

1 **Titel: Fra dage til timer: Hurtig diagnostik af blodforgiftning**
2 **med metagenomisk DNA-sekventering**
3

4 **Indholdsfortegnelse:**

5		
6	Forsøgsansvarlige	2
7	Baggrund:	3
8	Projektbeskrivelse	4
9	Studiedesign:	4
10	Styrkeberegning.....	4
11	Hypotese:.....	5
12	Formål:.....	5
13	Inklusionskriterier:.....	5
14	Eksklusionskriterier:	5
15	Tilrettelæggelse:.....	5
16	Bivirkninger:.....	8
17	Endemål:.....	8
18	Forskningsbiobank:.....	8
19	Sekventering og dataanalyse.....	8
20	Samtykke og oplysninger fra patientjournalen:	8
21	Indsamling og håndtering af data:.....	9
22	Videnskabsetisk redegørelse:.....	9
23	Perspektiver:.....	10
24	Offentliggørelse af forsøgsresultater:	10
25	Økonomi og budget:.....	10
26	Referencer:	10

27

28

Dansk protokol: Titel: Fra dage til timer: Hurtig diagnostik af blodforgiftning med metagenomisk DNA-sekventering, version 3, 25-04-2023

Projektsansvarlig læge: Hans Linde Nielsen, telefon: 97 66 54 23, e-mail: halin@rn.dk

1 **Forsøgsansvarlige**

2

3 **Forsøgsansvarlig læge og primære investigator:**

4 Hans Linde Nielsen

5 Forskningsansvarlig overlæge, ph.d., Klinisk lektor

6 Klinisk Mikrobiologisk Afdeling

7 Aalborg Universitetshospital

8 Hobrovej 18-22

9 9000 Aalborg

10 halin@rn.dk

11 Telefon: 97 66 54 23

12

13 **Samarbejdspartner:**

14 Mads Albertsen

15 Professor, ph.d.

16 Center for Microbial Communities

17 Sektion for Bioteknologi

18 Institut for Kemi og Biovidenskab

19 Fredrik Bajers Vej 7H

20 9220 Aalborg

21 ma@bio.aau.dk

22

23 **Projekt-Investigatører:**

24 Kirstine Kobberøe Søgaaard

25 Afdelingslæge, ph.d.

26 Klinisk Mikrobiologisk Afdeling

27 Aalborg Universitetshospital

28 Hobrovej 18-22

29 9000 Aalborg

30 kirstine.soegaard@rn.dk

31

32 Morten Eneberg Nielsen

33 PhD studerende

34 Center for Microbial Communities

35 Sektion for Bioteknologi

36 Institut for Kemi og Biovidenskab

37 Fredrik Bajers Vej 7H

38 9220 Aalborg

39 menie@bio.aau.dk

40

41 Anne Lund Krarup

42 Overlæge, ph.d.

43 Akutmodtagelsen

44 Aalborg Universitetshospital

45 Hobrovej 18-22

46 9000 Aalborg

47 apslk@rn.dk

48

1 **Baggrund:**

2 Blodforgiftning er et hyppigt fund, der ofte er forbundet med betydelig dødelighed ved udvikling af
3 sepsis og bidrager til en stor sundhedsbyrde i Danmark og på verdensplan. WHO anslår at der hvert
4 år er 49 millioner tilfælde af sepsis og 11 millioner sepsis-relaterede dødsfald på verdensplan, og
5 incidensen er stigende [1]. Sepsis er således en særdeles alvorlig sygdom, og skyldes oftest at
6 bakterier er kommet over i blodbanen (bakteriæmi), men kan også skyldes virus eller svampe i
7 blodbanen. Symptomerne er ofte høj feber og kulderystelser. Bakteriæmi bekræftes af væksten af
8 bakterier fra en bloddyrkning opnået fra en patient med kliniske tegn på infektion. De hyppigst
9 forekommende bakterier er *Escherichia coli* efterfulgt af *Staphylococcus aureus* [2]. Især voksne over
10 65 år og spædbørn under et år har større risiko for at dø inden for de første 30 dage efter bakteriæmi
11 [3].

12 Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Aalborg Universitetshospital udfører mikrobiel diagnostik for hele
13 Region Nordjylland, og udfører ca. 28.000 bloddyrkninger årligt, men kun knap 10% er
14 dyrkningspositive. Selve bloddyrkingen er, og som navnet siger, en dyrkningsbaseret metode, hvor
15 det oftest tager adskillige timer eller op til 2-3 døgn før der er et positivt svar. Alle bloddyrkninger
16 ringes ud af KMA-læge til den behandlende læge med rådgivning om dyrkningsfundets betydning
17 ift. patientens klinisk syndrom og antibiotisk behandling. Den behandlende sygehuslæge er dog oftest
18 nødt til at starte empirisk antibiotisk behandling, og ikke afvente svar på selve bloddyrkingen da
19 man ikke kan vente på et dyrknings svar hos kritisk syge patienter med feber. Her kan der dog være
20 risiko for, at der opstartes enten bred empirisk antibiotisk behandling eller ikke-dækkende antibiotisk
21 behandling. I et studie fra USA og Canada betød det, at >20% af alle patienter fik administreret forkert
22 antibiotika, der medførte betydeligt større dødelighed [4].

23 Derudover kan det være problematisk og uhensigtsmæssigt at behandle med 'unødvendig' bred
24 antibiotisk behandling i en tid med stigende resistensudvikling, og WHO anslår at multiresistente
25 bakterier alene vil være årsag til 20% af alle dødsfald i 2050, hvis ikke vi ændrer praksis for brugen
26 af antibiotika [5]. Dertil kommer antibiotika-relaterede bivirkninger som eksempelvis *Clostridioides*
27 *difficile* infektion, og en reduktion i den normale tarm-mikrobiotas diversitet. Samtidig kan
28 sensitiviteten af en dyrkningsbaseret metode reduceres markant hvis patienten har modtaget
29 antibiotisk behandling inden at selve bloddyrkingen er taget.

30

31 **Metagenomisk DNA-sekventering som diagnostisk alternativ**

32 For at imødekomme de ovenfor beskrevne udfordringer, vil dette projekt anvende *state-of-the-art*
33 DNA-sekventeringsteknologi og molekylære metoder udviklet til studiet af forhistorisk-DNA
34 (ancient DNA) til identifikation af bakterier, virus eller svampe i blodet hos patienter, der indlægges
35 med sepsis og hvor behandlende læge har ordineret en bloddyrkning. Denne teknologi kan muligvis
36 revolutionere den kliniske mikrobiologiske diagnostik, forhåbentlig ved at nedbringe svar-tiden (turn-
37 around-time) fra prøvetagning til prøvesvar til behandlende læge med helt ned til under 6 timer.
38 Derudover har DNA-sekventering en højere sensitivitet og DNA fra døde bakterier vil også kunne
39 påvises. Svaret på prøven kan derfor afgives samme dag som prøven modtages og det er indenfor en
40 tidsramme, som kan have stor betydning for at stille en tidlig diagnose og det vil give behandlende
41 læge mulighed for at ordinere færre uhensigtsmæssige bredspektrede antibiotika såsom
42 cephalosporiner, fluorquinoloner og carbapenemer [6].

1

2 **Projektbeskrivelse**

3

4 **Studiedesign:**

5 Studiet er initieret af den forsøgsansvarlige læge og sker i samarbejde med Akutmodtagelsen på
6 Aalborg Universitetshospital ved Overlæge Anne Lund Krarup og Center for Microbial
7 Communities, Aalborg Universitet ved Professor, Mads Albertsen.

8 Patienter der indlægges i akutmodtagelsen, Aalborg Universitetshospital på mistanke om
9 blodforgiftning, og hvor der tages et bloddyrkningsæt vil blive inkluderet i studiet. Inden
10 bloddyrkningssettet tages vil patienten få udleveret skriftlig deltagerinformation samt en mundtlig
11 information om studiet.. Kun hvis patienten giver skriftligt samtykke vil vedkommende blive
12 inkluderet og der tages et ekstra blodprøveglas (se nedenunder), hvorfra det mikrobielle DNA
13 oprenses og sekventeres i batch. Resultaterne fra DNA-sekventeringen vil derefter blive sammenholdt
14 med de negative og positive dyrkningsresultater fra bloddyrkningsresultaterne og der vil blive indhentet
15 oplysninger fra patienternes journal ift. om patienterne er inficerede med henblik på at evaluere den
16 diagnostiske værdi af denne ekstra analyse. Det er op til den forsøgsansvarlige læge og
17 projektgruppen at vurdere betydningen af det evt. mikrobielle DNA der kortlægges og som
18 identificerer en mulig patogen. Denne viden indhentes retrospektivt efter patientens indlæggelse, og
19 denne vil ikke få direkte besked herom. Hvis der er en positiv bloddyrkning, kan det mikrobielle DNA
20 naturligvis vise at være samme mikroorganisme. Hvis der er en negativ bloddyrkning, men en pos.
21 DNA-sekventering med identifikation af en potentiel patogen mikroorganisme vil projektgruppen
22 evaluere om det kunne være årsagen til patientens sygdom.

23

24 **Styrkeberegning**

25 Styrkeberegningen er foretaget med udgangspunkt i følgende forudsætninger for den statistiske
26 analyse, der efterfølgende vil blive anvendt:

27 1) Resultaterne er dikotomiske (positive eller negative). Det gælder både for bloddyrkning
28 og DNA-sekventering, at resultaterne kan betragtes som værende enten positive eller negative. I
29 tilfælde af flere positive patogener fra én prøve vil denne fortsat betragtes som positiv.

30 2) Resultaterne er afhængige af hinanden, fordi det er den samme patient, der på samme
31 tidspunkt får foretaget to analyser. Med baggrund i ovenstående forudsætninger anvendes
32 McNemar's test for statistisk signifikans. Følgende antagelser er anvendt i beregningen af antal
33 nødvendige inkluderede. Generelt er ca. 10 % af bloddyrkningsresultater positive (p_0) og bedste skøn er, at
34 DNA-sekventering kan detektere ca. 20 % af forårsagende patogener (p_1). Med en power på 90% og
35 $\alpha = 0.05$, hvor $z_{1-\frac{\alpha}{2}} = 1.96$ og $z_{1-\beta} = 1.282$ giver det følgende stikprøvestørrelse:

$$36 \quad n = \left(\frac{\left(z_{1-\frac{\alpha}{2}} * \sqrt{p_1 + p_0} + z_{1-\beta} * \sqrt{p_1 + p_0 - (p_1 - p_0)^2} \right)^2}{p_1 - p_0} \right)^2$$

37

$$38 \quad n = \left(\frac{\left(1.96 * \sqrt{0.20 + 0.1} + 1.282 * \sqrt{0.20 + 0.1 - (0.20 - 0.1)^2} \right)^2}{0.20 - 0.1} \right)^2 = 312$$

39

40 Da proportionerne for detektion hvorpå udregningerne er baseret er bedste skøn hvad angår DNA-
41 sekventering, ansøges om tilladelse til at inkludere 350 patienter.

1 **Hypotese:**

2 Ved anvendelse af metagenomisk DNA-sekventering kan studiet via en forbedret metode identificere
3 evt. patogene mikroorganismer i patientens blod hurtigere og med højere sensitivitet end den
4 traditionelle bloddyrkning. Svar på DNA-sekventeringen kan gøres hurtigt og vil kunne sænke turn-
5 around-time og give en mulighed for hurtig diagnostik sammenlignet med den nuværende
6 dyrkningsbaserede metode og derved potentielt facilitere muligheden for en hurtigere og mere
7 målrettet (smalspektret) antibiotisk behandling til den septiske patient.

8
9 **Formål:**

10 At undersøge akutte septiske patienter hvor behandlende læge har ordineret en bloddyrkning via
11 Akutmodtagelsen, Aalborg Universitetshospital for mikrobielt DNA i blodet. At klarlægge turn-
12 around time, og sammenligne resultaterne fra DNA-sekventeringen med resultatet fra
13 bloddyrkingen.

14
15 **Inklusionskriterier:**

- 16 - Voksne patienter med en alder over eller lig 18 år.
17 - Patienten indlagt i Akutmodtagelsen, Aalborg Universitetshospital på mistanke om blodforgiftning.
18 - Behandlende læge i Akutmodtagelsen skal have ordineret en bloddyrkning.
19 - Patienten skal på trods af symptomer på infektion være vågen, klar og relevant.
20 - Patienten skal være bosiddende i Region Nordjylland.

21
22 **Eksklusionskriterier:**

- 23 - Alder under 18.
24 - Inhabil
25 - Demens
26 - Svært konfus

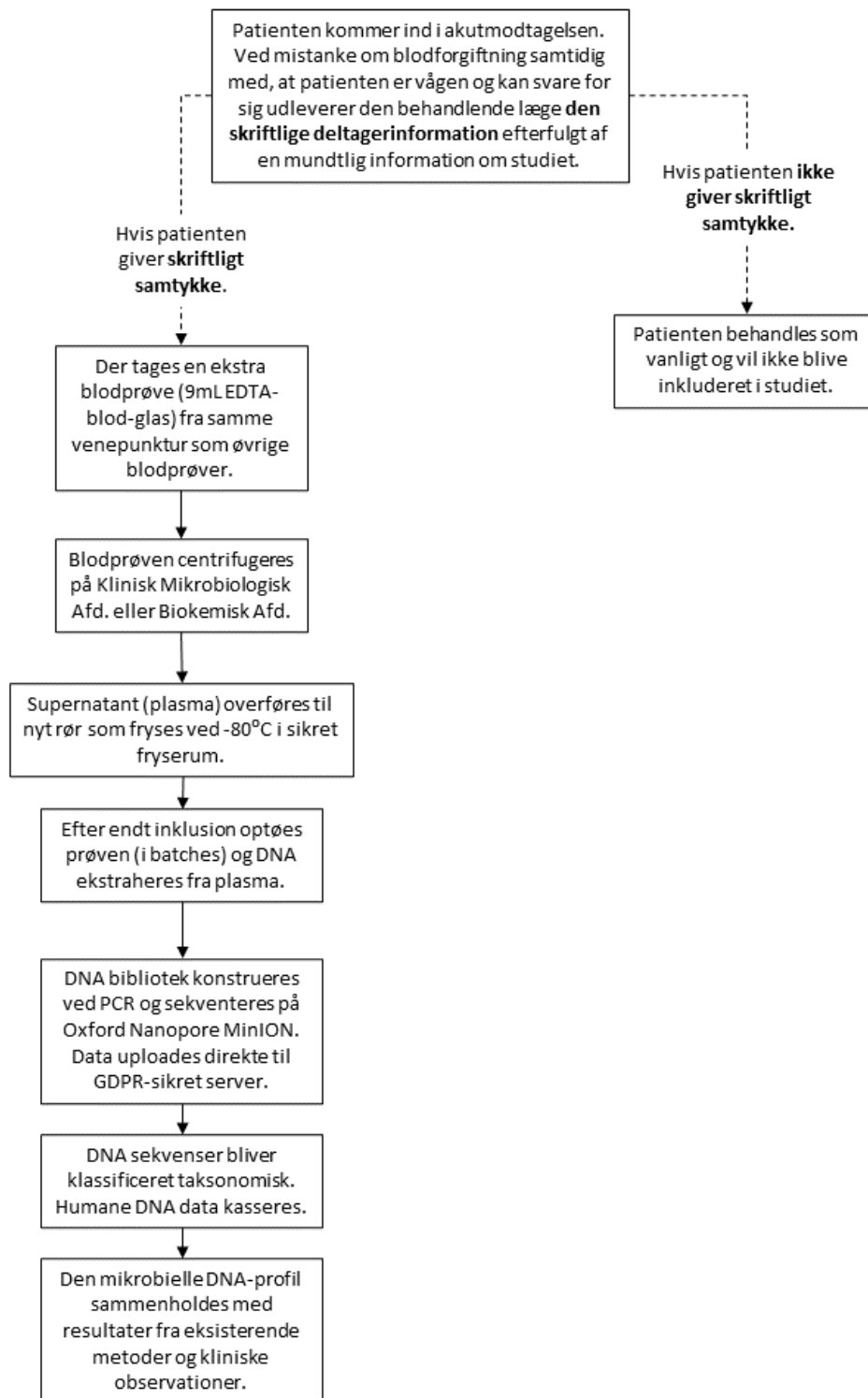
27
28 **Tilrettelæggelse:**

29 Inklusion af patienter vil ske i tidsperioden fra den 1. maj 2022 til 1. december 2022.

30
31 En blodprøve fra hver patient vil blive frosset ned ved -80 grader og derefter analyseret med DNA-
32 sekventering i batch efter selve patient-inklusionsperioden. Analysen af alle prøver vil ske indenfor
33 1 år fra prøvetagning. Resultaterne fra DNA-sekventering, bloddyrkning og patientens sygehistorie
34 vil blive gjort op retrospektivt, og resultaterne af sekventering og bloddyrkning vil blive
35 sammenlignet.

36
37 Patienter indlagt på Akutmodtagelsen, Aalborg Universitetshospital på klinisk mistanke om
38 sepsis/blodforgiftning vil blive forsøgt inkluderet, som forsøgspersoner i studiet. Kun habile patienter
39 vil få udleveret skriftlig deltagerinformation opfulgt af mundtlig information af den behandlende læge
40 af den behandlende læge i Akutmodtagelsen. Dennes svar på deltagerinformationen afventes og ved
41 skriftligt samtykke tages et ekstra blodprøveglas i forbindelse med bloddyrkningssettet.. Ved
42 tvivlsspørgsmål for den behandlende læge om inklusion kan en af enten den forsøgsansvarlige læge
43 Hans Linde Nielsen, Morten Eneberg Nielsen eller Overlæge Anne Lund Krarup kontaktes. Svært
44 septiske patienter kan være så almen påvirkede og konfuse at de ikke vil være i stand til at tage stilling
45 til evt. deltagelse, hvorfor de ikke vil blive spurgt om deltagelse. Vurdering af om patienten er egnet
46 inklusion ift. ikke-inklusion foretages af den behandlende læge i Akutmodtagelsen og vurderingen
47 baseres udelukkende på en klinisk vurdering ift. om det skønnes rimeligt at patienten er i stand til at

- 1 modtage den mundtlige information. Det betyder dog at der sker en vis grad af selektionsbias i
2 patientkohorten, som kan nedsætte studiets validitet.
- 3 Hvis behandlende/modtagende læge vurderer at patienten på trods af symptomer på infektion er vågen
4 og klar, og kan inkluderes i studiet vil den behandlende/modtagende læge give patienten mundtlig
5 information om projektet efter at have udleveret den skriftlige deltagerinformation i form af,
6
- 7 • Den Nationale Videnskabsetisk Komité's skrivelse: "Forsøgspersonens rettigheder i et
8 sundhedsvidenskabeligt forskningsprojekt".
 - 9 • Skriftlig deltagerinformation.
 - 10 • Informeret samtykke til deltagelse (S3) – til den forsøgsansvarlige læge.
 - 11 • Informeret samtykke til deltagelse (S3) – kopi til eget brug.
- 12
- 13 Såfremt patienten giver skriftligt informeret samtykke til deltagelse vil der udover den ordinerede
14 bloddyrkning også blive taget et ekstra EDTA-blod-glas med 9 ml blod.
- 15 Selve prøvetagning af EDTA-glasset vil ske i samme venepunktur som selve bloddyrkningen, men
16 efter at bloddyrkningen er taget. Derudover er det også vanlig procedure at tage div. blodprøver til
17 Klinisk Biokemisk Afd. til måling af infektionstal, væsketal, nyretal etc. i samme seance. Det er
18 vigtigt, at det ekstra EDTA-blod-glas tages ved indlæggelse sammen med bloddyrkningen, da
19 sammenligningsgrundlaget for resultaterne fra hver analyse (DNA-sekventering og dyrkning) ellers
20 forsvinder.
- 21 EDTA-blod-glasset vil følge bloddyrkningen og blive transporteret til Klinisk Mikrobiologisk Afd.,
22 hvor den registreres med samme lokale prøvenummer som bloddyrkningen. Bloddyrkningen vil blive
23 håndteret på vanlig vis i det mikrobiologiske laboratorium, men EDTA-blod-glasset vil blive placeret
24 i en fryser ved -80 grader, se nedenstående om Forskningsbiobank. Princippet er dog at prøverne først
25 bliver undersøgt efter, at alle prøver er indsamlet.
- 26
- 27
- 28 Såfremt patienten ønsker betænkningstid ift. endelig deltagelse kan patienten ikke inkluderes i studiet,
29 da bloddyrkningssettet ikke skal forsinkes.



1
2 Figur 1. Flowchart over prøvehåndtering.

3
4 Patienten kan altid få svar på yderligere spørgsmål ifm. projektet ved at kontakte den
5 forsøgsansvarlige læge eller en af investigatorene telefonisk eller per e-mail.
6

1 **Bivirkninger:**

2 Der er ingen væsentlige bivirkninger ved at deltage i undersøgelsen. Den behandlende læge har
3 ordineret en bloddyrkning og i samme venepunktur udtages et ekstra EDTA-blod-glas (9 ml).

5 **Endemål:**

6 Er at undersøge anvendelsen af metagenomisk DNA-sekventering som metode til identifikation af
7 den patogene mikroorganisme som årsag til patientens sepsis/blodforgiftning ift. den traditionelle
8 bloddyrkning. Selv om selve DNA-sekventeringen udføres i batch, vil det også blive evalueret om
9 analysen kan udføres her og nu (realtime) med en hurtig turn-around-time og dermed give mulighed
10 for hurtig diagnostik sammenlignet med den nuværende dyrkningsbaserede metode. På længere sigt
11 kan det potentielt facilitere muligheden for en hurtigere og mere målrettet (smalspektret) antibiotisk
12 behandling til den septiske patient. Målet med dette projekt er også at udvikle selve DNA-
13 sekventeringsmetoden, således at dette projekt vil kunne bane vejen for at anvende DNA-
14 sekventering på andre prøve kategorier, eksempelvis ledvæsker.

15 **Forskningsbiobank:**

16 Som skrevet i ovenstående får alle inkluderede patienter taget et ekstra EDTA-blod-glas. På Klinisk
17 Mikrobiologisk Afdeling, Aalborg Universitetshospital adskilles plasma fra de røde blodlegemer og
18 blodplader vha. centrifugering og plasmaet fryses derefter i en -80 °C fryser, hvor kun den
19 forsøgsansvarlige læge har adgang. Inden frysning mærkes plasma-fryserøret med det samme lokale
20 prøvenummer som bloddyrkningssettet, således den forsøgsansvarlige læge via det lokale
21 laboratorieinformationssystem (wwLab, Autonik) altid kan koble prøven tilbage til patienten.

22 Når alle prøver er indsamlet ved projektperiodens udløb, vil prøverne (i batch) blive tøet op i
23 laboratoriet på Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Aalborg Universitetshospital, og DNA'et vil blive
24 ekstraheret til senere sekventering. **Prøverne opbevares indtil 31/12 2027. Alle prøver vil være**
25 **analyseret første gang indenfor 1 år, men prøver fra patienter med bloddyrkningskonfirmeret**
26 **bakteriæmi har vist sig så sjældne, at vi vil opbevare prøverne længere med hensigt på at gentage**
27 **analysen efter eventuelle optimeringer af metoden.** Evt. overskydende materiale vil ikke blive
28 opbevaret.

29 **Sekventering og dataanalyse**

30 For at undersøge tilstedeværelsen af patogene mikroorganismer i blodprøven vil et DNA-bibliotek
31 blive klargjort til sekventering ved anvendelse af SRSLY Technology (Claret Bioscience) Library
32 Preparation og sekventeret på Oxford Nanopore's MinION platform med R10.4 eller R10.4.1
33 flowceller. Sekventeringen udføres på hospitalet med direkte upload af data til en GDPR-sikret server
34 hvor databehandlingen forestår. Humant DNA i datasættet vil ikke blive analyseret og det kasseres
35 jf. WHO's standarder for sletning af humant genomisk data:

36 <https://www.who.int/publications/i/item/9789240018440>

37 Efter kassering af alle humane DNA-sekvenser vil evt. mikrobielle DNA-sekvenser blive overført til
38 Aalborg Universitets servere hvor det mikrobielle DNA vil blive matchet mod en omfattende database
39 af mikrobielt DNA for at bestemme hvilken organisme det kommer fra.

41 **Samtykke og oplysninger fra patientjournalen:**

42 Deltagelse i studiet er frivilligt og indhentede oplysninger vil blive behandlet fortroligt. Deltagende
43 patienter kan til en hver tid trække sig ud af undersøgelsen. Der indhentes informeret samtykke fra
44 alle patienter ved inklusion. Ved skriftligt samtykke til at medvirke i undersøgelsen, giver patienten
45 også samtidig samtykke til, at den forsøgsansvarlige læge herefter må indhente oplysninger fra

1 patientens elektroniske patientjournal. De væsentligste journaloplysninger der vil blive indhentet er
2 vha.,

3

4 - Opslag i wwLab til resultatet af bloddykningssættet – taget samtidig som EDTA-blod-glasset.

5

6 - Opslag i wwLab til registrering af øvrige mikrobiologiske prøvesvar som kan have betydning for
7 den enkelte patients sygdomsforløb, udredning og behandling.

8

9 - Opslag i den EPJ (NorDEPJ) til registrering af patientens, alder og køn, medicin, komorbiditet,
10 endelige indlæggelsesdiagnose, resultat af biokemiske analyser, varighed af selve indlæggelsen, samt
11 hvilken antimikrobiel behandling (ATC-kode J: Midler mod infektionssygdomme til systemisk brug)
12 som blev ordineret under det aktuelle indlæggelsesforløb.

13

14 **Indsamling og håndtering af data:**

15 Oplysninger om forsøgspersonen beskyttes efter lov om behandling af personoplysninger
16 (databeskyttelsesloven) og Sundhedsloven (§40), og projektet vil blive anmeldt til fortegnelsen over
17 alle forsknings- og kvalitetsaktiviteter, hvor Region Nordjylland er dataansvarlig, og hvor der
18 benyttes personhenførbare oplysninger. (ID-nummer følger). Desuden vil data blive behandlet i
19 overensstemmelse med databeskyttelsesforordningen.

20 Alle personfølsomme oplysninger vil blive indtastet løbende i REDCap (<https://redcap.rn.dk/>) og
21 gemt i dette program. Alle data inkl. mikrobiel DNA-profil fra blodprøven fra patienterne vil også
22 blive behandlet fortroligt, og det vil ikke være muligt for patienten at få uddybende svar på egen
23 blodprøve, men vil få det endelige resultat af undersøgelsen tilsendt, medmindre patienten ikke
24 ønsker det.

25

26 **Videnskabsetisk redegørelse:**

27 Hele grundlaget for projektets gennemførelse er hurtig rekruttering af forsøgspersonerne. Ved
28 indlæggelse i Akutmodtagelsen vil patienten naturligvis bliver taget imod af plejepersonalet og af den
29 behandlende læge (akutlæge). Såfremt lægen finder indikation for en bloddykning ud fra patientens
30 kliniske symptomer, vil den behandlende læge give en mundtlig information om studiet og udlevere
31 den skriftlige deltagerinformation. Efter skriftlig accept fra patienten tages det ekstra EDTA-blod
32 glas, ligesom at patienten accepterer de øvrige diagnostiske prøver. En akut indlæggelse med feber,
33 og evt. infektionsrelaterede symptomer kan være en voldsom oplevelse for patienten, men det skønnes
34 ikke at være for psykisk belastende for patienten at give accept til en blodprøve, da denne tages ifm.
35 samme venepunktur som de øvrige diagnostisk prøver inkl. bloddykning. For at undgå en forstyrrelse
36 af patientens forløb i akutmodtagelsen er det den behandlende læge der giver den mundtlige
37 information om studiet og udleverer den skriftlige deltagerinformation. Patienten skal på trods af
38 symptomer på infektion være vågen, klar og relevant, og det skønnes forsvarligt, at det er op til
39 behandlende læge, der ordinerer bloddykningen at vurdere om patient er kandidat til inklusion.
40 Såfremt den behandlende læge er i tvivl, har denne mulighed for at kontakte en af
41 projektinvestigatorerne.

42 En positive bloddykning giver altid anledning til et telefonisk svar fra en læge på Klinisk
43 Mikrobiologisk Afd., og det er vanlig rutine, at KMA-lægen indhenter de relevante oplysninger fra
44 den elektroniske patientjournal eksempelvis allergi, kliniske symptomer, sandsynlige fokus for
45 blodforgiftning og den ordinerede behandling der er givet, for at give den bedst mulige kliniske
46 rådgivning inklusion valg af antibiotisk behandling til den behandlende læge, som er til mest mulig
47 gavn for patienten.

1 De personfølsomme data der indhentes fra laboratorieanalyserne + DNA-sekventering + og den
2 elektroniske patientjournal er naturligvis omfattet af tavshedspligten og vil blive indtastet i REDCap.
3 Alt det humane DNA vil ikke blive analyseret, da det slettes uden sporbarhed, mens evt. mikrobielt
4 DNA vil blive klarlagt og data vil indgå i den samlede kohorte af bloddyrkede patienter i den
5 pågældende projektperiode.

6

7 **Perspektiver:**

8 Tidligere studier af DNA-sekventering af blod i infektiøse patienter har vist lovende resultater som
9 diagnostisk metode, men der er fortsat udfordringer med store mængder af humant DNA, og
10 sekventeringsmetoderne kan være sensitive overfor kontaminering med DNA fra det omgivende
11 miljø, som er uden betydning for infektionen. Vi vil benytte nye analyse-metoder udviklet til at
12 studere forhistorisk-DNA (ancient-DNA) for at berige mikrobielt DNA med det formål at øge
13 sensitiviteten til en reduceret pris. Desuden anvendes Oxford Nanopore som sekventeringsplatform,
14 hvilket forkorter turn-around-time fra ~30 timer til ~6 timer ift. tidligere studier, hvor Illumina
15 sekventering har været anvendt. Målet med projektet er således at bringe DNA-sekventeringen tættere
16 på anvendelse i den kliniske mikrobiologiske rutinediagnostik, og såfremt projektet lykkes,
17 muliggøres et mere informeret valg af antibiotika til behandling af patienter på Aalborg
18 Universitetshospital.

19

20 **Offentliggørelse af forsøgsresultater:**

21 Resultaterne fra undersøgelsen vil blive offentliggjort på nationale og internationale møder samt i en
22 publikation i et internationalt peer-reviewet tidsskrift. Både positive, negative og inkonklusive
23 resultater vil blive offentliggjort. Alle publikationsrettigheder tilfalder den forsøgsansvarlige læge.
24 Forfatterrækkefølgen betinges herudover af den enkeltes indsats i forhold til publikationen.

25

26 **Økonomi og budget:**

27 Alle de involverede personer aflønnes af respektive ansættelsessted (AAUH & AAU) og modtager
28 ikke yderlig økonomisk kompensation for at medvirke i afviklingen af forsøget. Udgifter forbundet
29 med DNA-sekventering dækkes af allerede indhentede fondsmidler fra

30

1. Torben og Alice Frimodts Fond - 15.000 kr.

31

2. Direktør Jakob Madsens og Hustru Olga Madsens Fond – 80.000 kr.

32

3. Beckett Fonden – 100.000 kr.

33

4. Harboefonden – 100.000 kr.

34

35 Forsøgspersoner vil ikke modtage økonomisk kompensation for deres deltagelse, ligesom der ikke
36 ydes betaling for hjælp til læger i akutmodtagelsen. Evt. overlast eller skade som patienten pådrages
37 som følge af projektet vil blive imødekommet af en godtgørelsesordning, der finansieres af sygehuset.

37

38 **Referencer:**

39

40 [1] Global report on the epidemiology and burden of sepsis: current evidence, identifying gaps and
41 future directions. ISBN 978-92-4-001078-9 (electronic version), ISBN 978-92-4-001079-6 (print
42 version). World Health Organization 2020

43

44 [2] Wilson J., Elgohari S., Livermore D.M., Cookson B., Johnson A., Lamagni T., Chronias A.,
45 Sheridan E. Trends among pathogens reported as causing bacteraemia in England, 2004–2008. Clin.
46 Microbiol. Infect. 2011;17:451–458. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03262.x.

47

- 1 [3] Skogberg K., Lyytikäinen O., Ollgren J., Nuorti J.P., Ruutu P. Population-based burden of
2 bloodstream infections in Finland. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012;18:E170–E176. doi: 10.1111/j.1469-
3 0691.2012.03845.x.
4
- 5 [4] Kumar, A., Ellis, P., Arabi, Y., Roberts, D., Light, B., Parrillo, J. E., Dodek, P., Wood, G., Kumar,
6 A., SimonD., Peters, C., Ahsan, M., Chateau, D., Wood, K. E., Laupland, K., Kramer, A., Sharma,
7 S., Lapinsky, S., Marshall, J., Delgra, S. 2009. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results
8 in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest*, 136(5), 1237–1248. doi:
9 10.1378/chest.09-0087
10
- 11 [5] No time to wait: Securing the future from drug-resistant infections. Interagency Coordination
12 Group on Antimicrobial Resistance 2019
13
- 14 [6] Vejledning om ordination af antibiotika, Sundhedsstyrelsen, 10. december 2012 ISBN: 978-87-
15 7104-447-8
16
- 17 [7] Burnham, P., Kim, M. S., Agbor-Enoh, S., Luikart, H., Valantine, H. A., Khush, K. K., & De
18 Vlaminc, I. 2016. Single-stranded DNA library preparation uncovers the origin and diversity of
19 ultrashort cell-free DNA in plasma. *Scientific Reports*, 6(May), 1–9. doi: 10.1038/srep27859
20
- 21 [8] Sheka, D., Alabi, N., & Gordon, P. M. K. 2021. Oxford nanopore sequencing in clinical
22 microbiology and infection diagnostics. *Briefings in Bioinformatics*. Volume 22, Issue 5. doi:
23 10.1093/bib/bbaa403
24
25