

Förekomst av bakterier i ledvätska hos hundar med ledinflammation – en jämförande studie mellan bakteriologisk odling och DNA analys

A. Vilén*; H. Ström; B. Nilsson; A-C. Petersson; M. Cigut.

Evidensia Specialistdjursjukhuset i Helsingborg, 254 66 Helsingborg

BAKGRUND

Septisk artrit är en ovanlig men allvarlig ledinflammation som orsakas av bakterier och som kan medföra bestående skador till leden. En snabb och korrekt behandling är avgörande för prognosen. För att ställa diagnosen septisk artrit undersöks ledvätska dels i mikroskop och dels genom bakterieodling. För definitiv diagnos krävs att bakterier odlas fram ur ledvätskan^{1,2}, något som i tidigare studier visat sig vara svårt. I olika studier hos hundar med en trolig diagnos av septisk artrit lyckats detta bara i 50-80 % av fallen¹⁻⁴. Samma svårighet kan ses vid septisk artrit hos människa. I en nyligen publicerad studie odlades bakterier endast fram i 38 % av proverna⁵. Därför kan diagnosen i många fall inte fastställas utan får antas vara den mest troliga diagnosen när faktorer som sjukdomshistorik, klinisk undersökning och mikroskopisk undersökning av ledvätska vägs samman.

Hos människa används en alternativ möjlighet för att påvisa bakterier i ledvätska vid septisk artrit, DNA-analys, så kallad 16s rRNA gensekvensering. Detta innebär att arvs massa (DNA) från bakterier kan påvisas i ledvätskan. Inom humanvården ersätter inte DNA-analys en bakterieodling utan används som ett viktigt komplement^{6,7}. Det finns få publicerade studier avseende 16s rRNA gensekvensering på ledvätska hos djur men en mindre studie på hästar med septisk artrit uppvisade goda resultat⁸. Det finns inga hittills publicerade studier som har undersökt om DNA-analys skulle vara ett diagnostiskt hjälpmedel vid septisk artrit hos hund. De studier på hund som finns tillgängliga har undersökt förekomst av bakterier i normala leder samt leder med korsbandsskador⁹⁻¹².

SYFTE

Syftet med denna studie är att undersöka om DNA-analys (16s rRNA gensekvensering) kan vara ett värdefullt diagnostiskt hjälpmedel vid septisk artrit hos hund.

MOTIVERING OCH PRAKTISK NYTTA

Insamling av prover skedde mellan november 2010 och november 2013 vid Evidensia Specialistdjursjukhuset i Helsingborg. Totalt inkluderades 12 hundar (13 leder) med septisk artrit samt 9 hundar med korsbandsskador (kontrollgrupp). Dessutom inkluderades 9 hundar med immunmedierad polyartrit, det vill säga en typ av ledinflammation där bakterier inte förväntas förekomma men där ledvätskan för övrigt uppvisar liknande förändringar som vid septisk artrit. På samtliga prover utfördes en bakteriologisk odling samt 16s rRNA gensekvensering. DNA-analysen utfördes i Lund vid Klinisk mikrobiologi, Labmedicin Skåne som tillhandahåller den kliniska analysmetod för 16s rRNA gensekvensering på ledvätska som används hos människa.

Anledningen till att denna studie utfördes var alltså för att undersöka om det finns ett bättre sätt att påvisa bakterier i infekterad ledvätska än det som används idag. I denna studie påvisades bakterier genom odling på ledvätska i 69 % (9 av 13 prover). DNA-analys kunde bara påvisa bakterier i 22 % av dessa fall (2 av 9 prover). Slutsatsen är därför att den DNA-analys vi använt inte bidrar till diagnostiken av septisk artrit hos hund. Detta innebär inte att DNA-analys inte kan vara en möjlighet för dessa patienter. Ett sätt för att öka chansen att påvisa bakterier kan vara att använda en mer riktad DNA-analys och leta efter ett fåtal specificerade bakterietyper¹³, de som anses vanligast vid septisk artrit hos hund. En DNA-analys innebär flera kritiska steg och arvs massan kan till exempel behöva förstärkas¹⁴. Det är möjligt att bakterier skulle kunna påvisas i större grad om en mer omfattande bearbetning av proverna utfördes. Detta är dock en tidskrävande process och för att en analysmetod ska vara kliniskt användbar vid septisk artrit måste tiden till provsvar samtidigt vara så kort som möjligt. Om en högre andel misstänkta fall av septisk artrit konfirmeras, innebär detta en ökad säkerhet för att rätt behandling ges till dessa patienter. Det leder i sin tur till att fler hundar med septisk artrit ges förutsättningar att tillfriskna utan bestående ledskador. Utvecklingen av DNA-analyser sker kontinuerligt och förhoppningsvis kommer det i framtiden finnas en metod för hund som är snabb och tillförlitlig för att påvisa bakterie-DNA vid septisk artrit hos hund.

PROJEKTETS STATUS

Insamlingen av prover är avslutad och avsikten är att under 2015 skicka in en artikel till en vetenskaplig tidskrift för publicering.

REFERENSEER

1. Clements DN, Owen MR, Mosley JR, et al. Retrospective study of bacterial infective arthritis in 31 dogs. *J Small Anim Pract* 2005;46:171-176.
2. Marchevsky AM, Read RA. Bacterial septic arthritis in 19 dogs. *Aust Vet J* 1999;77:233-237.
3. Bennett DT, D.J. Bacterial endocarditis and inflammatory joint disease in the dog.pdf. *J small Anim Prac* (1987);29:347-365.
4. Montgomery RD, Long IR, Jr., Milton JL, et al. Comparison of aerobic culturette, synovial membrane biopsy, and blood culture medium in detection of canine bacterial arthritis. *Vet Surg* 1989;18:300-303.
5. Madruga Dias J, Costa MM, Pereira da Silva JA, et al. Septic arthritis: patients with or without isolated infectious agents have similar characteristics. *Infection* 2014;42:385-391.
6. Canvin JM, Goutcher SC, Hagig M, et al. Persistence of *Staphylococcus aureus* as detected by polymerase chain reaction in the synovial fluid of a patient with septic arthritis. *Br J Rheumatol* 1997;36:203-206.
7. van der Heijden IM, Wilbrink B, Vije AE, et al. Detection of bacterial DNA in serial synovial samples obtained during antibiotic treatment from patients with septic arthritis. *Arthritis Rheum* 1999;42:2198-2203.
8. Pille F, Martens A, Schouls LM, et al. Detection of bacterial DNA in synovial fluid from horses with infectious synovitis. *Res Vet Sci* 2004;77:189-195.
9. Bhandal J, Hayashi K, Kim SY, et al. Detection of bacterial DNA by PCR in dogs with stifle pathology. *Vet Surg* 2013;42:814-818.
10. Muir P, Fox R, Wu Q, et al. Seasonal variation in detection of bacterial DNA in arthritic stifle joints of dogs with cranial cruciate ligament rupture using PCR amplification of the 16S rRNA gene. *Vet Microbiol* 2010;141:127-133.
11. Muir P, Oldenhoff WE, Hudson AP, et al. Detection of DNA from a range of bacterial species in the knee joints of dogs with inflammatory knee arthritis and associated degenerative anterior cruciate ligament rupture. *Microb Pathog* 2007;42:47-55.
12. Schwartz Z, Zitzer NC, Racette MA, et al. Are bacterial load and synovitis related in dogs with inflammatory stifle arthritis? *Vet Microbiol* 2011;148:308-316.
13. Kim H, Kim J, Ihm C. The usefulness of multiplex PCR for the identification of bacteria in joint infection. *J Clin Lab Anal* 2010;24:175-181.
14. Bonilla H, Kepley R, Pawlak J, et al. Rapid diagnosis of septic arthritis using 16S rDNA PCR: a comparison of 3 methods. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011;69:390-395.