

Mykoplasmatester med ulike sensitivitet

- hvilke faktorer kan innvirke på prøveresultatet?

Ane Tangen



Prosjektoppgave ved det medisinske fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

Februar 2017

© Ane Tangen

År 2017

Tittel: Mykoplasmatester med ulik sensitivitet - *hvilke faktorer kan innvirke på prøveresultatet?*

Forfatter Ane Tangen

<http://www.duo.uio.no/>

Trykk: Reprosentralen, Universitetet i Oslo

Innholdsfortegnelse

Forord	4
Abstract	5
Innledning	
Om <i>Mykoplasma genitalium</i>	
- Generelt	6
- Symptomer	6
- Behandling.....	6-7
Bakgrunn	
Undersøkelse og diagnostikk av <i>M. genitalium</i>	8
Hva kan påvirke sensitiviteten til en mykoplasma-test?	8-10
Metode	
Rekruttering av og gruppering av pasienter til studien	11
Innsamling og håndtering av prøvemateriale	11
Diagnostikk og prøvesvar	12
Bearbeiding av data og statistikk og analyser	12
Litteratursøk	12
Etikk	12
Resultater	
Hvem fikk påvist mykoplasma?	13
Er det sammenheng mellom positiv test og symptomer?	14-15
Har tid siden sist vannlatning noe å si for testens utfall?	15
Har tid fra sist smitterisiko noe å si for testens utfall?	15-16
Diskusjon	17-20
Konklusjon	21
Referanseliste	22-23

Forord

Sommeren 2016 jobbet jeg som vikar for sykepleier for *Olafiaklinikken*, og var dermed med på rekrutteringen av pasienter til en studie der man skulle prøve ut en ny, kommersiell og mer sensitiv test til påvisning av *Mycoplasma genitalium*. Dette motiverte meg for å sette meg inn i problemstillingen rundt hvilke faktorer som påvirker de prøvesvar vi får i forbindelse med utredning av personer med mistanke om seksuelt overførbart infeksjon og til å skrive denne oppgaven, samt for videre forskning på dette området.

Abstract

Background: *Mycoplasma genitalium* is a sexually transmitted bacteria, causing urethritis in men and women. The microbe is also associated with cervicitis, PID (pelvic inflammatory disease) and infertility. The only way to detect this pathogen is by NAAT (nucleic acid amplification test). In our study, we compared results from two different NAAT- tests, and studied what factors contributed to the sensitivity of the tests.

Methods: 2237 patients attending *Olafiaklinikken* from April to December 2016 were tested for *M. genitalium*. Urine samples from men and vaginal swabs from women were collected, two samples from each patient. The specimens were sent to two different laboratories (in Oslo and Sweden) and retrospectively we compared the results from the tests taking different background-factors into account.

Results: The total prevalence of *M genitalium* obtained by the two methods was 3,4% and 4,6% , respectively. 25 out of the 102 mycoplasma-positive were not detected at the clinics' own laboratory and 68% of them were men. 30% of the mycoplasma-positive patients that had taken the test less than 2 weeks after their last sexual encounter, got a false negative test. Only 2 out of 7 men who micturated less than 3 hours prior to the test, got a positive result.

Conclusions: We found no clear connection between symptoms and a high enough bacterial load to reach the detection limit of the PCR, however our study indicates false negative tests due to recent micturition before testing, as well as incubation-time less than 2 weeks from last sexual encounter. These findings, underlines the importance of instructing the patient precisely prior to testing in order to secure correct sampling and improve the sensitivity of the test.

Innledning

Mykoplasma genitalium (heretter forkortet til *M. genitalium*) er en seksuelt overførbar mikrobe som kan gi urogenitale infeksjoner (1). Bakterien ble først isolert i 1980, og er per i dag den minste bakterien vi kjenner til (2, 3).

Symptomer:

Studier gjort på klinikker for seksuelt overførbare infeksjoner (heretter kalt SOI-klinikker) viser at rundt 90% av menn med positiv test på *M. genitalium* har mikroskopisk uretritt. Andre kliniske manifestasjoner er utflod og dysuri, samt i mer sjeldnere tilfeller proktitt, balanopostitt og epididymitt (1, 4)

Hos kvinner kan *M. genitalium* forårsake både uretritt og cervisitt, og de hyppigste symptomene er økt/endret utflod, dysuri og intermenstruell- eller post-coital blødning. Mikroben er også assosiert med infeksjon i øvre genitaltraktus; PID (pelvic inflammatory disease). Dette er en tilstand med en eller flere av følgende: endometritt, salpingitt, oophoritt og peritonitt. Som følge av dette igjen kan man få varige arrdannelser og adheranser, og dermed også mulighet for ektopisk graviditet og infertilitet senere i livet (1, 5, 6).

Det er også viktig å være klar over at infeksjon ikke gir symptomer hos alle. Sonnenberg et al fant at så mange som 94,4 % av mennene, og 56,2% av kvinnene med positiv mykoplasma-test ikke oppga noen urogenitale symptomer (7). Andre studier har vist en prosentandel på 40-60% av asymptomatiske *M.genitalium* infeksjoner (4, 8)

Symptomene på *M. genitalium* og *Chlamydia trachomatis* (heretter kalt *C. trachomatis*) kan ikke skilles fra hverandre. En studie gjort i Sverige har imidlertid vist at *M. genitalium* positive pasienter hyppigere hadde symptomatisk uretritt enn de med klamydia-infeksjon (9, 10).

Behandling:

M. genitalium mangler cellevegg, og penicillin og beta-laktam antibiotika er derfor uten effekt på denne bakterien (3). Doksycyclin har i flere studier vist seg å ha dårlig behandlingseffekt, da den kun kurerer 20-40%, og er ikke anbefalt ved mykoplasma-infeksjon (11, 12).

Anbefalt primærbehandling er Azithromycin; 500 mg på dag én etterfulgt av 250 mg dag 2-5 (13). Makrolidresistens er blitt et økende problem i bl.a. Skandinavia og i en dansk studie fra

2014 fant man resistens hos 38% av de med positiv mykoplasmatest. En annen studie har vist resistens hos hele 48% av de med positiv test (11, 14). Anbefalt annenlinjebehandling er Moxifloxacin, et 4. generasjon fluoroquinolon, 400 mg daglig i 7 dager. (13)

Det er anbefalt å ta en ny test etter 4-5 uker for å oppdage evt. terapivikt, nettopp fordi det er en økende andel makrolidresistente bakteriestammer. Enkelte laboratorier har mulighet for å gjøre resistenstesting i primærprøven slik at pasienten raskt får riktig antibiotika og faren for behandlingssvikt minsker.

Bakgrunn:

I Norge finnes ingen overvåkning av *M genitalium*, og insidensen og prevalensen i den generelle befolkning er dermed ikke kjent. I en norsk studie blant 4665 pasienter, fant de forekomsten til å være totalt 3,6 %, og høyest blant kvinner i alderen 19-24 år (15). I en tidligere norsk studie blant menn med uretritt ble det rapportert en prevalens på 3,7 % (8). En svensk studie fant prevalensen til å være noe høyere, 6,1%, i et utvalg på totalt 946 menn og kvinner (4), mens en epidemiologisk studie fra England med pasienter mellom 25 og 44 år fant en prevalens på kun 1,2 % (7). Det er altså nokså sprikende tall på prevalensen til denne mikroben, fra 1-6%. Dette kan skyldes diagnostiske variasjoner, populasjonsulikeheter eller metodeforskjeller. Den er generelt vist å være lavere enn prevalensen for *C. trachomatis* som ligger på henholdsvis 11,9 % og 12% (9, 15).

For testing av kjønns sykdommer, inkludert genital mykoplasmainfeksjon, oppsøker man i Norge enten fastlegen, ungdomshelsestasjoner eller SOI-klinikker. I Oslo har vi 2 slike spesialiserte klinikker; *Sex og Samfunn* (for de under 25 år) og *Olafiaklinikken* (for alle aldre).

Det er omdiskutert om man skal teste for *M. genitalium* hos asymptotiske individer. *Olafiaklinikken* har i mange år testet for mikroben på lik linje med klamydia. I 2016 kom de første internasjonale guidelines/retningslinjer som anbefaler kun å teste symptomatiske, men med visse unntak (SOI sjekk til menn som har sex med menn, og ifb. med kirurgiske inngrep som bryter cervixbarrieren).

M. genitalium vokser svært sakte, er vanskelig å isolere fra annet prøvemateriale og er dermed vanskelig å dyrke (1). Eneste påvisningsmetode per i dag er ved nukleinsyre amplifiseringstest (NAAT), men ingen tilgjengelig kommersiell test har blitt grundig nok evaluert i forhold til FDAs (US Food and drugs Administration) standard. Hvert laboratorium benytter dermed såkalte *in-house* tester. Av dette følger at det er flere ulike tester som benyttes, også i studier, i mangel på en gullstandard (13, 14, 16).

Hva kan påvirke sensitiviteten til en mykoplasma-test?

En test av biologisk prøvemateriale er aldri hundre prosent pålitelig. Hvor sikker en test er kan variere mye. Det er viktig å vite noe om sensitiviteten og spesifisiteten til en test, samt prevalensen i befolkningen for vurdering av et testresultat. Sensitiviteten angir hvor stor andel

av de syke testen påviser, mens spesifisiteten angir hvor stor andel friske som får korrekt negativ prøve (6).

I motsetning til *C. trachomatis* har ikke *M. genitalium* plasmider som arvestoff. De har kun et sirkulært kromosom per bakterie, mens *C. trachomatis* til sammenlikning har 8-10 plasmider. Dette gjør at man dermed trenger større mengder bakterier i prøvematerialet for å få kopiert opp like mye DNA. Utfallet av dette kan være at sensitiviteten på en slik PCR test er lavere for mykoplasma enn for f.eks. klamydia (17, 18).

I en norsk studie av Gossé et al undersøkte de blant annet bakteriemengden i urinprøver av pasienter positive for *M. genitalium*. Deres studie viste at bakteriemengden hos en person kan variere mye fra dag til dag. Har du en lav bakteriemengde dagen testen tas kan det hende den kommer under grensen til det analysen kan oppdage, og dermed få en falsk negativ test. En annen årsak kan være at pasienten har en lavgradig infeksjon (1, 19).

Hva slags prøvemateriale som blir brukt har innvirkning på sensitiviteten til en slik test. Retningslinjer viser til at det mest optimale prøvematerialet fra menn per i dag er første-stråle urin (13, 20). For kvinner er det noe omdiskutert om første-stråle urin eller vaginalpensel gir best pålitelig prøve. For *C. trachomatis* derimot har man i norske og svenske studier funnet at selvtatt vaginalprøve gir høyest sensitivitet. En studie gjennomført ved *Olafiaklinikken* fant en høyere sensitivitet med vaginalpensel kontra urin, også hos mykoplasmapositive (21-23). Tilsvarende ble funnet i en britisk studie (24). Ved *Olafiaklinikken* bruker man kun vaginalpensel for kvinner mens noen sentre har benyttet penselprøve og urin (sendt samlet).

Lav bakteriemengde kan skyldes nylig vannlatning før urinprøven ble tatt, slik at bakteriene ikke har hatt tid til å akkumulere. Det er ingen klare retningslinjer på hvor lenge urinen bør ha vært i blæra før man avlegger en prøve, men guidelines henviser til prosedyrene for klamydia (13). Mengden bakterier som tas med i analysen avhenger også av hvor stort volum av prøvematerialet (urin eller transportmedium for penselen) som benyttes i maskinen som utfører PCR analysen.

Inkubasjonstiden til *M. genitalium* er ikke kjent og det er lite tilgjengelig data på hvor lenge det bør ha gått fra smittetidspunkt til man tar en test, men man anbefaler som for *C. trachomatis* minimum 2 uker (13).

I denne oppgaven, som er gjort i forbindelse med en kvalitetsstudie ved *Olafiaklinikken*, *OUS*, har jeg sammenliknet testresultater for *M. genitalium* fra to ulike laboratorier som har benyttet

to ulike metoder med antatt ulik sensitivitet. Jeg har valgt å se nærmere på hvilke faktorer som kan innvirke på prøveresultatet på testene. I hovedsak har jeg sett på alder, kjønn og seksuell praksis, om pasienten hadde symptomer eller ei, tid siden siste vannlatning før testen ble tatt, samt tidsintervallet fra sist mulige smittetidspunkt til prøvetaking.

Metode:

Olafiaklinikken har siden våren 2016 deltatt i et skandinavisk multisenterstudie som omhandler diagnostikk av *M. genitalium*. Som et ledd i denne studien, har vi gjennomført en intern kvalitetsstudie basert på et i tid begrenset utvalg av materialet.

Rekruttering av og gruppering av pasienter til studien

På *Olafiaklinikken* er prosedyrene at alle pasientene først kommer inn til sykepleier. Derifra blir de som har plager sendt videre inn til lege. Som man vil se i tabeller i resultatdelen nedenfor er det også en egen kolonne som heter «sykepleier med symptomer», og dette er pasienter som f.eks. ikke ønsket å gå videre til legen, som ikke hadde tid til å vente på legen, eller av andre grunner ikke ble sendt videre. Det er også en kolonne med «lege uten symptomer», hvor legene da har hatt lite å gjøre og dermed tatt inn pasienter også uten plager.

Inkluderte pasienter ble rekruttert etter signert, informert samtykke ved drop-in timer hos *Olafiaklinikken*. Inklusjonskriteriene var som følger: personer over 18 år, personer med god forståelse av norsk og personer som ikke har brukt antibiotika siste 2 mnd.

Innsamling og håndtering av prøvemateriale

Menn ble bedt om å avgi ca. 30 ml førstestråleurin i et ferdig merket oppsamlingsglass, deretter føre et vakuumsrør ned i fordypningen i lokket, for så at det skulle fylles automatisk. Vakuumsglasset ble sendt til eget laboratorium i Oslo, mens man fra den resterende urinen pipetterte ut 10 ml som ble sendt til studielaboratoriet i Sverige for diagnostikk med annen metode. Kvinner ble bedt om å benytte to ekstra vaginalpensler ved prøvetaking, altså totalt 3, som samtidig skulle føres inn i skjeden. Pinnene skulle holdes inne i skjeden i 10-15 sekunder og på vei ut snurres rundt slik at de var nær skjedeveggene. Én pensel ble sendt til eget laboratorium, og de 2 andre til studielaboratoriet. Vaginalprøvene var enten selvtatt eller legetatt, hvorav det da ble gjort i forbindelse med en gynekologisk undersøkelse. Det ble ikke merket på prøvene om de var selvtatt eller legetatt, men det kunne eventuelt spores tilbake til journalen.

Kun prøvesvaret fra eget laboratorium ble benyttet i diagnostikk og behandling av pasientene. Prøvene som ble sendt til studielaboratoriet var kun merket med en kode og ikke merket med navn. Retrospektivt var det mulig å «matche» disse prøvene via en kodet navneliste.

Diagnostikk og prøvesvar

Til påvisning av mikroben ble det ved begge laboratorier brukt NAAT, hvorav den i Sverige var forventet å være mer sensitiv, og dermed plukke opp flere positive. Utfallet av dette ble da at enkelte pasienter fikk både et positivt og et negativt testresultat. Prøvene sendt til eget laboratorium var rutineprøver som grunnlag for diagnostikk og behandling. Prøver som ble sendt til Sverige var på forhånd aidentifisert og hadde kun et kodennummer. Disse svarene fikk vi tilbake i bolker og kunne ved hjelp av kodelister retrospektivt sammenliknes med svar på rutineprøvene. Det var ingen prøver som ble positive på eget laboratorium og negative i Sverige.

Jeg har sett nærmere på de personer i studien som fikk positiv mykoplasmatest i perioden fra 1.april- 31.desember.2016.

Bearbeiding av data og statistikk og analyser

Variablene kjønn/seksuell praksis, alder, dato for sist smitterisiko, tid siden siste vannlatning, symptomer og testresultat hentet jeg ut av hver pasientjournal i DIPS Arena og samlet i et anonymisert Excel ark. Tabeller brukt i oppgaven lagde jeg også i Excel. Tallene i studien er små og er derfor kun egnet for beskrivende statistikk.

Litteratursøk

Artiklene som refereres til er funnet ved hjelp av usystematiske søk i Pubmed og i Tidsskriftet for norske legeförening. Jeg ble også tildelt relevant litteratur i form av artikler av min veileder.

Etikk

Denne studien er gjennomført som en intern kvalitetsstudie og fått godkjenning av personvern avdelingen ved OUS. Den skandinaviske studien har fått godkjenning fra REK.

Resultater

Hvem fikk påvist mykoplasma?

Fra 1.april til 31. desember 2016 var det 2237 pasienter som hadde blitt rekruttert til studien; 1553 menn (69,4%) og 684 kvinner (30,6%). Av disse fikk 102 påvist *M. genitalium* på studieprøven hvorav 77 hadde fått diagnosen mykoplasma infeksjon basert på rutineprøven analysert ved eget laboratorium. Dette ga en totalprevalens på henholdsvis 4,6% og 3,4%.

Blant kvinnene som ble testet var 5,3 % (36/684) positive mens blant mennene fikk 4,2 % (66/1553) påvist mykoplasma i urin. Det var tilsynelatende flest positive i aldersgruppen 25-29 år, men vi mangler data på aldergruppenivå for alle de testede. Sammenlagt finner man at 80% (81/102) av de mykoplasma-positive var under 30 år (89% av kvinnene og 74 % av mennene). Blant de over 30 år var det flere menn (26%) enn kvinner (11%).

Gjennomsnittsalderen for de mykoplasma-positive var 27,3 år.

Tabell 1 Alder og kjønn/sekseuell praksis blant et utvalg personer diagnostisert med *M. genitalium* ved Olafiaklinikken i 2016

Alder	KSM/K*	(%)	MSK*	(%)	MSM*	(%)	Totalt	(%)
(19)-24	13	36,1	19	31,6	0		32	(31.4)
25-29	19	52,7	26	43,3	4		49	(48.0)
30-34	1	2,7	8	13,3	1		10	(9.8)
35-(47)	3	8,3	7	11,6	1		11	(10.8)
Totalt	36	(35.3)	60	(58.8)	6	(5.9)	102	

* KSM= kvinner som har sex med menn
KSK = kvinner som har sex med kvinner
MSK= menn som har sex med kvinner
MSM= menn som har sex med menn

Er det sammenheng mellom positiv test og symptomer?

Totalt hadde 58 av de 102 (56,9%) pasientene urogenitale symptomer, og de resterende (43,1%) var asymptomatiske (tabell 2). Av de 36 kvinnene, hadde nesten 70 % symptomer, kontra mennene hvor kun 50 % hadde plager (33/66).

Halvparten av de mykoplasma- positive hadde vært inne hos sykepleier, mens den andre halvparten hadde vært inne hos lege. Det var flest kvinner som hadde vært hos lege (55,6%), mens flertallet som hadde vært hos sykepleier var menn (53,0%). Kun en liten andel pasienter med symptomer var inne hos sykepleier, noe som ikke er i overensstemmelse med prosedyrene på *Olafiaklinikken*, da disse skal inn til lege.

Tabell 2 Symptomer blant menn og kvinner med positiv mykoplasmaprøve

	KSM/K	(%)	MSK		MSM	Totalt	%
Spl u sympt	11	30,5	25	41,7	4	40	(39.2)
Spl m sympt	5	13,9	6	10,0	0	11	(10.8)
Lege u sympt	0	0	4	6,7	0	4	(3.9)
Lege m sympt	20	55,6	25	41,7	2	47	(46.1)
Totalt	36		60		6	102	

I tabell 3 er det en sammenlikning mellom resultatene med de to ulike testene.

Av de 102 mykoplasma-positive prøveresultatene vi fikk fra studielaboratoriet, var det 25 som ikke ble positive på prøve sendt til eget laboratorium (Tabell 3). Av disse var 8 fra kvinner (32%) mens hovedandelen (68 %) var urinprøver fra menn. Fem av de de 8 falsk negative vaginale penselprøvene var fra kvinner med symptomer.

Blant urinprøvene (fra mennene) var det 26 % av prøvene (17/ 66) som var falsk negative ved eget laboratorium. Flertallet (59 %) av disse mennene hadde ikke oppgitt at de hadde symptomer.

Tabell 3 Kjønn, symptomer og testresultat for prøver analysert i eget laboratorium og i Sverige.

	pos		neg		Total	
	egen lab	(%)	egen lab	(%)		(%)
kvinner						
u sympt	8	(28.6)	3	(37.5)	11	(30.6)
m sympt	20	(71.4)	5	(62.5)	25	(69.4)
tot	28		8		36	
menn						
u sympt	23	(56.4)	10	(58.8)	33	(50.0)
m sympt	26	(69.2)	7	(41.2)	33	(50.0)
tot	49		17		66	

Har tid siden sist vannlatning noe å si for testens utfall?

Av de 66 mykoplasma-positive mennene oppgav 22 tiden siden siste vannlatning før testen ble tatt (se tabell 4). Flertallet (68%) hadde latt det gå over 3 timer, og 80% av disse mennene fikk positivt utslag på testen benyttet i rutinediagnostikk. Hos de hvor det var gått under 3 timer siden sist vannlatning ble kun 29% (2/7) positive.

Tabell 4 Tid siden vannlatning n=22 av 66 menn fordelt på prøvesvar i rutinetest og i referanselab

	pos	neg	tot	(%)
< 3 t	2	5	7	(31.8)
> 3 t	12	3	15	(68.2)
			22	

Har tid fra sist smitterisiko noe å si for testens utfall?

Totalt hadde vi tidspunkt for siste smitterisiko (definert som tid siden siste seksuelle kontakt) hos 88 av de 102 pasientene (tabell 5). Andelen positive som ikke ble plukket opp på testen som brukes ved eget laboratorium var lavest med «inkubasjonstid» fra 2-4 uker, henholdsvis

19 %. Med mindre enn 14 dager siden sist smitterisiko derimot var det en større andel som ikke ble plukket opp. 30% av de som testet seg før det var gått 2 uker, fikk ikke utslag på PCR med rutinediagnostikk. Ved over 4 ukers «inkubasjonstid» var det 25% som ikke fikk utslag.

Man kan også se av tabell 5 at hele 46 % (40/88) hadde testet seg før det er gått 2 uker, noe som ikke er anbefalt i forhold til retningslinjer.

Tabell 5 Tid fra siste mulige smittetidspunkt til prøvetaking og diagnostikk, n=88.

Inkubasjonstid	Positiv studielab	Positiv egen lab	Antall falske negative
<2 uker	40	28	12 (30 %)
2-4 uker	32	26	6 (19 %)
>4 uker	16	12	4 (25 %)
	88		

Diskusjon

I denne kvalitetsstudien basert på et utvalg av pasienter ved *Olafiaklinikken* i 2016, fant vi en prevalens av MG på 4,6% og 3,4 % ved påvisning med henholdsvis den mest sensitive testen, ”gullstandard”, og ved påvisning i rutinediagnostikk. Om denne prevalensen gjenspeiler prevalensen i befolkningen generelt kan man diskutere da pasientgruppen på *Olafiaklinikken* i hovedsak er en selektert pasientgruppe kun fra Oslo. I tillegg er materialet vårt basert på pasienter som selv oppsøker klinikken, og som antas å ha en høyere risikoatferd og er dermed heller ikke et tilfeldig utvalg. Derimot korrelerer våre observasjoner godt med prevalensen tidligere norske studier har vist (8, 15). Vår prevalens tilsvarer også hva som er vist i liknende studier med pasienter fra SOI-klinikker i utlandet (24). En artikkel fra «Up to date» estimerer prevalensen i den generelle befolkning globalt til å være henholdsvis 1-4% hos menn og 1-6,4% hos kvinner (24-26). Hos menn med NCNGU (non- chlamydial non-gonococcal urethritis) er prevalensen på hele 10-35% (1). SOI-pasienter har en prevalens av mykoplasma på 60-85% av prevalensen for klamydia.

På bakgrunn av at det enda ikke finnes noen gullstandard for mykoplasma-tester, bruker laboratoriene egne *in-house* tester med ulik sensitivitet og spesifisitet. Dette igjen påvirker prevalensen som dermed blir ulik fra sted til sted, og det blir vanskelig å sammenlikne studier.

I vår studie fant vi flest mykoplasma-positive i aldersgruppen 25-29 år, både for menn og kvinner. Dette kan skyldes at denne gruppen var overrepresentert i utvalget vi så på. I den norske studien til Paulsen et al fant de at den totalt største andelen mykoplasma-positive var i alderen 20-24 år. En studie utført i England fant høyest prevalens for menn i aldersgruppen 25-34 år. Prevalensen for kvinner var derimot høyest i gruppen 16-19 år og synkende med alder. De har derimot oppgitt at den absolutte prevalensen hos kvinner i deres studie kan være underestimert da det ble brukt urinprøve og ikke vaginalprøve. (7) Gjennomsnittsalderen for pasienter som testet positivt for *M. genitalium* var i studien til Sonnenberg et al på 25,4 år og i 25,5år i studien til Anagrius et al (4, 15). I vår studie var gjennomsnittsalderen 27,3 år. En grunn til at vi har en høyere gjennomsnittsalder av de mykoplasma-positive, kan være at de yngre pasientene i Oslo går til *Sex og Samfunn* i stedet, som kun tar inn pasienter under 25 år. *Olafiaklinikken* mottar dermed ikke like mange av de yngre pasientene.

Vår observasjon om at 80% av mykoplasmapositive er under 30 år, er i samsvar med Paulsen et al som fant en andel på 77% (15).

I vår studie hadde nesten 60 % av de mykoplasma-positive urogenitale symptomer. Flertallet av kvinnene hadde oppgitt at de hadde plager (69%). Det er vanskelig å si noe om symptomer påvirker utfallet for testen, da det er små tall i studien vår, men av de kvinnene som ikke ble oppdaget på eget laboratorium, var de fleste av disse symptomatiske (63%). Dette korrelerer også godt med tidligere studier som ikke har kunnet påvise noen sammenheng mellom bakteriemengde og sykdom (9, 10, 18). Selv små bakteriemengder kan også forårsake symptomer. Ved symptomer er det lege som tar prøven og det er tidligere vist at selvttatte prøver er minst like sensitive (21).

For mennene fant vi en 50-50 fordeling av de med symptomer og de uten. De fleste som ikke ble oppdaget på eget laboratorium var i motsetning til kvinnene de uten symptomer (59%). En tidligere svensk/dansk studie fant tilsvarende hos menn, med høyere bakteriemengde hos de med symptomer i form av dysuri og utflod, enn hos de asymptomatiske (17). Det er altså ikke helt entydig om symptomene hos våre pasienter har vært avgjørende for om de ble påvist også på eget laboratorium. I denne studien har vi ikke sett på mikroskopifunn.

I vår studie var det hele 43% av pasientene som var asymptomatiske. Disse funnene korrelerer godt med andre studier (4, 8, 27). Dette kan være et godt argument for hvorfor opportunistisk screening kan være viktig. Å gå med ubehandlet mykoplasma-infeksjon vil føre til videre smitte av andre i samfunnet, og det kan i verste fall ha alvorlige etterfølger for enkeltpersoner i form av PID, ektopisk graviditet og infertilitet. Det er grunn til å tro at asymptomatisk bærerskap etter hvert vil øke forekomsten uten opportunistisk screening, men nytten av dette tilbudet må veies opp mot bivirkninger, kostnader og ressursbruk for samfunnet (28).

Hos en tredel av de 66 mykoplasma-positive mennene, hadde vi opplysninger om tid for siste vannlatning. Vi satte et skille på de som hadde holdt urinen i blæra i mer enn 3 timer kontra mindre enn 3 timer. I vår studie fikk 80% av de som hadde ventet i mer enn 3 timer, påvist mykoplasma på eget laboratorium. Kun 3 stykker fikk et negativt resultat. Derimot var det kun 29% (2/7) av de som hadde holdt på urinen i mindre enn 3 timer som fikk positivt utslag på eget laboratorium. På tross av at det er et lite materiale, kan dette indikere noe om at

bakteriemengden i urinen blir for lav om urinen ikke får stått i blæren lenge nok. Bakteriene får da ikke tid til å akkumulere, analysen får ikke fanget opp nok DNA, og utfallet er en falsk negativ test. Så langt er det ikke å finne i litteraturen at noen har gjort en studie på hvor lenge urinen bør ha vært i blæra før man tar en mykoplasmatest. Retningslinjer for 2016 henviser til å bruke samme prosedyrer som for *C. trachomatis*, før man får mer kunnskap på dette området for *M. genitalium*. (7, 19). Dette er noe det absolutt bør forskes mer på fremover da det er en viktig faktor i forhold til utslaget for sensitiviteten til en slik test. En av grunnene til at materialet vårt ble lite var at spørsmålet om siste vannlåtning stod nederst på anamneseskjemaet i DIPS, noe som gjorde at flere sykepleiere og leger glemte å spørre om dette. Det er også mulig at de ikke fikk god nok instruks om å huske å spørre spesifikt etter dette.

En annen variabel vi så på i studien var tid siden siste smitterisiko, altså tiden siden siste seksuelle kontakt. Retningslinjer anbefaler at det bør ha gått minst 2 uker før man tar en test for både *M. genitalium* og *C. trachomatis*, og på bakgrunn av dette delte vi opp i de med ”inkubasjonstid” mindre enn 2 uker, mellom 2-4 uker og de over 4 uker (13). 30% av de som hadde vært utsatt for mulig smitte for mindre enn 2 uker siden ble ikke oppdaget på eget laboratorium. Med mellom 2 og 4 ukers ”inkubasjonstid” var det færre falske negative prøver på eget laboratorium (19 %). En årsak er sannsynligvis høyere bakteriemengde i prøvematerialet. Som nevnt innledningsvis er mykoplasma en svært liten, saktevoksende bakterie, og en grunn til at det blir flere falske negative i en så tidlig fase er nok i stor grad grunnet for få bakterier og dermed for lite arvemateriale for PCR analysen. Har det gått over 4 uker fra siste smitterisiko øker igjen tallene for falske negative (25%). Årsakene kan være at kroppen delvis har begynt å bekjempe infeksjonen selv, og at det dermed er færre bakterier, eller det kan være en tilfeldig døgnvariasjon i bakteriemengden som gjør at ikke alle oppdages med den mindre sensitive PCR analysen – den dagen. En tidligere norsk studie som så på bakteriemengde i daglige urinprøver fra mykoplasma-positive viste at det innimellom forekom negative prøver (19). En svakhet med studien er at vi ikke har fullgode data på dato for smitten, kun et surrogatmål da dato for sist mulig smitte ikke nødvendigvis er datoen for da personen faktisk ble smittet. Det er tilnærmet ingen studier å finne som omhandler inkubasjonstid for *M. genitalium* og retningslinjer for når man bør teste seg etter mulig smitte, kun at man skal følge like retningslinjer som for *C. trachomatis* (13). På dette området trengs det ytterligere forskning på inkubasjonstid for *M. genitalium*.

Studien er basert på selvtatt urinprøve for menn, og selvtatt eller legetatt penselprøve for kvinner. Selv om pasientene får nøye instruksjoner om hvordan man skal ta prøvene, og til tross for instruksjonsbilder på toalettene samt ferdig oppmerkede prøveglass, er det fortsatt en diskusjon hvorvidt en prøve er tatt riktig. Om pasienten ikke har tatt førstestråle-urin, og om plastkoppen er fylt med mer enn 30 ml slik at urinprøven er blitt fortynnet, vil sensitiviteten til testen bli dårligere, da bakteriemengden blir mindre. Tilsvarende er det for *C.trachomatis*, da PCR-analysen krever førstestråle-urin på 10-50 ml (29). For kvinner er det viktig at penselen forblir i skjeden i 10-15 sekunder, for så at penselen er nær skjedeveggen på vei ut. Det er som sagt vist i flere studier at penselprøve er mer sensitiv enn urin for kvinner, henholdsvis 86% kontra 62% i en tidligere norsk studie (4, 10, 20, 22).

Laboratoriens rutiner ved bruk av urin i analysene, er også av betydning. Mengden urin det ekstraheres DNA fra, varierer og jo større prøveløp jo flere mikrober fås med. Dette kan være mer utslagsgivende for analyse av mykoplasma enn for klamydia fordi det i utgangspunktet er så lav bakteriemengde, da den har vist seg å ha gjennomsnittlig hundre ganger så lav mengde i et prøvemateriale i forhold til klamydia (18). Laboratoriens valg av cut-off for hva som er positiv test vil påvirke sensitiviteten av testen men dette inngår som en del av valideringen av in house testene og bør ikke være utslagsgivende her.

Retningslinjer viser til at partnere til mykoplasma-positive alltid skal testes, samt få samme antibiotikabehandling som index-pasienten (13). Hovedårsaken til dette er problemstillingen med par som tester seg, hvor kvinnen f.eks. får positivt test-resultat på grunn av en høyere sensitivitet på vaginalpenselen, mens hvor mannen får et negativt resultat grunnet dårligere sensitivitet på en urinprøve. Siden penselprøve har vist å ha en høyere sensitivitet enn urinprøve hos kvinner, er det også grunn til å tro at en vaginalprøve har høyere sensitivitet enn urinprøve hos menn (22-24). Det er derfor grunn til å opprettholde partnerbehandling uavhengig av prøvesvar.

Konklusjon:

Denne studien viser viktigheten av at prøver ikke tas for tidlig ift. siste vannlatning og ift. tid siden sist smitterisiko. Pasientene må bli godt instruert om riktig prøvetakning for at påliteligheten av prøvesvaret skal bli best mulig. Denne kvalitetsstudien er basert på et lite utvalg og det kan ikke trekkes konklusjoner basert på våre funn. Ytterligere forskning på området er nødvendig for mer konkrete retningslinjer.

Referanser

1. Taylor-Robinson D, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: from Chrysalis to multicolored butterfly. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24(3):498-514.
2. Tully JG, Taylor-Robinson D, Cole RM, Rose DL. A newly discovered mycoplasma in the human urogenital tract. *Lancet.* 1981;1(8233):1288-91.
3. Taylor-Robinson D, Gilroy CB, Jensen JS. The biology of *Mycoplasma genitalium*. *Venerology.* 2000(13):119-27.
4. Anagrus C, Lore B, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: prevalence, clinical significance, and transmission. *Sex Transm Infect.* 2005;81(6):458-62.
5. Lis R, Rowhani-Rahbar A, Manhart LE. *Mycoplasma genitalium* infection and female reproductive tract disease: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2015;61(3):418-26.
6. Moi H, Maltau JM. *Seksuelt overførbare infeksjoner og genitale hudsykdommer.* 2. ed. Oslo: Gyldendal Norsk Forlag AS; 2008.
7. Sonnenberg P, Ison CA, Clifton S, Field N, Tanton C, Soldan K, et al. Epidemiology of *Mycoplasma genitalium* in British men and women aged 16-44 years: evidence from the third National Survey of Sexual Attitudes and Lifestyles (Natsal-3). *Int J Epidemiol.* 2015;44(6):1982-94.
8. Moi H, Reinton N, Moghaddam A. *Mycoplasma genitalium* is associated with symptomatic and asymptomatic non-gonococcal urethritis in men. *Sex Transm Infect.* 2009;85(1):15-8.
9. Falk L, Fredlund H, Jensen JS. Symptomatic urethritis is more prevalent in men infected with *Mycoplasma genitalium* than with *Chlamydia trachomatis*. *Sex Transm Infect.* 2004;80(4):289-93.
10. Falk L, Fredlund H, Jensen JS. Signs and symptoms of urethritis and cervicitis among women with or without *Mycoplasma genitalium* or *Chlamydia trachomatis* infection. *Sex Transm Infect.* 2005;81(1):73-8.
11. Wold C, Sorthe J, Hartgill U, Olsen AO, Moghaddam A, Reinton N. Identification of macrolide-resistant *Mycoplasma genitalium* using real-time PCR. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015;29(8):1616-20.
12. Jensen JS, Bradshaw C. Management of *Mycoplasma genitalium* infections - can we hit a moving target? *BMC Infect Dis.* 2015;15:343.
13. Jensen JS, Cusini M, Gomberg M, Moi H. Background review for the 2016 European guideline on *Mycoplasma genitalium* infections. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2016;30(10):1686-93.
14. Salado-Rasmussen K, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium* testing pattern and macrolide resistance: a Danish nationwide retrospective survey. *Clin Infect Dis.* 2014;59(1):24-30.
15. Paulsen LK, Dahl ML, Skaare D, Grude N. Prevalence of *M. genitalium* and *U. urealyticum* in urine tested for *C. trachomatis*. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2016;136(2):121-5.
16. Jensen JS, Uldum SA, Sondergard-Andersen J, Vuust J, Lind K. Polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma genitalium* in clinical samples. *J Clin Microbiol.* 1991;29(1):46-50.
17. Jensen JS, Bjornelius E, Dohn B, Lidbrink P. Use of TaqMan 5' nuclease real-time PCR for quantitative detection of *Mycoplasma genitalium* DNA in males with and without urethritis who were attendees at a sexually transmitted disease clinic. *J Clin Microbiol.* 2004;42(2):683-92.
18. Walker J, Fairley CK, Bradshaw CS, Tabrizi SN, Chen MY, Twin J, et al. 'The difference in determinants of *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma genitalium* in a sample of young Australian women'. *BMC Infect Dis.* 2011;11:35.
19. Gosse M, Nordbo SA, Pukstad B. Bacterial Load in Daily Urine Samples of Patients Infected with *Mycoplasma genitalium*, Mutation Analysis, and Response to Treatment. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2016;2016:8382469.

20. Jensen JS, Bjornelius E, Dohn B, Lidbrink P. Comparison of first void urine and urogenital swab specimens for detection of *Mycoplasma genitalium* and *Chlamydia trachomatis* by polymerase chain reaction in patients attending a sexually transmitted disease clinic. *Sex Transm Dis.* 2004;31(8):499-507.
21. Moi H. [Which test is best to diagnose genital chlamydia infection?]. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2011;131(13-14):1279.
22. Moi H, Reinton N, Moghaddam A. *Mycoplasma genitalium* in women with lower genital tract inflammation. *Sex Transm Infect.* 2009;85(1):10-4.
23. H.B. S. Hvilket prøvemateriale gir best sensitivitet for deteksjon av mykoplasma genitalium hos kvinner: en studie som ledd i utvikling av retningslinjer for deteksjon av denne bakterien i Norge [Student thesis in Medicine]. NTNU, Faculty of Medicine, Department of Cancer research and Molecular Medicine. Trondheim, Norway 2015.
24. Svenstrup HF, Dave SS, Carder C, Grant P, Morris-Jones S, Kidd M, et al. A cross-sectional study of *Mycoplasma genitalium* infection and correlates in women undergoing population-based screening or clinic-based testing for *Chlamydia* infection in London. *BMJ open.* 2014;4(2):e003947.
25. Cazanave C, Manhart LE, Bebear C. *Mycoplasma genitalium*, an emerging sexually transmitted pathogen. *Med Mal Infect.* 2012;42(9):381-92.
26. Walker J, Fairley CK, Bradshaw CS, Tabrizi SN, Twin J, Chen MY, et al. *Mycoplasma genitalium* incidence, organism load, and treatment failure in a cohort of young Australian women. *Clin Infect Dis.* 2013;56(8):1094-100.
27. Mellenius H BJ, Lundqvist EN et al. *Mycoplasma genitalium* bör misstänkas vid ospecifik uretrit och cervicit. *Läkartidningen* 2005.102:3538, 40, 41.
28. Aavitsland P. Screening for *Mycoplasma genitalium* infection? *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2016;136(2):104.
29. Moncada J, Chow JM, Schachter J. Volume effect on sensitivity of nucleic acid amplification tests for detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens from females. *J Clin Microbiol.* 2003;41(10):4842-3.