påvise 14 relevante bakterier, virus og sopp i 200 µl spinalvæske i løpet av 70 min, med erfaringsmessig ca. 10 min hands-on-tid.

Mikrobiologisk avdeling på Oslo Universitetssykehus (OUS) tok FilmArray ME i klinisk bruk i 2016. Ved verifiseringen så man at panelet hadde god overenstemmelse med egne metoder for alle mikroorganismene i panelet, testet ut på kliniske- eller preparerte («spiked») spinalvæskeprøver.

For å ha god kontroll med bruken, bestemte vi allerede ved innføringen at panelet kun kan rekvireres av medisinsk mikrobiolog basert på definerte kliniske kriterier (og/eller):

- Spinalvæske fra pasienter med mistenkt meningitt eller encefalitt med symptomer under fem dager.
- Indikasjon for flere PCR-analyser.
- Helg / utenfor ordinær åpningstid.
- Antibiotika gitt før spinalpunksjon.
- Blakket spinalvæske eller celler i spinalvæsken.
- Andre klinisk viktige begrunnelser.

For å kunne vurdere klinisk nytte, skal ansvarlig mikrobiolog fylle ut en enkel Case Report Form (CRF) hvor informasjon om klinikk, spinalvæske-morfologi og begrunnelse for analysevalg blir registrert (se vedlegg 1: *FilmArray-Spv vurderingsskjema*). Alle resultater ringes ut til rekvirerende lege, også for å kunne diskutere antibiotikabehandling.

Man har i parallell dyrket spinalvæske, samt i flere tilfeller gjort reanalyse med in-house molekylæranalyser, der man har ansett det som nødvendig.

Fra introduksjonen frem til i dag, har det blitt analysert 716 pasientprøver, hvorav 134 med påvist mikrobe (se tabell 1).

Tabell 1: BioFire Diagnostics FilmArray ME, Resultater Oslo Universitetssykehus august 2016 – 15. september 2019

Gruppe	Mikrobe	Antall påvist
Virus	Cytomegalovirus (CMV)	2
	Enterovirus (EV)	40
	Herpes simplex virus-1 (HSV-1)	4
	Herpes simplex virus-2 (HSV-2)	14
	Humant herpesvirus-6 (HHV-6)	14
	Humant parechovirus	3
	Varicella zoster virus (VZV)	14
Bakterier	<i>Escheria coli K1</i>	2
	<i>Haemophilus influenzae</i>	3
	<i>Listeria monocytogenes</i>	0
	<i>Neisseria meningitidis</i>	7
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	6
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	25
Sopp	<i>Cryptococcus gattii / neoformans</i>	0
Sum Analyser	716 pasientprøver	134 (19 %)

Egne erfaringer

Syndrombasert hurtigdiagnostikk for CNS-infeksjoner har blitt innført flere steder i Norge. Erfaringene med FilmArray ME på OUS har vært positive både for klinikere og for laboratoriet. Man dekker behovet for raske analysesvar også utenfor normal åpningstid. En positiv-rate på 19 % tyder i alle fall ikke på at panelet benyttes ukritisk, man kan heller spørre seg om indikasjonsstillingen er for streng.

Vi har likevel sett et eksempel på mulig falsk positivt HSV-1 i FilmArray ME som var negativ ved in-house PCR. Dette kan muligens forklares med lavere sensitivitet for HSV-1 i vår in-house-metode enn for FilmArray ME. I et annet tilfelle fikk vi et falskt negativt resultat for HSV-1 hos en overflyttet pasient, men her dreier det seg trolig om brukerfeil. Vi har også påvist HHV-6 i flere tilfeller, enten som eneste funn eller som bifunn. Dette byr på tolkningsproblemer, da den kliniske betydningen av dette viruset hos ikke-encefalittiske pasienter er usikker, også med tanke på kromosomalt integrert HHV-6 [5, 6].

Samlet sett har vi erfart at FilmArray ME er et meget godt hjelpemiddel i utredningen av pasienter med mistenkt meningitt og encefalitt. Man må likevel være kritisk hvis man får positive- eller negative resultatet som ikke passer med klinikk eller andre funn. Overraskende funn bør diskuteres med kliniker og man bør verifisere funnet med alternativ test. Dette gjelder særlig negativt resultat for HSV eller VZV hos pasienter med

sterk klinisk mistanke. Her må man ved kort sykehistorie i tillegg ta høyde for falsk negative resultater i «det diagnostiske vinduet».

Generelle betraktninger

Fordeler

Fordelene med hurtigpanel for CNS-infeksjoner er mange. Det er viktig å få raskt positivt- eller negativt svar med tanke på korrekt antibiotikavalg [7]. Pasienter med mistenkt meningitt eller encefalitt har dessuten ofte fått empirisk antibiotikabehandling før spinalpunksjon. Høysensitive molekylærbaserte metoder som FilmArray ME kan påvise relevante mikrober som pneumokokker i dyrkningsnegative spinalvæsker fra disse pasientene, noe også vår erfaring viser. Et positivt resultat ved viral meningitt som Enterovirus, med ellers negative funn og passende klinikk, kan føre til at kliniker kan seponere behandling. Et raskt svar på HSV kan underbygge oppstart eller seponering av acyklovir.

Samlet sett kan raske svar føre til:

- Tidligere overgang fra bredspektret- til smalere patogen-spesifikk antibiotikabehandling og dermed potensielt mindre antibiotikaresistens.
- At pasientene spares for unødvendige undersøkelser i påvente av prøvesvar.
- Færre komplikasjoner.
- Raskere tilfriskning og kortere liggetid.

Ulemper

Som ved annen syndrombasert hurtigdiagnostikk finnes det flere ulemper eller potensielle problemer med FilmArray ME:

- FilmArray er en «black-box» som gir brukeren lite innsyn i hva som skjer underveis. I programvaren kan en kyndig bruker vurdere smeltepunktsskurver, men all annen feilsøking må gjøres av produsenten. Man har derfor lite kontroll over eventuelle feil.
- Som andre molekylære metoder er FilmArray ME svært sensitiv og dermed følsom for kontaminasjon.
- Det testes kun for de angitte mikrober i panelet. Flere relevante mikrober som gule- og hvite stafylokokker, *Cutibacterium acnes* eller gramnegative mikrober er ikke inkludert, mikrober som kan være relevante ved for eksempel shunt-infeksjoner. Ukjente mikrober må fortsatt undersøkes med 16S, NGS eller andre metoder.
- Opportunistiske mikrober som ulike sopp, mykobakterier eller JC-virus er ikke en del av panelet.
- Man får svar for agens man ellers ikke ville ha testet for. Eksempel på dette er HHV-6 som beskrevet over. Slike funn kan være vanskelige å tolke og kan muligens medføre unødvendig behandling.
- Høy kostnad per analyse krever nøye utvelgelse av relevante prøver. Dette kan føre til underforbruk av panelet.

Diskusjonspunkter/anbefalinger

For å sikre riktig bruk av panelbasert hurtigdiagnostikk, bør fagmiljøet bli enige om anbefalte kjøreregler ved anskaffelse og klinisk bruk:

- a. Mikrobiologiske avdelinger bør ha ansvaret for anskaffelse og drift av panelbasert hurtigdiagnostikk for å sikre kvalitet og forsvarlig bruk [8].
- b. Hvert enkelt foretak eller avdeling må på forhånd vurdere om analysepakken som tilbys er relevant for eget bruk.
- c. Som annen ny diagnostikk, må også hurtigdiagnostikk verifiseres lokalt for å sikre at analysen påviser det den sier at den gjør.
- d. Panelene bør kun benyttes på den pasientgruppen og det prøvematerialet det er beregnet på. Ukritisk bruk vil kunne føre til flere falsk positive svar i tillegg til dårlig ressursbruk.
- e. «Importance of clinical correlation»: Et funn må passe til klinikk/andre prøveresultater. Passer ikke klinikk med et funn, bør prøven reanalyseres med en annen metode. Alle svar bør tolkes og valideres av medisinsk mikrobiolog i samarbeid med behandlende lege for å unngå feiltolkning og også for å kunne oppdage evt. tekniske feil.
- f. Også negative funn er viktig.
- g. Man må ha et system for opplæring av brukere, samt sørge for vedlikehold og regelmessig kvalitetskontroll (analysering av positive og negative kontrollprøver).
- h. Man må ha egnet rom/avtrekkskap som sikrer at prøvemateriale appliseres under rene forhold, for å hindre kontaminasjon.
- i. Resultater må overføres direkte til laboratory information management system (LIMS) for å sikre at svar lagres forsvarlig i pasientjournal og for å sikre sporbarhet.
- j. Hurtigdiagnostikk for meningitt og encefalitt bør være tilgjengelig på døgnbasis 24/7 for å utnytte potensialet og for å sikre god pasientbehandling. En slik tilgjengelighet bør dog ikke gå på bekostning av analysekvalitet.

Konklusjon

Panelbasert hurtigdiagnostikk for CNS-infeksjoner spiller allerede i dag en viktig rolle. Det er viktig å tilby slik diagnostikk for å sikre god pasientbehandling. Man bør derfor arbeide for god tilgjengelighet på døgnbasis, men sikre at dette gjøres forsvarlig.

Som annen diagnostikk, kan også hurtigdiagnostiske paneler gi falsk positive- og negative svar. Dette kan ha spesielt alvorlige konsekvenser ved CNS-infeksjoner. Man må derfor ha et system for kvalitetssikring av slike paneler, samt et system som sikrer at slike paneler benyttes forsvarlig.

Referanser

- 1 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):813-6.

- 2 Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ, Pritt BS, Patel R. Syndromic Panel-Based Testing in Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 2018;31(1).
- 3 UpToDate. UpToDate: Molecular diagnosis of central nervous system infections. UpToDate. 2019.
- 4 Liesman RM, Strasburg AP, Heitman AK, Theel ES, Patel R, Binnicker MJ. Evaluation of a Commercial Multiplex Molecular Panel for Diagnosis of Infectious Meningitis and Encephalitis. *J Clin Microbiol.* 2018;56(4).
- 5 Aurelius, Bengnér, Fohlman, Franzen-Röhl, Günther, Lindquist. Vårdprogram för Virala CNS-infektioner. Svenska Infektionsläkarföreningen. 2016.
- 6 Green DA, Pereira M, Miko B, Radmard S, Whittier S, Thakur K. Clinical Significance of Human Herpesvirus 6 Positivity on the FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel. *Clin Infect Dis.* 2018;67(7):1125-8.
- 7 Organization WH. Diagnostic stewardship: a guide to implementation in antimicrobial resistance surveillance sites. 2016.
- 8 Lisby, et. a. Anbefalinger vedrørende implementering og anvendelse af Point-of-Care teknologi til diagnostik af infektionssygdomme, Rapport fra udvalg vedrørende Point-of-Care diagnostik nedsat af Dansk Selskab for Klinisk Mikrobiologi. Dansk Selskab for Klinisk Mikrobiologi. 2016.

Intratekal antistoffproduksjon

Gro Njølstad, Mikrobiologisk avdeling, Haukeland universitetssjukehus
gro.njoelstad@helse-bergen.no

Agens

HSV- og VZV-intratekal antistoffproduksjon undersøkes oftest i Norge ved klinisk mistanke om meningoencefalitt med negativ PCR eller ved utredning av uklart symptombilde. Ratio-undersøkelse kan også utføres for andre virus, eksempelvis CMV, meslingvirus, kusmavirus, japansk encefalitt-virus, vestnilvirus og skogflåttencefalitt-virus (TBE).

Demyeliniserende sykdommer i sentralnervesystemet (CNS), for eksempel Multipel sklerose (MS), initierer også intratekal antistoffproduksjon og gjerne mot flere virusantigener. Dette kalles MRZ-reaksjon da antistoffer mot meslingvirus (M), rubellavirus (R) og varicella zoster-virus (Z) detekteres hyppigst. Omtrent 85-90% av MS pasienter har positiv MRZ-reaksjon og ca. 25% har også intratekal anti-borrelia produksjon.

Tabell 1. Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *Journal of the Neurological Sciences*. 2001; 101-122

Table 1
Humoral immune response patterns in CNS at time of first diagnostic CSF puncture

Reaction type	Disease
No IgG, IgA, IgM IgG dominance	Early bacterial meningitis and viral encephalitis, Guillain-Barré polyradiculitis Multiple sclerosis (lower frequency of IgM, 25%, and IgA, 9%) Neurosyphilis (low frequencies of increased IgM, no IgA) Chronic HIV encephalitis
IgA dominance	Neurotuberculosis (IgA dominant with weak IgG response) Brain abscess Adrenoleukodystrophy
IgM dominance	Lyme neuroborreliosis (IgM dominant: $IgM_{IF} > IgA_{IF} > IgG_{IF}$) Mumps meningoencephalitis (IgM dominant) Non-Hodgkin lymphoma involving CNS (isolated $IgM_{IF} > 0$)
IgG + IgA + IgM	Opportunistic infections (CMV, toxoplasmosis)

Prøvemateriale

Spinalvæske og serum tas samtidig for ratio-undersøkelse og analyseres parallelt. Ideelt kan parallell undersøkelse med spinalvæske og serum tatt noen uker ut i sykdomsforløpet utføres. Metode for antistoffpåvisning må være validert for spinalvæske som prøvemateriale.

Tidspunkt

Totalt celletall i cerebrospinalvæske (CSF) er en sensitiv parameter for å karakterisere en akutt inflammatorisk sykdom i sentralnervesystemet. I normal spinalvæske sees ca. 0-4 leukocytter per ul. Fellestrekk ved inflammatoriske prosesser som skyldes virus er dominerende mononukleære celler i CSF og fravær av tidlig intratekal humoral immunrespons.

Spinalvæskeantistoffer mot virusantigener kan vanligvis påvises i prøver tatt (7-) ≥ 10 dager etter sykdomsdebut.

Kusma er et av unntakene hvor det ved første/tidlig spinalpunksjon evt. kan påvises en immunrespons med overvekt av IgM-syntese som ved nevroborreliose. Det samme gjelder for enkelte virus ved importfeber; japansk encefalitt-virus, vestnilvirus.

Det er beskrevet at pasienter med gjennomgått encefalitt kan ha patologisk ratio i opptil flere måneder og år.

Metode

Ved ratiobestemmelse bestemmes forholdet mellom spesifikke IgG-, IgA eller IgM-antistoffer i serum og spinalvæske. IgG-antistoffer benyttes mest ved viral årsak til encefalitt.

Forholdet mellom antistoffer i serum og spinalvæske endres ved akutt meningoencefalitt på grunn av intratekal antistoffproduksjon. Det samme gjelder ved cerebral vaskulitt som skyldes VZV.

Påvisning av økt mengde antistoffer i spinalvæsken kan også skyldes barrieresvikt/reduert flow slik at ratio-undersøkelsen bør inkludere en markør for dette. To ulike tilnærminger er Reiber-metoden, som benytter CSF/serum-albuminratio, og antistoff indeks som benytter CSF/serum-total Ig-ratio til å korrigere for barrieresvikt.

Tabell 2. Reiber H: Knowledge-base for interpretation of cerebrospinal fluid data patterns. Essentials in neurology and psychiatry Arq. Neuro-Psiquiatr. 2016. Table 1 Serum proteins in normal serum and normal CSF. The concentration gradient CSF: serum (CSF: S) depends on the mean molecular radius, R, corresponding only roughly with molecular weight, MW.

Variable	MW (kD)	R (nm)	CSF: S	Serum	CSF	
			Mean	Range (g/l)	median (mg/l)	CV (%)
Alb	69	3.58	1:200	35-55	250	45
IgG	150	5.34	1:429	7-16	26	68
IgA	160	5.68	1:775	0.7-4.5	3.3	70
IgM	971	12.1	1:3300	0.4-2.6	0.44	105

ALBUMIN produseres kun utenfor CNS. Endringer i albumin konsentrasjons-kvotienten skyldes derfor alltid blod-spinalvæske barriere dysfunksjon.

$$Q_{Alb} = CSF_{Alb} / Serum_{Alb}$$

ANDRE PROTEINER, f.eks. IgG produseres både utenfor og i CNS. Økning av IgG i CSF skyldes derfor intratekal syntese og/eller blod-spinalvæske barriere dysfunksjon. Sammenligner IgG-kvotient (QIgG) med albumin-kvotient (QAlb).

'REIBERGRAM'

Reibergram er et diagram laget av Hansotto Reiber som viser sammenhengen mellom QAlb og Q IgA/G/M basert på data fra ca. 4300 spinalpunkterte pasienter med ulike sykdommer i CNS. Reiber har satt opp en grenseverdi (QLim) som angir årsaken til funn av antistoffer i spinalvæske.

Antistoffene er enten syntetisert i CNS, de skyldes en blod-hjerne-barriere dysfunksjon, eller funnet skyldes en kombinasjon av de to. QLim er forskjellig for de ulike klassene av

immunglobuliner.

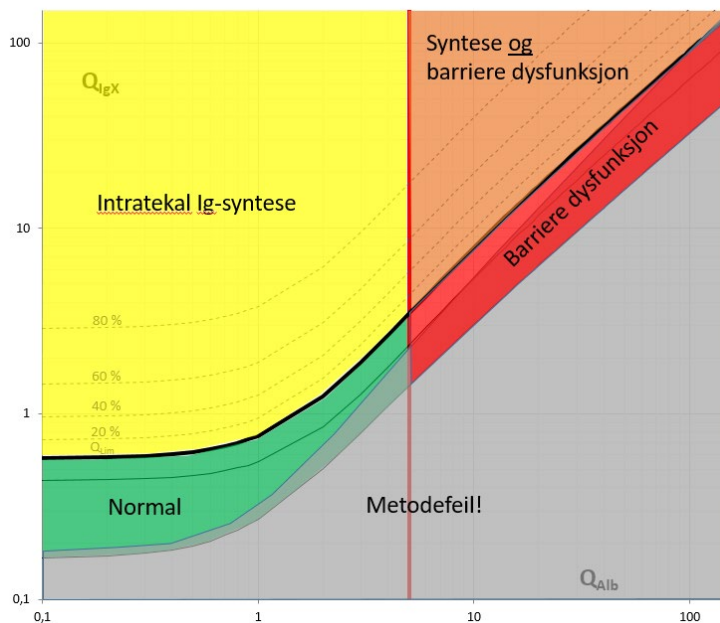
De stiplede linjene over Q_{Lim} er hjelpelinjer som angir fraksjonen av immunglobulin som er intratekalt syntetisert. Jo lengre et punkt er fra Q_{Lim} , jo høyere fraksjon er syntetisert intratekalt.

Den vertikale linjen er en aldersbetinget grense for barriere dysfunksjon. Punkter til høyre for denne linjen indikerer dysfunksjon. Denne grensen er kun gyldig for pasienter > 5 år.

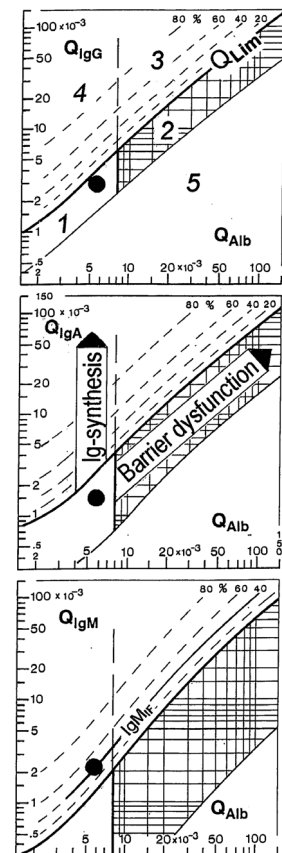
Ved fødsel, før modning av arachnoidal villi, vil en langsom CSF turnover medføre høy konsentrasjon av serumproteiner i CSF dvs. en høy albumin kvotient. Q_{Alb} minsker med økende CSF flow de første 4 levemåneder.

Innføring av data fra en pasientprøve vil gjøre at man havner i et av fem områder i 'Reibergrammet':

1. Normal
2. Ren blod-hjerne barriere dysfunksjon / sirkulasjonsforstyrrelse
3. Intratekal immunglobulin-syntese med blod-hjerne barriere dysfunksjon / sirkulasjonsforstyrrelse
4. Intratekal immunglobulin- syntese uten blod-hjerne barriere dysfunksjon / sirkulasjonsforstyrrelse
5. Indikerer metodefeil



Figur 1. Christoffer Lindemann 2018



Figur 2. Hansotto Reiber 2001

ANTISTOFFINDEKS (AI)

Antistoffindeks brukes for å påvise patologisk fraksjon med opphav i CNS for et spesifikt antistoff. Indeksen er en ratio mellom konsentrasjonskvotienten av spesifikt antistoff og konsentrasjonskvotienten av totalt immunglobulin. Sammenligner altså CSF/serum forholdet mellom totalt immunglobulin og spesifikt immunglobulin.

$$AI = Q_{\text{Spes}} / Q_{\text{Ig}}$$

Normal AI = 1,0 (0,7-1,3)

AI ≥ 1,5 indikerer at det er hovedsakelig spesifikke antistoffer som detekteres intratekalt

AI ≤ 1,3 taler mot at det er en overvekt av spesifikke antistoffer i spinalvæsken

Tabell 3. Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *Journal of the Neurological Sciences*. 2001; 101-122

Table 4
Examples of Antibody Index values (AI) in inflammatory neurological diseases^a

	SSPE	VZV-G	HSV-Enceph		HIV-Enceph		MS	Neuroborreliosis	
			A	B	WR2	WR6		Acute	Chronic
Measles V AI	89.5	1.0	0.9	1.0	0.9	1.1	4.3	0.8	3.2
Rubella V AI	0.9	1.0	0.8	0.9	1.0	0.9	2.0	1.0	7.9
VZV AI	1.0	9.0	0.7	9.4	1.1	1.0	3.1	0.9	0.9
HSV AI	1.1	1.5	1.2	27.0	0.9	2.3	1.2	1.0	2.6
HIV AI	–	–	–	–	5.4	4.2	–	–	–
<i>Borrelia</i> (IgG) AI	–	1.0	–	–	–	–	0.7	8.6	19.3
<i>Borrelia</i> (IgM) AI	–	0.9	–	–	–	–	0.8	4.3	10.1

^a SSPE (Subacute Sclerosing Panencephalitis), the high AI values far exceed the polyspecific response in multiple sclerosis with measles AI < 40. VZV-G (Zoster ganglionitis), a biological co-reaction is seen in many cases but is not a cross-reactivity in the assay. A higher antibody titer in CSF and serum is observed for the causative virus. HSV-Enceph (Herpes Simplex Encephalitis) with data from the same patient: A, initial diagnostic puncture; B, 11 days later. Another example is shown in Fig. 8b. For co-stimulation, see comment to VZV-G. HIV-Enceph (HIV-Encephalitis) – WR2 and WR6 (Walter Reed 2 and 6). MS, multiple sclerosis. Neuroborreliosis, an acute type and a rare chronic type of the disease. The chronic type does not develop from an acute form of the disease. Pathologic values are the bold numbers. For a corresponding set of data from different patients, see Ref. [8].

FEILKILDER

Diagrammene er ikke gyldige i sjeldne tilfeller der blodkontaminasjon er kombinert med veldig lav QAlb. Ved blodtilblanding av spinalvæske (>7000 RBC/μl) er kvotientene for IgG og IgM ikke gyldige. Likevel kan aldri QIgG overstige QAlb uten tilstedeværelse av intratekal IgG-syntese.

Aldersavhengig grense for QAlb ved barriereskade er kun gyldige for lumbalt tappet spinalvæske.

Diskusjonspunkter

- Ratiobestemmelse spinalvæske/serum bør kunne tilbys nasjonalt – regionalt - lokalt?
- Oppbevaring av spinalvæske? Serum og spinalvæske tatt på tidspunkt for sykdomsdebut bør oppbevares for eventuelt senere undersøkelse mtp. antistoff økning, spesielt ved negativ PCR?

- c. Aktuelle agens: HSV, VZV, ... kusmavirus, CMV? Meslingvirus, TBE, importvirus, andre?
- d. HSV og VZV bør alltid undersøkes sammen? Hva med importvirus?
- e. Hvilken markør for barrieresvikt bør inngå i undersøkelsen?
- f. Mønstergjenkjenning ved 'Reibergram' bør benyttes i tillegg til antistoffindeks?
- g. Ved myelitt/nevritt/radikulitt kan/bør ratiobestemmelse gjøres i tillegg til PCR i prøver tatt mer enn 2 uker etter sykdomsstart?

Referanser

- 1 Reiber H, Lange P. Quantification of virus-specific antibodies in cerebrospinal fluid and serum: sensitive and specific detection of antibody synthesis in brain. *Clinical Chemistry* 1991; 37/7, 1153-1160
- 2 Cinque P, Cleator GM, Weber T, Monteyne P, Sindic CJ, van Loon AM. The role of laboratory investigation in the diagnosis and management of patients with suspected herpes simplex encephalitis: a consensus report. The EU Concerted Action on Virus Meningitis and Encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996; 61:339e45
- 3 Reiber H, Ungefehr S and Jacobi Chr. The intrathecal, polyspecific and oligoclonal immune response in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis* (1998) 4, 111-117
- 4 Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *Journal of the Neurological Sciences*. 2001; 101-122
- 5 Reiber H, Otto M, Trendelenburg C, Wormek A. Reporting Cerebrospinal Fluid Data: Knowledge Base and Interpretation Software. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39(4): 324-332
- 6 Strategirapport 2002 Mikrobiologisk diagnostikk ved virale CNS-infeksjoner
- 7 Holzmann H. Diagnosis of tick-borne encephalitis. *Vaccine* 21 (2003) S1/36-S1/40
- 8 Bednarova J, Stourac P, Adam P. Relevance of immunological variables in neuroborreliosis and multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 2005; 112: 97-102
- 9 Christoffer Lindemann 2011: Diagram/skjema for tolkning og vurdering av antistoffer i spinalvæske ad modum Reibers
- 10 Jarius S, Eichorn P, Wildermann B, Wick M. Usefulness of antibody index assessment in cerebrospinal fluid from patients negative for total-IgG oligoklonal bands. *Fluids and barriers of the CNS* 2012, 9:14
- 11 Britton PN et al. Consensus guidelines for the investigation and management of encephalitis in adults and children in Australia and New Zealand. *Internal Medicine Journal* 45 (2015)
- 12 Reiber H. Knowledge-base for interpretation of cerebrospinal fluid data patterns. *Essentials in neurology and psychiatry. Arq. Neuro-Psiquiatr.* 2016; vol.74 no.6 São Paulo June
- 13 Jarius S, Eichhorn P, Franciotta D, Petereit HF, Akman-Demir G, Wick M, Wildemann B. The MRZ reaction as a highly specific marker of multiple sclerosis: re-evaluation and structured review of the literature. *Journal of Neurology* March 2017, Volume 264, Issue 3, pp 453-466

- 14 Skripuletz T, Pars K, Schulte A, Schwenkenbecher P, Yildiz Ö, Ganzenmueller T et al. Varicella zoster virus infections in neurological patients: a clinical study *BMC Infect Dis.* 2018 May 25;18(1):238.
- 15 UpToDate 2019: Viral encephalitis in adults. Aseptic meningitis in adults. Herpes simplex virus type 1 encephalitis. Varicella zoster virus vasculopathy. Epidemiology, clinical manifestations, and diagnosis of herpes zoster. Acute viral encephalitis in children: Clinical manifestations and diagnosis. Japanese encephalitis.
- 16 European Centre for Disease Prevention and Control 2019: Facts about Japanese encephalitis. Factsheet about tick-borne encephalitis (TBE). Factsheet about West Nile virus infection.
- 17 www.fhi.no: Skogflåttencefalitt (TBE-virusinfeksjoner). Vestnilfeber. Japansk encefalitt og andre myggoverførte encefalitter - veileder for helsepersonell.

Cytomegalovirus

Grete A. Birkeland Kro, OUS, Rikshospitalet
gbirke@ous-hf.no

Bakgrunn/CNS-infeksjon

CMV er en sjelden årsak til encefalitt [1-3]. CMV kan gi encefalitt hos immunsupprimerte, i hovedsak pasienter med AIDS [4]. De fleste encefalitter hos HIV-smittede skjer ved reaktivering av CMV. CMV-encefalitt hos immunfriske er beskrevet i kasuistikker, men er svært sjelden.

CMV kan gi encefalitt hos nyfødte med medfødt CMV-infeksjon. En ny spansk studie (n=136) fant at 15% av nyfødte med medfødt infeksjon hadde påvisbart CMV DNA i spinalvæsken [5]. Imidlertid er den prediktive verdien av å påvise CMV-DNA i spinalvæsken med tanke på vedvarende skader usikker, og rutinemessig spinalpunksjon er ikke anbefalt i norske eller internasjonale retningslinjer [6]. Norske retningslinjer anbefaler imidlertid antiviral behandling med valganciclovir til nyfødte der det påvises CMV i spinalvæsken.

60% har gjennomgått infeksjon med CMV. CMV kan lett reaktiveres fra sin latens ved ulike inflammasjonstilstander, og spesielt hvis det samtidig foreligger immunsuppresjon. Lavgradig reaktivering har ofte ingen klinisk betydning. Påvist virusmengde har betydning for vurdering av funnets betydning. Små mengder CMV-DNA kan påvises i spinalvæske uten klinisk korrelat. Generelt sett er det høyere mengde virus i spinalvæsken til immunsupprimerte pasienter.

Diagnostikk

Anbefalt diagnostikk er CMV- DNA påvisning med PCR i spinalvæske. Sensitiviteten til PCR analyser er 79 - 100% og spesifisitet 95% [4].

Dersom den primære CMV-DNA analysen er kvalitativ, bør det ved påvist CMV-DNA i tillegg utføres kvantitativ analyse da virusmengde har betydning for vurdering av funnets betydning. Kvantitativ PCR-analyse i spinalvæske utføres rutinemessig ved Referanselaboratoriet for CMV, OUS Rikshospitalet. Semikvantitativ PCR-analyse i spinalvæske utføres ved St.Olavs Hospital. Laboratoriene ved Haukeland Universitetssjukehus, Universitetssykehuset Nord-Norge, Drammen Sykehus og Sykehuset i Vestfold har også mulighet til å utføre analysen. Flere laboratorier har CMV inkludert i syndrombaserte multiplex PCR-paneler.

Ved Referanselaboratoriet for CMV ble det hos en nyfødt påvist CMV-DNA i lav mengde med inhouse PCR-analyse etter at det *ikke* ble påvist CMV-DNA på syndrombasert multiplex PCR (FilmArray®). Ved reell mistanke om CMV-infeksjon i CNS bør det derfor vurderes å utføre standard PCR-analyse dersom multiplex PCR-analyse er negativ.

Ved mistanke om CMV-encefalitt anbefales også at det utføres antistoffanalyser samt CMV-DNA-PCR i plasma/blod.

Tolkning av funn i spinalvæske

Nyfødte med mistanke om medfødt CMV-infeksjon: Norske retningslinjer anbefaler antiviral behandling med valganciclovir til nyfødte med påvist CMV i spinalvæsken. Dersom CMV-DNA påvises i spinalvæske bør det for å sikre diagnosen også utføres CMV-DNA analyse i blod, urin og spytt [7].

Immunsupprimerte med klinisk encefalitt: Hos immunsupprimerte og da spesielt benmarg- og stamcelletransplanterte pasienter tillegges funn av CMV i spinalvæske betydning, men det må alltid letes etter annen årsak til encefalitt.

Tilfeldig funn/atypiske symptomer: CMV kan gi CNS-infeksjon, men små mengder CMV kan også påvises i spinalvæske uten sikkert klinisk korrelat. CMV kan reaktiveres pga av annen inflammasjonstilstand, spesielt hvis det samtidig foreligger immunsuppresjon. Lav virusmengde har i denne sammenhengen usikker betydning. Moderat og høy virusmengde må vanligvis tillegges betydning. Det finnes ikke konsensus for hva som er lav, moderat og høy virusmengde i spinalvæske, og dette vil også kunne være forskjellig mellom ulike PCR-analyser. Ved referanselaboratoriet for CMV regnes under ca 500 IU/ml for lavt. Ved funn av CMV i spinalvæske må klinisk betydning vurderes ut fra klinikk og resultatene av andre undersøkelser.

Hovedpunkter og anbefalinger

- a. Cytomegalovirus (CMV) er en sjelden årsak til encefalitt
- b. CMV-DNA PCR anbefales utført i spinalvæske hos pasienter der det ut fra kliniske opplysninger og evt funn er mistanke om CMV-encefalitt/meningoencefalitt
- c. Det anbefales kvantitativ/semikvantitativ PCR-analyse, alternativt videresending av positive prøver for kvantitering.
- d. Betydningen av påvist CMV-DNA i spinalvæske må vurderes ut fra klinikk og øvrige funn

Diskusjonspunkter

- a. Bør CMV-DNA-analyse utføres hos immunsupprimerte dersom det ikke påvises herpes simplex-, varicella-zoster- eller enterovirus i spinalvæsken?
- b. Hva gjør vi når CMV-DNA påvises på multiplex PCR uten at det er mistanke om CMV-infeksjon?

Referanser

- 1 Parisi SG, Basso M, Del Vecchio C, Andreis S, Franchin E, Bello FD, et al. Virological testing of cerebrospinal fluid in children aged less than 14 years with a suspected central nervous system infection: A retrospective study on 304 consecutive children from January 2012 to May 2015. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society*. 2016;20(4):588-96.
- 2 Parisi SG, Basso M, Del Vecchio C, Andreis S, Franchin E, Dal Bello F, et al. Viral infections of the central nervous system in elderly patients: a retrospective study. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2016;44:8-10.

- 3 Singh TD, Fugate JE, Rabinstein AA. The spectrum of acute encephalitis: causes, management, and predictors of outcome. *Neurology*. 2015;84(4):359-66.
- 4 Arribas JR, Storch GA, Clifford DB, Tselis AC. Cytomegalovirus encephalitis. *Annals of internal medicine*. 1996;125(7):577-87.
- 5 Goycochea-Valdivia WA, Baquero-Artigao F, Del Rosal T, Frick MA, Rojo P, Echeverria MJ, et al. Cytomegalovirus DNA Detection by Polymerase Chain Reaction in Cerebrospinal Fluid of Infants With Congenital Infection: Associations With Clinical Evaluation at Birth and Implications for Follow-up. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2017;64(10):1335-42.
- 6 Luck SE, Wieringa JW, Blazquez-Gamero D, Henneke P, Schuster K, Butler K, et al. Congenital Cytomegalovirus: A European Expert Consensus Statement on Diagnosis and Management. *The Pediatric infectious disease journal*. 2017;36(12):1205-13.
- 7 Barlind R NS, Njølstad G, Kro GB. . Strategimøte 2018 Diagnostikk av infeksjoner hos gravide, foster og nyfødte - en oppdatering. 2019.

Epstein-Barr-virus

Grete A. Birkeland Kro, OUS, Rikshospitalet

gbirke@ous-hf.no

Bakgrunn

EBV smitter via spytt og infiserer B-celler og mulig epitelceller i svelget. Etter primærinfeksjon etableres latens i B-hukommelsesceller [1]. 90% av voksne har gjennomgått infeksjon med EBV.

Hos barn er primær EBV-infeksjon ofte asymptomatisk eller gir uspesifikk febersykdom. Ved primærinfeksjon hos ungdom og voksne er mononukleose det typiske kliniske bildet. Kronisk aktiv EBV-infeksjon er en sjelden komplikasjon etter primærinfeksjon [1].

Asymtomatisk reaktivering med utskillelse av virus i luftveissekreter er vanlig, også hos immunfriske. Immunsupprimerte med dårlig T-cellefunksjon vil ha redusert kontroll over proliferasjonen til EBV-infiserte B-celler. Dette gjør at disse cellene kan transformeres så de udødeliggjøres og gir malign lymfoproliferasjon [1].

Reaktivering av EBV kan gi sykdom hos immunsupprimerte. Immunsupprimerte, spesielt de som får primær EBV-infeksjon, har risiko for lymfoproliferativ sykdom som post transplant lymfoproliferativ sykdom (PTLD).

CNS-infeksjon

EBV er en sjelden årsak til CNS-infeksjon [2]. EBV er rapportert å kunne gi encefalitt, meningitt, meningoencefalitt og lymfoproliferativ sykdom i CNS [3].

De fleste som får påvist EBV i spinalvæske er immunsupprimerte, spesielt stamcelletransplanterte, organtransplanterte og AIDS pasienter. Her vil det imidlertid være et seleksjonsbias da EBV oftest ikke undersøkes i spinalvæske hos immunfriske. EBV-DNA påvises ofte sammen med andre agens eller der det er sterk mistanke om andre agens [3]. Årsaksforholdet er derfor ofte vanskelig å bevise [4].

CNS- infeksjon kan også ses ved primær EBV-infeksjon hos immunfriske [1, 3].

Hos pasienter med post-transplant lymfom i CNS, påvises ofte høye mengder EBV-DNA. Imidlertid kan det hos noen ikke påvises EBV i spinalvæske eller blod, selv om EBV-DNA påvises i biopsi fra lymfomet [5].

Diagnostikk

Anbefalt diagnostikk er EBV-DNA påvisning med PCR i spinalvæske. Kvantitativ eller semikvantitativ PCR-analyse anbefales da små virusmengder oftere er uten klinisk betydning.

Kvantitativ EBV-DNA analyse i spinalvæske utføres ved Oslo Universitetssykehus Rikshospitalet. Semikvantitativ analyse utføres ved St.Olavs hospital og kvalitativ analyse utføres ved Haukeland Universitetssjukehus.

Ved mistanke om EBV-infeksjon i CNS anbefales også at det utføres EBV IgG- og IgM antistoffanalyser samt EBV-DNA-PCR i plasma/blod.

Tolkning av funn i spinalvæske

Primær EBV-infeksjon: Ved nevrologiske symptomer tillegges påvisning av EBV klinisk betydning, men det må alltid letes etter annen mulig årsak til encefalitt.

Klinisk encefalitt: Hos pasienter med encefalittsymptomer må påvisning av EBV i spinalvæske som hovedregel tillegges betydning, men det må alltid letes etter annen mulig årsak til encefalitt.

EBV-assosiert Post-transplant lymfom i CNS: Funn av EBV-DNA i spinalvæske må som hovedregel tillegges betydning. Manglende funn av EBV-DNA utelukker ikke PTLD lymfom i CNS.

Tilfeldig funn/utypiske symptomer: EBV kan gi CNS-infeksjon, men små mengder EBV kan også påvises i spinalvæske uten sikkert klinisk korrelat. EBV kan lett reaktiveres fra sin latens ved ulike inflammasjonstilstander, og spesielt hvis det samtidig foreligger immunsuppresjon. Ved funn av EBV i spinalvæske må derfor klinisk betydning vurderes ut fra klinikk og resultatene av andre undersøkelser.

Hovedpunkter og anbefalinger

- a. Epstein-Barr-virus (EBV) er en sjelden årsak til encefalitt
- b. EBV-DNA-PCR anbefales utført i spinalvæske hos immunsupprimerte der det er mistanke om EBV som årsak til encefalitt/meningoencefalitt/meningitt.
- c. EBV-DNA-PCR anbefales utført i spinalvæske ved mistanke om lymfoproliferativ sykdom i CNS
- d. Det anbefales kvantitativ eller semikvantitativ PCR-analyse
- e. Betydningen av påvist EBV-DNA i spinalvæske må vurderes ut fra klinikk og øvrige funn

Diskusjonspunkt

- a. Bør EBV-DNA analyse i spinalvæske utføres hos immunsupprimerte dersom det ikke påvises herpes simplex-, varicella-zoster- eller enterovirus i spinalvæsken?

Referanser

- 1 Cohen JI. Epstein-Barr virus infection. The New England journal of medicine. 2000;343(7):481-92.
- 2 Mailles A, Stahl JP. Infectious encephalitis in france in 2007: a national prospective study. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2009;49(12):1838-47.
- 3 Martelius T, Lappalainen M, Palomaki M, Anttila VJ. Clinical characteristics of patients with Epstein Barr virus in cerebrospinal fluid. BMC infectious diseases. 2011;11:281.
- 4 Plentz A, Jilg W, Kochanowski B, Ibach B, Knoll A. Detection of herpesvirus DNA in cerebrospinal fluid and correlation with clinical symptoms. Infection. 2008;36(2):158-62.
- 5 Velvet AJJ, Bhutani S, Papachristos S, Dwivedi R, Picton M, Augustine T, et al. A single-center experience of post-transplant lymphomas involving the central nervous system with a review of current literature. Oncotarget. 2019;10(4):437-48.

Humant herpesvirus 6

Grete A. Birkeland Kro, OUS, Rikshospitalet

gbirke@ous-hf.no

Bakgrunn

Det finnes to typer Humant herpesvirus 6 (HHV6): HHV-6A og HHV-6B. HHV-6B forårsaker de fleste klinisk anerkjente infeksjonene i vestlige land (97-100%).

HHV-6 replikerer i hovedsak i aktiverte CD4+ T-lymfocytter, men kan også infisere flere andre celletyper. Etter primærinfeksjon etableres latens i immunceller som monocytter og makrofager og viruset kan f.eks påvises i hjernevev hos personer uten tegn til encefalitt [1-3].

Smitte skjer via spytt [2]. De aller fleste gjennomgår infeksjon med HHV-6 før 2-års alder. Omtrent 0,5 % av befolkningen har kromosomalt integrert HHV-6 [1].

Primærinfeksjon med HHV-6 gir oftest en kortvarig febersykdom uten utslett, men kan også forårsake den 6. barnesykdom/tredagersfeber(10-24%), være asyptomatisk, eller gi et mononukleoselignende bilde. HHV-6 er assosiert med feberkramper. I sjeldne tilfeller kan HHV-6 gi alvorlig infeksjon med CNS-affeksjon, sekveler og evt dødelig utfall.

Hos immunsupprimerte er reaktivering av HHV-6 vanlig. HHV-6 viremi kan påvises hos ca 50% av beinmarg- og organtransplanterte, spesielt 2-6 uker etter transplantasjonen [1].

CNS-infeksjon

Immunsupprimerte, spesielt beinmargs- og organtransplanterte, er utsatt for HHV-6 encefalitt grunnet reaktivering av HHV-6. HHV-6 er den vanligste årsaken til encefalitt hos beinmargstransplanterte. Imidlertid har studier også påvist HHV-6 i spinalvæske hos beinmargstransplanterte der det ble funnet annen årsak til symptomene [4].

Primær HHV-6 infeksjon kan gi akutt encefalitt og meningoencefalitt hos immunfriske barn med primærinfeksjon [2]. Personer med kromosomalt integrert HHV-6 kan også være mer utsatt for CNS-infeksjon med viruset. [1]

Diagnosen HHV-6 encefalitt kan være vanskelig å stille. I en japansk studie fant man at 30% av barn med primær HHV-6 infeksjon og nedsatt bevissthet hadde påvisbare, men lave nivåer av HHV-6 i spinalvæsken [5]. I en annen studie ble det påvist lave nivåer av HHV-6 i spinalvæske hos 7 av 13 barn med HHV-6 encefalitt. Hos 12 av de 13 ble HHV-6 påvist i serum, og nivået i serum var høyere enn i spinalvæske[6].

Ved HHV-6-encefalitt etter beinmargstransplantasjon er celletall i spinalvæsken ofte normal, men noen har økt proteinnivå [1]. Beinmargstransplanterte kan ha påvisbart HHV-6 i spinalvæske uten at de har klinikk som passer med HHV-6 encefalitt. Pasienter med klinisk HHV-6 infeksjon i CNS har høyere gjennomsnittlig virusmengde i spinalvæsken enn pasienter med tilfeldig funn av HHV-6. Imidlertid er virusnivå betydelig overlappende mellom gruppene og kvantiteringen kan derfor ikke skille mellom HHV-6 encefalitt og ikke-HHV-6 encefalitt [5].

Diagnostikk

Gullstandard er påvisning av HHV-6 DNA med PCR i spinalvæske.

Kvantitativ/semikvantitativ PCR analyse kan være nyttig, spesielt for å følge et encefalittforløp [7]. Semikvantitativ analyse utføres ved St.Olavs Hospital. Ved OUS Rikshospitalet utføres kvalitativ analyse.

Flere laboratorier har HHV-6 inkludert i syndrombaserte multiplex PCR-paneler.

Der funn av HHV-6 i spinalvæske tillegges betydning anbefales at det utføres HHV-6 PCR i blod. Det bør også vurderes å sende hårrøtter til HHV-6 DNA analyse ved St.Olavs hospital for å påvise evt kromosomal integrert HHV-6.

Tolkning av funn i spinalvæske

Primærinfeksjon: (barn under 2 år med f. eks. exantema subitum, feberkramper) Ved nevrologiske symptomer tillegges påvisning av HHV-6 klinisk betydning.

Klinisk encefalitt: (barn over 2 år og voksne) Hos pasienter med encefalittsymptomer må påvisning av HHV-6 i spinalvæske som hovedregel tillegges betydning, men det må alltid letes etter annen mulig årsak til encefalitt.

Tilfeldig funn/utypiske symptomer: HHV-6 kan gi CNS-infeksjon, men små mengder HHV-6 kan også påvises i spinalvæske uten sikkert klinisk korrelat. HHV-6 kan lett reaktiveres fra sin latens ved ulike inflammasjonstilstander, og spesielt hvis det samtidig foreligger immunsuppresjon. Lavgradig reaktivering har oftest ingen klinisk betydning. Ved funn av HHV-6 må funnets betydning derfor vurderes ut fra klinikk og resultatene av andre undersøkelser og analyser.

Hovedpunkter og anbefalinger

- a. Humant herpesvirus 6 (HHV-6) er en sjelden årsak til encefalitt
- b. HHV-6-DNA-PCR anbefales utført i spinalvæske hos pasienter der det ut fra kliniske opplysninger og evt funn er mistanke om HHV-6-encefalitt.
- c. Det anbefales kvantitativ/semikvantitativ PCR-analyse, alternativt videresending av positive prøver for kvantitering.
- d. Betydningen av påvist HHV-6-DNA i spinalvæske må vurderes ut fra klinikk og øvrige funn

Diskusjonspunkter

- a. Bør HHV-6-DNA analyse utføres hos immunsupprimerte dersom det ikke påvises herpes simplex-, varicella-zoster- eller enterovirus i spinalvæsken?
- b. Hva gjør vi når HHV-6 DNA påvises i spinalvæske på multiplex PCR uten at det var mistanke om HHV6-infeksjon?

Referanser

- 1 Ongradi J, Ablashi DV, Yoshikawa T, Stercz B, Ogata M. Roseolovirus-associated encephalitis in immunocompetent and immunocompromised individuals. *Journal of neurovirology*. 2017;23(1):1-19.
- 2 Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Update on infections with human herpesviruses 6A, 6B, and 7. *Medecine et maladies infectieuses*. 2017;47(2):83-91.
- 3 Luppi M, Barozzi P, Maiorana A, Marasca R, Trovato R, Fano R, et al. Human herpesvirus-6: a survey of presence and distribution of genomic sequences in normal brain and neuroglial tumors. *Journal of medical virology*. 1995;47(1):105-11.
- 4 Hill JA, Boeckh MJ, Sedlak RH, Jerome KR, Zerr DM. Human herpesvirus 6 can be detected in cerebrospinal fluid without associated symptoms after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2014;61(2):289-92.
- 5 Kawamura Y, Sugata K, Ihira M, Mihara T, Mutoh T, Asano Y, et al. Different characteristics of human herpesvirus 6 encephalitis between primary infection and viral reactivation. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2011;51(1):12-9.
- 6 Kawabe S, Ito Y, Ohta R, Sofue A, Gotoh K, Morishima T, et al. Comparison of the levels of human herpesvirus 6 (HHV-6) DNA and cytokines in the cerebrospinal fluid and serum of children with HHV-6 encephalopathy. *Journal of medical virology*. 2010;82(8):1410-5.
- 7 Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. *Clinical microbiology reviews*. 2015;28(2):313-35.

HIV i CNS

Anne-Marte Bakken Kran, HIV referanselab, Avdeling for mikrobiologi, OUS Ullevål, og Folkehelseinstituttet
anne-martebakken.kran@fhi.no

Bakgrunn

HIV invaderer sentralnervesystemet (CNS) tidlig i forløpet av primær HIV-infeksjon, der viruset replikerer i infiltrerende makrofager og mikroglia-celler. Viruset vil persistere i CNS livet ut, og CNS kan fungere som et lukket system for HIV replikasjon (compartment) med lokal replikasjonsyklus og resistensutvikling uavhengig av virus i blodbanen og lymfoide vev. Flere antiretrovirale midler går over i spinalvæsken og hemmer virusreplikasjon lokalt. Ulike antiretrovirale medikamenter har derimot ulik grad av penetrasjon til CNS, noe som kan utgjøre en risiko for subterapeutiske medikamentkonsentrasjoner i spinalvæske. Før effektiv antiretroviral behandling (ART) var tilgjengelig, utviklet omkring 30% av pasienter med AIDS den alvorligste formen for HIV assosiert demens, og ved obduksjon ble forandringer forenelig med HIV encefalitt funnet hos de aller fleste [1]. Etter innføring av ART ble forekomsten av HIV demens og encefalitt betydelig redusert, men samtidig så man en økende forekomst av mildere former for HIV-assosierte nevrokognitive lidelser.

Status for temaet i dag

HIV kan affisere CNS enten direkte eller indirekte:

1. Tilstander forårsaket av direkte effekter av viruset:
 - a. Meningoencefalitt: Hiv-infeksjon i hjerne og hjernehinne. Opptrer ofte de første uker-måneder av infeksjonen.
 - b. Hiv-assosiert demens (HAD, tidligere kalt AIDS-dementia complex): Alvorlig encefalopati med skade av hjerneceller som følge av langvarig ubehandlet HIV-infeksjon.
 - c. HIV-assosiert nevrokognitiv sykdom (HIV-associated neurocognitive disorder, HAND): Mild affeksjon av kognitive funksjoner, som svekket hukommelse, personlighetsendringer, eller lette motoriske utfall.
2. Indirekte effekter: Opportunistiske infeksjoner i CNS som konsekvens av langtkommet immunsvikt.

HIV-analyser hos pasienter med CNS-affeksjon med ukjent HIV-status: Serologisk HIV-test i serum anbefales hos alle pasienter med encefalitt, meningoencefalitt eller encefalopati [2]. Dette for å utelukke meningoencefalitt forårsaket av HIV, for å belyse risiko for opportunistiske infeksjoner med tanke på videre diagnostisk utredning, og med tanke på HIV-assosiert nevrokognitiv sykdom.

Utredning av encefalopati eller andre nevrokognitive symptomer hos pasienter med HIV-infeksjon: Anbefalt utredning inkluderer nevrokognitiv testing, billeddiagnostikk (fortrinnsvis MR, evt CT) og spinalpunksjon i henhold til en utredningsalgoritme [3]. Aktuelle spinalvæskeundersøkelser vil være biokjemiske, immunologiske og mikrobiologiske analyser, for å kartlegge grad av inflammasjon og for å utelukke andre årsaker til symptomene. Spesifikke HIV-analyser kan være aktuelt, men ikke alltid.

Pasienter med ikke-påvisbart virus i plasma kan ha høye virusnivåer i spinalvæske [4], og mild affeksjon av nevrokognitive funksjoner kan opptre selv uten at HIV RNA spinalvæske/plasma ratio er forhøyet [5]. Det bemerkes også at pasienter med HIV-infeksjon kan ha forbigående forhøyede mengder HIV RNA i spinalvæske uten at dette har klinisk betydning, og at HIV RNA nivå ofte øker i forbindelse med andre infeksjons- eller inflammasjonstilstander i CNS [4].

Det er mest aktuelt å måle HIV RNA i spinalvæske hos velbehandlede pasienter med lavt eller ikke påvisbart HIV RNA i plasma. Ved høy viremi vil det også være betydelige mengder HIV RNA i spinalvæske, og resultatet vil ha begrenset klinisk betydning i og med at behandling uansett vil være å starte eller optimalisere ART.

HIV-analyser i spinalvæske: Det skal alltid tas plasma og spinalvæske samtidig for sammenlikning. Spinalvæske skal sentrifugeres, og supernatant avpipetteres før videre analyse for å fjerne celler som kan påvirke analysen. Lymfocytter kan inneholde HIV DNA provirus som vil amplifiseres i PCR og gi falsk forhøyet resultat. Virusmengde i spinalvæske (SPV HIV RNA) anses som forhøyet dersom SPV HIV RNA > 0.5 log₁₀ høyere enn plasma HIV RNA, eller dersom SPV HIV RNA > 200 kopier/ml og samtidig plasma HIV RNA < 20 kopier/ml [6].

Ved forhøyet SPV/plasma ratio kan indikasjon for resistensundersøkelse i spinalvæske og plasma parallelt være nyttig, og nytten av dette bør diskuteres med kliniker og med referanselaboratoriet. For slik analyse kreves virusmengde over 500 kopier/mL.

Anbefalinger

- a. Det er mest aktuelt å måle HIV RNA i spinalvæske hos velbehandlede pasienter med lavt eller ikke påvisbart virus i plasma
- b. Det skal alltid tas plasma og spinalvæske samtidig for sammenlikning
- c. Spinalvæske skal sentrifugeres før videre analyse for å fjerne celler som kan påvirke analysen
- d. Genotypisk resistensundersøkelse kan utføres i spinalvæske

Referanser

- 1 Krel R. Central Nervous System Complications in HIV. Medscape, updated April 2018. <https://emedicine.medscape.com/article/1167008-overview>
- 2 <http://www.eurotest.org/Finalised-Projects/Guidance-HIV-Indicator-Conditions>
- 3 EACS guidelines 2018. http://www.eacsociety.org/files/2018_guidelines-9.1-english.pdf
- 4 American guidelines, NIH. <https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/1/adult-and-adolescent-arv/15/virologic-failure>
- 5 Spudich S et al. Persistent HIV-infected Cells in Cerebrospinal Fluid are Associated with Poorer Neurocognitive Performance. Journal of Clinical Investigation DOI: 10.1172/JCI127413 (2019).
- 6 Rawson T, Muir D, Mackie NE, Garvey LJ, Everitt A, Winston A. Factors associated with cerebrospinal fluid HIV RNA in HIV infected subjects undergoing lumbar puncture examination in a clinical setting. J Infect. 2012;65(3):239–245.

JC Polyomavirus og progressiv multifokal leukoencefalopati

Garth Tylden, Avdeling for mikrobiologi og smittevern, UNN
garth.tylden@unn.no

Bakgrunn

JC polyomavirus (JCPyV) er særdeles godt tilpasset mennesket og gir en livslang asymptomatisk infeksjon hos 40-80% av befolkningen [1]. Rundt 1/3 av seropositive utskiller viruset i urinen [2], og urin er sannsynligvis den viktigste kilden ved transmisjon. Virusets dobbeltrådig DNA-genom er omgitt av et nakent kapsid, og viruset forblir derfor infeksjonsdyktig lenge utenfor kroppen.

Av og til forårsaker JCPyV hjernesykdommen progressiv multifokal leukoencefalopati (PML) hos immunsupprimerte pasienter [3]. Sykdommen ble først beskrevet i 1958 som en sjelden senkomplikasjon ved hematologisk malignitet [4]. Siden da har andre PML-utsatte pasientgrupper vokst frem, inkludert HIV/AIDS pasienter, organ-/stamcelletransplanterte, og pasienter med immunmodulerende behandling – spesielt natalizumab-behandling ved multippelsklerose. PML oppstår også en sjelden gang hos pasienter med immunosupprimering uten åpenbar årsak [5].

Med en insidens på 0,3 per 100 000 person-år i den generelle befolkningen [6] kan vi vente oss ca. 15 PML-tilfeller per år i Norge. Som andre sjeldne sykdommer er PML underdiagnostisert. Insidensen hos HIV/AIDS pasienter i pre-cART-æraen lå på 0,24-0,33% [7] men opp til 8% hadde PML-lesjoner ved autopsi [8, 9]. Post-cART har insidensen falt til 0,06-0,13% [7, 10]. Ellers er insidensen estimert til 0,12% hos hjerte-lungetransplanterte [11] og så mye som 1,1% etter 25-48 mnd. natalizumab-behandling [12].

Som navnet tilsier gir PML vanligvis flere progredierende lesjoner i hvit substans. De nevrologiske utfallene er avhengig av lesjonenes plassering og utbredelse.

Det finnes ingen effektive antivirale medikamenter, og behandlingen baserer seg på immunrekonstitusjon. Prognosen og behandlingsmuligheter avhenger derfor av type og grad av immunosupprimering og sykdomsvarighet ved diagnosestilling. Case-mortalitet varierer fra 70% hos transplanterte [13] til 38% hos AIDS-pasienter post-cART [7] og til 22% hos natalizumab-behandlede MS-pasienter [14].

Diagnostikk

Diagnostikk krever tverrfaglig samarbeid og en høy grad av mistanke («high index of suspicion»). Definitiv diagnose kan stilles ved PML-forenlige nevrologiske utfall og radiologiske funn sammen med positiv PCR i spinalvæske eller hjernevev [15]. Alternativt kan typiske histologiske funn, eventuelt supplert med immunhistokjemi eller elektronmikroskopi erstatte PCR [15].

De vanligste nevrologiske utfallene er muskelsvakhet, taleforstyrrelse, kognitiv svekkelse, synsforstyrrelse, ustøhet og gangvansker [15, 16]. Sykdommen har et snikende forløp og er ofte langt kommet ved diagnosetidspunktet. Unntaket er natalizumab-behandlede MS pasienter hvor årvåkenhet overfor PML er høy.

Typiske radiologiske funn er flere høysignal forandringer på T2-vektet og fluid attenuation inversion recovery (FLAIR) MR subkortikalt i hvit substans [15]. Hvit substans i hjernestammen og ryggmargen kan også rammes. Lesjonene kan være uten kontrastopplading men dette er avhengig av immunstatus og evnen til å reagere med betennelse. Lesjoner ved PML hos natalizumab-behandlede og AIDS-pasienter som startes på cART blir gjerne kontrastoppladende når immunforsvaret rekonstitueres [15].

Mikroskopisk sees demyelinisering med relativ bevaring av aksoner, bisarre hypertrofiske astrocytter, og oligodendrocytter med store kjerner [4]. Lesjonene kan være med eller uten innslag av betennelse avhengig av immunresponsen mot viruset. Økende betennelse sees enten forbigående i forløpet av den underliggende immunsvekkelsen eller som resultat av immunrekonstituerende behandling, og kan føre til immunrekonstitusjons inflammatorisk syndrom (IRIS) med klinisk forverring [17].

Mikrobiologisk diagnostikk

Viktigste mikrobiologisk diagnostikk ved PML er PCR for JCPyV i spinalvæske eller hjernevev. Antistoffanalyser i spinalvæske kan også være aktuelle. Immunhistokjemi og elektronmikroskopi av hjernevev gjøres i studiesammenheng. Viruset lar seg vanskelig dyrke [18].

PCR

Sensitiv PCR for JCPyV er en av hjørnesteinene i PML-diagnostikken. Sykdommen er gjerne langtkommen før viruset kan detekteres i spinalvæsken. Analysen bør ha en deteksjonsgrense som nærmer seg 10 kopier/ml spinalvæske [15]. Ved UNN ekstraherer vi fra 1000 µl spinalvæske med eluat på i 50 µl hvilket gir en 20x oppkonsentrering. Vi amplifiserer en 172 bp fragment av genet for T-antigen og oppnår en deteksjonsgrense på 20 kopier/ml [19].

Indikasjon for analysen bør være streng for å øke pretest sannsynlighet ved den lav insidensen. Videre er JCPyV DNA funnet med lav frekvens i spinalvæsken hos pasienter med andre nevrologiske lidelser som ikke utviklet PML [20]. Ved UNN er indikasjonen for undersøkelsen PML-forenlig klinikk og funn på MR-caput med kjent eller mistenkt immunsvikt.

Negativ PCR i spinalvæsken utelukker ikke PML og ved sterk mistanke bør analysen gjentas og alternativ diagnostikk vurderes. Ved UNN får alle negative JCPyV PCR-analyser automatisk kommentar som opplyser om dette.

Antistoffanalyser i serum og spinalvæske

JCPyV- antistoffer i serum alene kan brukes, før PML oppstår, til risikostratifisering ved planlagt natalizumab-behandling. Dette skjer i regi av legemiddelprodusenten Biogen via Unilabs i Norge (<https://stratifyjcv.unilabsweb.com/en-us/en-us/home.aspx>) med Biogens antistofftest (STRATIFY JCV® DxSelect™). Økende JCPyV antistoffnivå sees flere måneder før klinisk PML-debut hos Natalizumab-behandlede [21] og sammen med informasjon om natalizumab-behandlingslengde og tidligere immunsupprimerende behandling kan serostatus og antistoffnivå brukes til beregne risiko for PML [22]. Sammenhengen mellom økende antistoffnivå og PML risiko er også observert hos HIV/AIDS pasienter [23].

Påvisning av JCPyV- antistoffer i serum alene har ingen diagnostisk verdi ved manifest sykdom da seropositivitet er utbredt og PML oppstår sjelden. Analysen er kun nyttig som ledd i påvisning av intratekal antistoffproduksjon ved beregning av spinalvæske/serum antistoffindeks. Påvisning av intratekal antistoffproduksjon viser seg å være spesielt relevant for nyere pasientgrupper. Særlig natalizumab-behandlede pasienter oppdages tidlig i PML-forløpet pga. MR-screening, før viralt DNA kan detekteres i spinalvæsken. Rask immunrekonstitusjon ved seponering av natalizumab holder JCPyV DNA nivået i spinalvæsken under deteksjonsgrensen for PCR. I disse tilfellene kan påvisning av intratekal antistoffproduksjon vha. reibergram bidra ved diagnosestilling og spare pasienten for hjernebiopsi. Intratekal antistoffproduksjon er derfor foreslått inkludert i de diagnostiske kriteriene for PML [24]. Så langt finnes det ingen kommersielt tilgjengelig analyser som er validert for dette formålet.

Diskusjonspunkter/anbefalinger:

- a. JCPyV bør analyseres vha sensitiv PCR i CSF med oppkonsentrering under ekstraksjon.
- b. Negativ PCR i CSF utelukker ikke infeksjon. Vurder hjernebiopsi eller påvisning av intratekal antistoffproduksjon (ikke etablert i Norge).
- c. Høy terskel for å utføre PCR-diagnostikk:
 1. Immunsupprimert pasient
 2. Kronisk progredierende nevrologiske utfall
 3. Typiske MR-funn
- d. – men samtidig årvåkenhet overfor potensielle tilfeller («high index of suspicion»). Nøkkelgrupper for undervisning er radiologer, nevrologer, nevrokirurger, mikrobiologer, infeksjonsmedisinere og patologer.
- e. Bør vi begynne med serologi for JCPyV?
 1. Serum alene – nei. For lav positiv prediktiv verdi. Bare nyttig for risikostratifisering før og under natalizumab-behandling.
 2. Spinalvæske/serum antistoff indeks ad modum Reiber bør vurderes etablert ved et senter, evt. via samarbeidspartnere i Europa. Kan gi tidligere diagnosestilling og spare pasienter for hjernebiopsi. Foreløpig ikke innlemmet i den diagnostiske algoritmen. Indikasjon vil være negativ PCR i spinalvæske men klinisk og radiologisk sannsynlig PML.

Referanser

- 1 Dalianis, T. and H.H. Hirsch, *Human polyomaviruses in disease and cancer*. Virology, 2013. **437**(2): p. 63-72.
- 2 Egli, A., et al., *Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors*. J Infect Dis, 2009. **199**(6): p. 837-46.
- 3 Alstadhaug, K.B., K.M. Myhr, and C.H. Rinaldo, *Progressive multifocal leukoencephalopathy*. Tidsskr Nor Laegeforen, 2017. **137**(23-24).
- 4 Astrom, K.E., E.L. Mancall, and E.P. Richardson, Jr., *Progressive multifocal leukoencephalopathy; a hitherto unrecognized complication of chronic lymphatic leukaemia and Hodgkin's disease*. Brain, 1958. **81**(1): p. 93-111.

- 5 Alstadhaug, K.B., et al., *Treatment of progressive multifocal leukoencephalopathy with interleukin 7*. JAMA Neurol, 2014. **71**(8): p. 1030-5.
- 6 Arkema, E.V., R.F. van Vollenhoven, and J. Askling, *Incidence of progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with rheumatoid arthritis: a national population-based study*. Ann Rheum Dis, 2012. **71**(11): p. 1865-1867.
- 7 Khanna, N., et al., *Incidence and outcome of progressive multifocal leukoencephalopathy over 20 years of the Swiss HIV Cohort Study*. Clin Infect Dis, 2009. **48**(10): p. 1459-66.
- 8 Martinez, A.J., et al., *The neuropathology and epidemiology of AIDS. A Berlin experience. A review of 200 cases*. Pathol Res Pract, 1995. **191**(5): p. 427-43.
- 9 Whiteman, M.L., et al., *Progressive multifocal leukoencephalopathy in 47 HIV-seropositive patients: neuroimaging with clinical and pathologic correlation*. Radiology, 1993. **187**(1): p. 233-40.
- 10 Engsig, F.N., et al., *Incidence, clinical presentation, and outcome of progressive multifocal leukoencephalopathy in HIV-infected patients during the highly active antiretroviral therapy era: a nationwide cohort study*. J Infect Dis, 2009. **199**(1): p. 77-83.
- 11 Mateen, F.J., et al., *Progressive multifocal leukoencephalopathy in transplant recipients*. Ann Neurol, 2011. **70**(2): p. 305-22.
- 12 Bloomgren, G., et al., *Risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy*. N Engl J Med, 2012. **366**(20): p. 1870-80.
- 13 Shitrit, D., et al., *Progressive multifocal leukoencephalopathy in transplant recipients*. Transpl Int, 2005. **17**(11): p. 658-65.
- 14 Tyler, K.L., *PML therapy: "It's Deja vu all over again"*. 2013: J Neurovirol. 2013 Aug;19(4):311-3. doi: 10.1007/s13365-013-0191-9. Epub 2013 Aug 3.
- 15 Berger, J.R., et al., *PML diagnostic criteria: consensus statement from the AAN Neuroinfectious Disease Section*. Neurology, 2013. **80**(15): p. 1430-8.
- 16 Berger, J.R., et al., *Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients with HIV infection*. J Neurovirol, 1998. **4**(1): p. 59-68.
- 17 Tan, I.L., et al., *Immune reconstitution inflammatory syndrome in natalizumab-associated PML*. Neurology, 2011. **77**(11): p. 1061-7.
- 18 Sharma, B.N., M. Marschall, and C.H. Rinaldo, *Antiviral effects of artesunate on JC polyomavirus replication in COS-7 cells*. Antimicrob Agents Chemother, 2014. **58**(11): p. 6724-34.
- 19 Drachenberg, C.B., et al., *Polyomavirus BK versus JC replication and nephropathy in renal transplant recipients: a prospective evaluation*. Transplantation, 2007. **84**(3): p. 323-30.
- 20 Iacobaeus, E., et al., *Analysis of cerebrospinal fluid and cerebrospinal fluid cells from patients with multiple sclerosis for detection of JC virus DNA*. Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England), 2009. **15**(1): p. 28-35.
- 21 Plavina, T., et al., *Anti-JC virus antibody levels in serum or plasma further define risk of natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy*. Annals of Neurology, 2014. **76**(6): p. 802-812.
- 22 Schwab, N., et al., *Natalizumab-associated PML. Challenges with incidence, resulting risk, and risk stratification*, 2017. **88**(12): p. 1197-1205.

- 23 Viscidi, R.P., et al., *JC virus antibody and viremia as predictors of progressive multifocal leukoencephalopathy in human immunodeficiency virus-1-infected individuals*. Clin Infect Dis, 2011. **53**(7): p. 711-5.
- 24 Warnke, C., et al., *Application of the CSF JCV antibody index to early natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy*. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 2017. **88**(12): p. 1092-1094.

Black-box i CNS-diagnostikk

Andreas Lind, Avdeling for mikrobiologi, OUS
uxlindr@ous-hf.no

Bakgrunn

I løpet av de siste årene har det kommet kommersielle syndrombaserte molekylære hurtiginstrumenter for diagnostikk av CNS-infeksjon [1]. Disse har automatisert prøveprosessering og dataalgoritmer for tolkning av resultater. Fordelen med raske prøvesvar ved encefalitt og meningitt er åpenbare (se abstrakt: *Syndrombasert hurtig-PCR ved CNS-infeksjoner*). Bruken av lukkede systemer («black box») byr likevel på utfordringer; dette gjelder særlig spørsmål som validering, kvalitetskontroll, kostnad og tolkning av prøvesvar.

Utfordringer

- **Kvalitet:** Særlig ved diagnostikk av alvorlige tilstander som meningitt og encefalitt, må man være nøye med analysekvalitet. Det holder ikke å stole på produsenten, man må gjøre både lokal verifisering og ha fortløpende kvalitetskontroll (se under).
- **Begrensning:** De fleste systemene tester kun for spesifikke mikrober. Mikrober og virus som ikke er en del av et panel, men som likevel har klinisk relevans, kan dermed forbli uoppdaget uten annen diagnostikk.
- **Mangel på fleksibilitet og uventede svar:** Ved syndrombasert black-box-diagnostikk kan brukeren ikke velge hvilke analyser i panelet som skal/ikke skal utføres. Man kan dermed få et positivt svar på en analyse, som man ut fra kliniske funn ellers ikke ville ha utført. Dette kan by på tolkningsproblemer og eventuelt til overbehandling (ved for eksempel funn av HHV-6 i spinalvæske) og/eller at man avslutter videre pasientutredningen for tidlig.
- **Forurensning av prøven:** Molekylære metoder er svært sensitive og dermed følsomme for kontaminasjon, for eksempel grunnet uren håndtering av spinalvæsken.
- **Tekniske problemer som ikke blir oppdaget.** Lukkede systemer gir vanligvis ikke brukeren innsyn i hva som skjer underveis i analysekjeden. Primer- og probesekvenser holdes ofte hemmelige og fluorescenskurver utilgjengelige. Det er derfor begrenset kontroll over eventuelle feil, særlig hvis man ikke har et system for kit-uavhengige kontroller (KIUK), reanalyse med annen metode eller annen ekstern kvalitetskontroll. Bruk av KIUK ved molekylære analyser er dog kostbart, særlig hvis det kreves gjennomført for alle agens i et panel ved hvert oppsett og lot-skifte.
- **Høy kostnad** kan gå utover annen pasientbehandling eller føre til underbruk av metoden der det ellers hadde vært indikasjon.

Generelle betraktninger og mulige løsninger

- Lokale fagfolk må ha ansvaret for kvalitetssikring av kommersielle black-box-ester i tillegg til det ansvaret produsentene har.

- Produsentene må publisere sine primer- og probesekvenser og man må få tilgang til amplifikasjonskurver og sekvensdata.
- Resultater fra lukkede systemer bør regelmessig kontrolleres med egenutviklede metoder (inkludert KIUK) for overvåking av treffsikkerheten til alle primere og prober [2]. Dette gjelder spesielt dersom metoden ønskes akkreditert [3]. I strategirapporten for 2016 ble det anbefalt at KIUK skal benyttes i hvert oppsett, eller som et minimum, ved testing av hver nye lot fra leverandør [4]. Da dette blir for dyrt og omfattende for store panel som FilmArray ME-panelet (15 ulike agens), har det fremkommet følgende løsningsforslag:
 - a. Produsent leverer paneler til kvalitetssikring til redusert pris.
 - b. Flere kontrollagens analyseres sammen i én og samme panel-kjøring for å redusere kostnaden.
 - c. Kontrollstammer roteres mellom laboratoriene, slik at alle agens testes i løpet av en gitt periode.
 - d. Tillaging av kontroller og eventuelt ansvar for testing av nye lot sentraliseres.
 - e. Akkreditering gjøres ved hjelp av såkalt «slutt-produkt-validering» (SLP) [5].
 - f. Kravet til KIUK senkes der prøvene retestes med bekreftende diagnostikk. Eksempler på dette er influensa/RSV hurtigtester som følges opp med rutinediagnostikk. Mikrobiologisk avdeling bør i så fall ha ansvaret for kvalitetssikring i begge ledd.

Konklusjon

Ved diagnostikk av alvorlige tilstander som meningitt og encefalitt, må man være nøye med analysekvalitet også ved bruk av black-box-systemer. Ideelt sett burde man ha kontinuerlig overvåking av kvaliteten ved bruk av KIUK ved hver kjøring og lotskifte, samt regelmessig SLP-testing. Da dette vil være meget kostbart, bør fagmiljøet i samarbeid med produsentene og Norsk akkreditering bli enige om et akseptabelt og gjennomførbart kontrollsystem.

Referanser

1. Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ, Pritt BS, Patel R. Syndromic Panel-Based Testing in Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 2018;31(1).
2. Wallace PS, MacKay WG. Quality in the molecular microbiology laboratory. *Methods Mol Biol.* 2013;943:49-79.
3. Den europeiske standardiseringsorganisasjonen, Medisinske laboratorier, Krav til kvalitet og kompetanse (ISO 15189:2012, korrigert versjon 2014-08-15).
4. Strategimøte 2016: Kvalitetskontroll av infeksjonsserologiske metoder.
5. Strategimøte 2018: Kvalitetskontroll av genteknologiske metoder.

Vedlegg 1: Spørreundersøkelse CNS-infeksjonsdiagnostikk

Spørreundersøkelse

CNS-infeksjonsdiagnostikk

Svartid

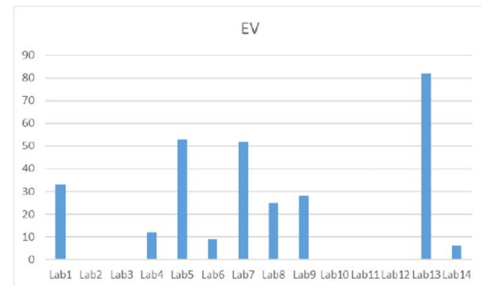
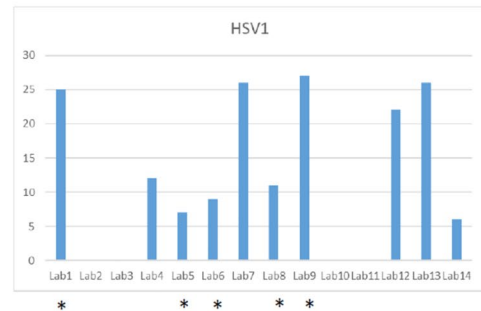
- Hvor lang svartid (mottatt - besvart) hadde dere i september 2018 for følgende analyser i spinalvæske (for standard ikke-syndrombasert PCR)?
- Utføres disse PCR'ene i helgene?

Svartid

- Hvor lang svartid (mottatt - besvart) hadde dere i september 2018 for følgende analyser i spinalvæske (for standard ikke-syndrombasert PCR)?
- Utføres disse PCR'ene i helgene?

Svartid

	<12 timer	>22 timer	% <12 timer	% >22 timer
HSV1	5	5	50,0	50,0
HSV2	5	5	50,0	50,0
VZV	5	5	50,0	50,0
EV	3	6	33,3	66,7



- Data oppgitt av 9-10/14
- Ulik registrering av tidsbruk (før eller etter lagring i mottak)
- Helg regnet med eller ikke?
 - 50% (5 av 10) tester i helgene (merket med stjerne i figurene til høyre)
- Jevnt over gode svartider
- De fleste har lengre svartid for enterovirus enn for HSV/VZV

Syndrombasert testing

- Har dere syndrombaserte hurtigtester for CNS infeksjoner?
- Bekreftes resultater fra hurtigtester med in-house-PCR'er?

Syndrombasert testing

	Ja	Nei	Ja%	Nei%
Syndrombasert (n=14)	7	7	50,0	50,0
In house i tillegg (n=7)	5	2	71,4	28,6

- Tilleggstesting med in house:
 - 4 testet både positive og negative
 - 2 alltid og 2 på klinisk indikasjon
 - 1 testet kun positive (alltid)
- Panel for FilmArray-negative prøver ikke etterspurt
 - Rimelig å anta at man bruker tidligere standardpanel (HSV, VZV og EV), samt evt. spesifikke agens kliniker har bedt om

Antistoffundersøkelser

- Gjør dere serologiske analyser for borrelia i spinalvæske? Ja
Nei
- Index-bestemmelse (Reibers metode)? Ja Nei
- Gjør dere serologiske analyser for andre agens i spinalvæske? Ja
Nei
- Hvilke agens: _____
- Ratiobestemmelse? Ja Nei

Antistoffundersøkelser

	Ja	Nei	Ja%	Nei%
Borrelia	11	3	78,6	21,4
Index	9	2	81,8	18,2
Andre agens	6	8	42,9	57,1
Ratio	4	2	66,7	33,3

- Andre agens enn Borrelia:
 - Tre oppgir kun syfilis
 - De tre andre HSV, VZV og CMV (én av dem også morbilli og parotitt)
 - De to som ikke gjør ratiobestemmelse undersøker kun for syfilis
- Borrelia
 - To labor benytter annen indexberegning enn Reibers

Rekvisisjonsstyring

Kan kliniker selv rekvirere PCR-analyser for spinalvæske? Ja Nei

Blir analyser eventuelt avslått? Ja Nei

Hvis ja, hvilke kriterier gjelder for å avslå prøven?:

Normalt celledtall i CSF?

Klinisk vurdering i journalnotat?

Telefonsamtale med kliniker?

Gjøres etter-rekvirering fra laboratoriets side? Ja Nei

Rekvisisjonsstyring

	Ja	Nei	Ja%	Nei%
Kan kliniker rekvirere PCR direkte?	14	0	100,0	0,0
Avslås rekv?	8	4	66,7	33,3
Etterrekvireres?	10	1	90,9	9,1

- På hvilket grunnlag avslås rekvireringer?

- Celletall 4
- Klinikk 8
- Telefon 6

Lagring

- Hvor lenge lagres prøven etter analyse?
- Spinalvæske: _____
- Ekstrakt: _____
- Ved hvilken temperatur? _____

Lagring

Spinalvæske	
10 år eller m	6
1-10 år	5
<1 mnd	2

Temperatur	
4 °C	1
-20 °C	3
-70/-80 °C	8

Ekstrakt	
>1 år	4
1-6 mndr	4
<1 mnd	2

- To laber oppbevarer positive prøver evig, og negative 1-2 år.

CNS-dedikerte oppsett

- Ved analyse av herpes simplex- og varicella zoster-virus: Analyserer dere spinalvæske og øyeprøver i samme oppsett som sårprøver?
Ja Nei
- Ekstraheres sammen
- Amplifiseres sammen

PCR-oppsett

	Ja	Nei	Ja%	Nei%
Spv. og annet i samme oppsett?	8	4	66,7	33,3
Ekstrahert sammen?	3	4	42,9	57,1
Amplifisert sammen?	7	0	100,0	0,0

- Tiltak for å unngå krysskontaminering
- Parallelloppsett alternativt tiltak?

- To laber oppga at de håndterte øye og spinalvæske ulikt (sp.v. mest stringent)

Vedlegg 2: FilmArray-Spv vurderingsskjema

FilmArray-Spv vurderingsskjema

Dato: Klokkeslett:

Lege:

Pasientprøvenr:

Opplysninger om meningitt/encefalitt på rekvisisjonen? Ja Nei

Spesifikt ønske om FilmArray fra rekvirent? Ja Nei

Diskutert med kollega på MIK? Ja Nei

Diskutert med rekvirent/klinikker? Ja Nei

Årsak til valg av FilmArray (fylles ut før svar foreligger):

Antibiotikabehandling før spinalpunksjon

Blakket spinalvæske

Celler i spinalvæsken

Alvorlig klinikk som krever rask avklaring

Lite prøvemateriale

Helg/utenfor ordinær åpningstid

Annet (spesifiser):

FilmArray-svar:

Svar ringt ut?: Ja Nei

Endret svaret behandlingsvalg? Ja Nei Vet ikke

Utgitt av Folkehelseinstituttet
September 2021
Postboks 4404 Nydalen
NO-0403 Oslo
Telefon: 21 07 70 00
Rapporten kan lastes ned gratis fra
Folkehelseinstituttets nettsider www.fhi.no