

**Snabb direkt resistensbestämning av
Enterobacteriaceae från kliniska blododlingar.
En jämförelse av två metoder.**

Anna Åkerlund

ST-läkare Ryhov

Doktorand LiU

Varför?

- Befintlig snabbresistens:
 - Metodologiskt lite långt från referensmetoden
- Ny snabbresistens:
 - Lite mer standardiserad = bättre?
 - Tillbaka i inkubatorn och läsa igen efter (20)-24h?
 - Resistensbestämning enligt referensmetod bara i tveksamma fall?

Snabbresistens i rutin (D)

- Positiv blododling (BacT/Alert) med gramnegativ stav
- 5 droppar blod i 1,5 ml 0.85% NaCl
- Sprids på 1 MH-F-platta
- 6 AB-lappar
- Inkubering i luft med 4-6% CO₂ at 35±2 °C
- Zonavläsning (EBC) efter 6 h
- Sedan tidigare definierade tentativa brytpunkter för S/R

Snabbresistens från "Maldipellet" (M)

- Pellet för direkt-ID med MALDI TOF
 - 1 ml blod + 200 ul saponinlösning (5%)
 - 5 min inkubering i rumstemperatur
 - Centrifugering → tvätt (avjoniserat vatten)
 - Vortexa → centrifugering → torka pellet
 - Artidentifiering
- EBC → Slamma i 0.85% NaCl till 0,5 McF
- 8 AB-lappar fördelat på 2 MH-plattor
- Inkubera i luft i 35 ± 2 °C
- Zonavläsning efter 6 h
- EUCAST:s brytpunkter

Antibiotika

- Cefotaxim
- Ceftazidim
- Piperacillin-tazobaktam
- Meropenem
- Ciprofloxacin
- (Trimetoprim-sulfametoxazol)
- Tobramycin
- (Amikacin)

Jämförelser

- Samtidigt resistensbestämning med EUCAST:s lappdiffusionsmetod.
- Zon/zonkorrelation
- Eventuella felkategoriseringar
 - Errors (mE, ME, VME)

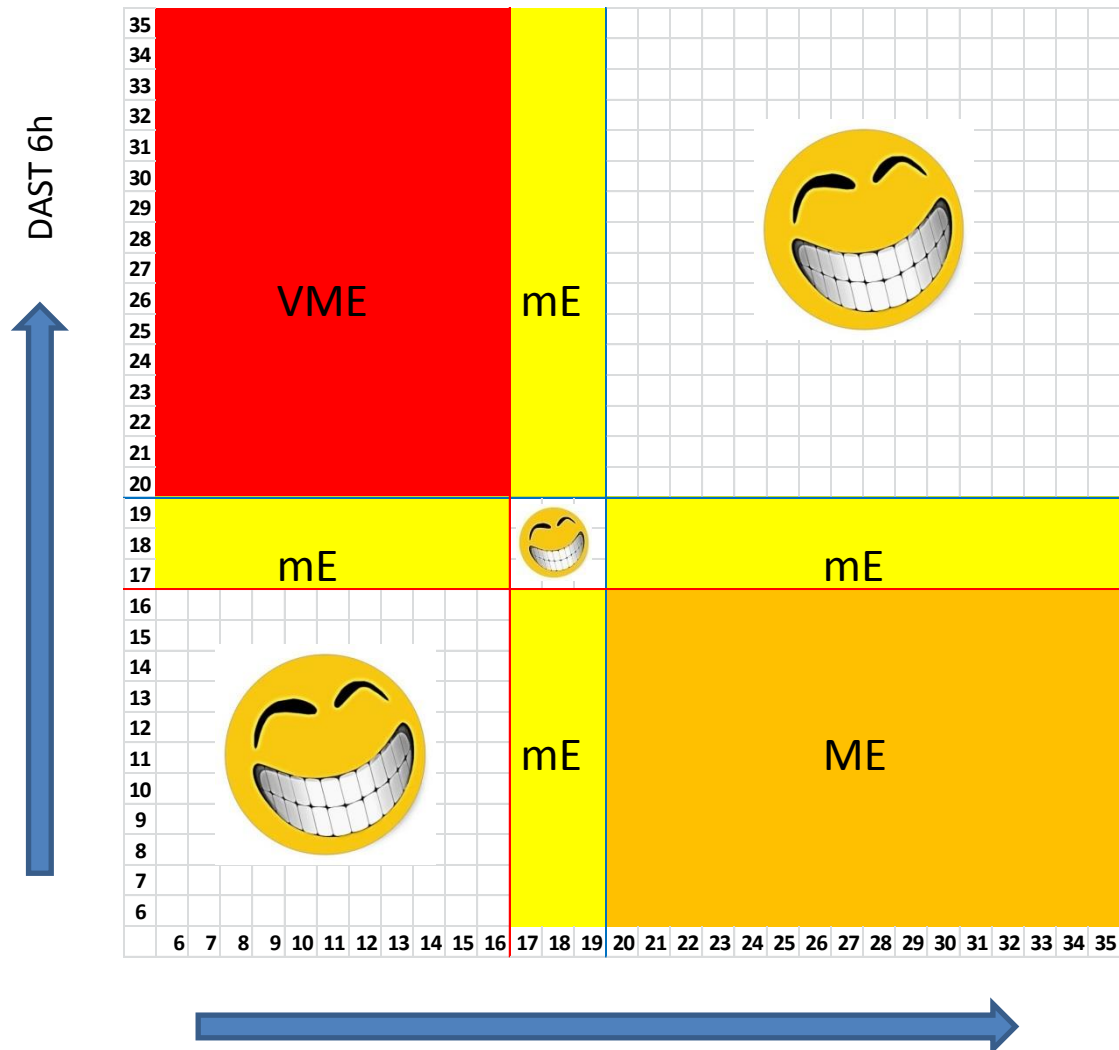
Resultat

	Maldi-pellet	Befintlig
Totalt	187	153
E.coli	131	105
Klebsiella	30	25
Övriga EBC	26	23

Felkategoriseringar

Error	CAZ (M)	CAZ (D)	CTX (M)	CTX (D)	MEM (M)	MEM (D)	CIP (M)	CIP (D)	TZP (M)	TZP (D)	TOB (M)	TOB (D)	SXT (M)	AK (M)
E.coli:	11 mE	0	0	0	0	0	1 VME, 8 ME, 24 mE	1 VME, 3 mE	5 mE	3 ME 2 mE	4 mE	2 mE		1 mE
Klebsiella:	2 mE	0	0	0	0	1 VME	1 VME, 6 mE	2 VME, 1 mE	1 ME, 3 mE	5 ME	2 mE	1 mE	0	1 mE
Other EBC:	3 mE	1 VME	1 VME	1 VME	1 mE	0	1 ME, 8 mE	1mE	1 mE	0	2 mE	0	0	0
Tot:	16 mE	1 VME	1 VME	1 VME	1 mE	1 VME	2 VME, 9 ME, 38 mE	3 VME, 5 mE	1 ME, 8 mE	8 ME, 2mE	8 mE	3 mE	8 VME	2 mE

Definition error

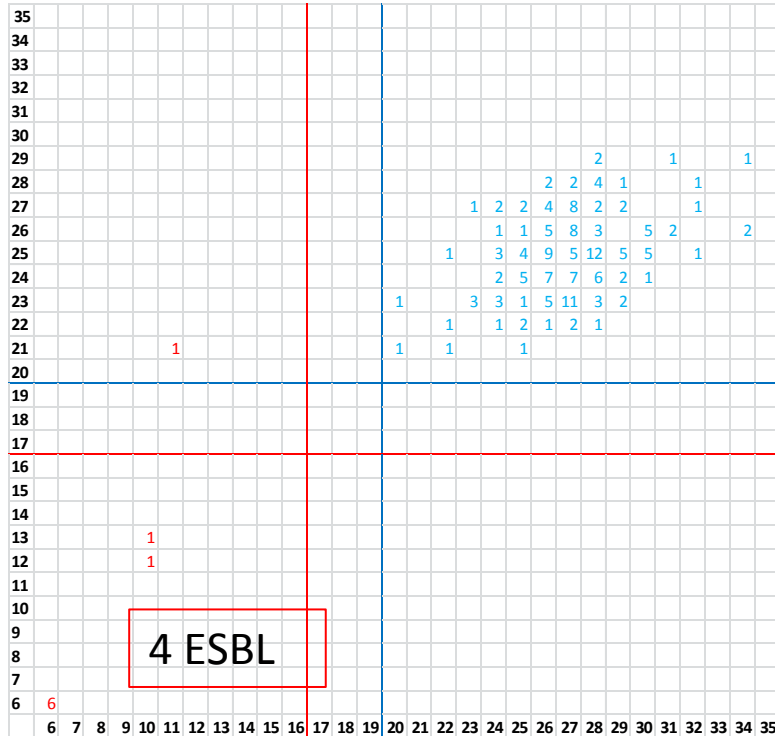


Eucast 18h

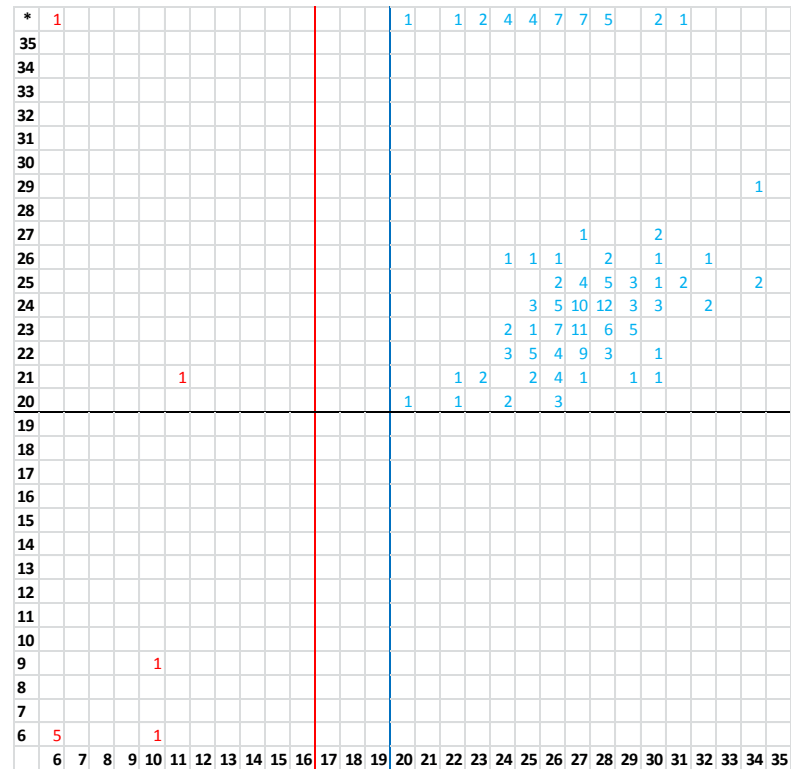
Cefotaxim

DAST 6h

Maldipellet



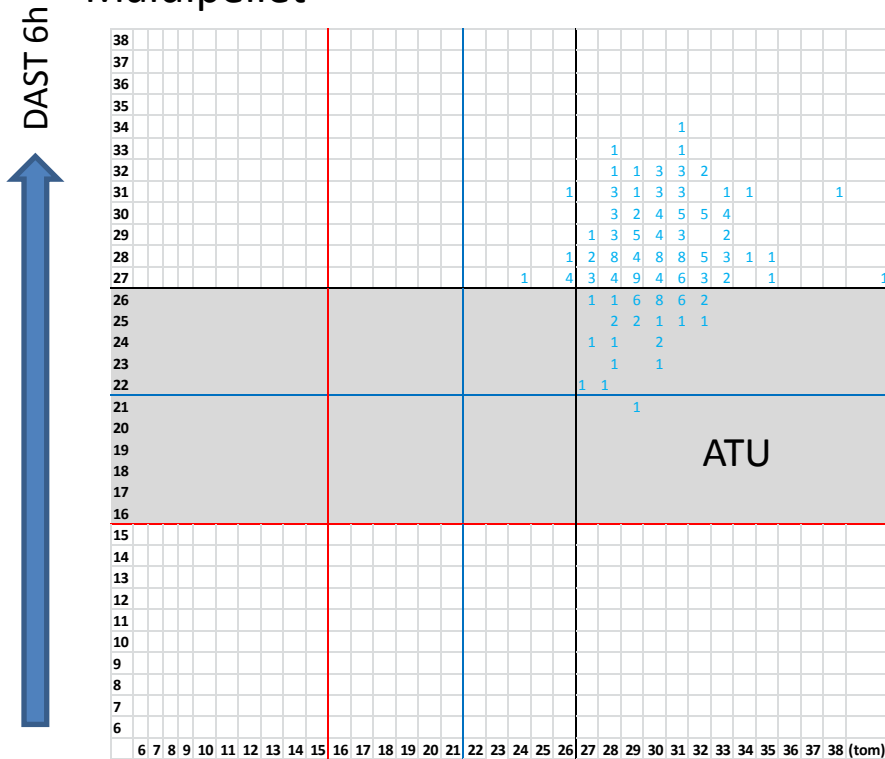
I rutin



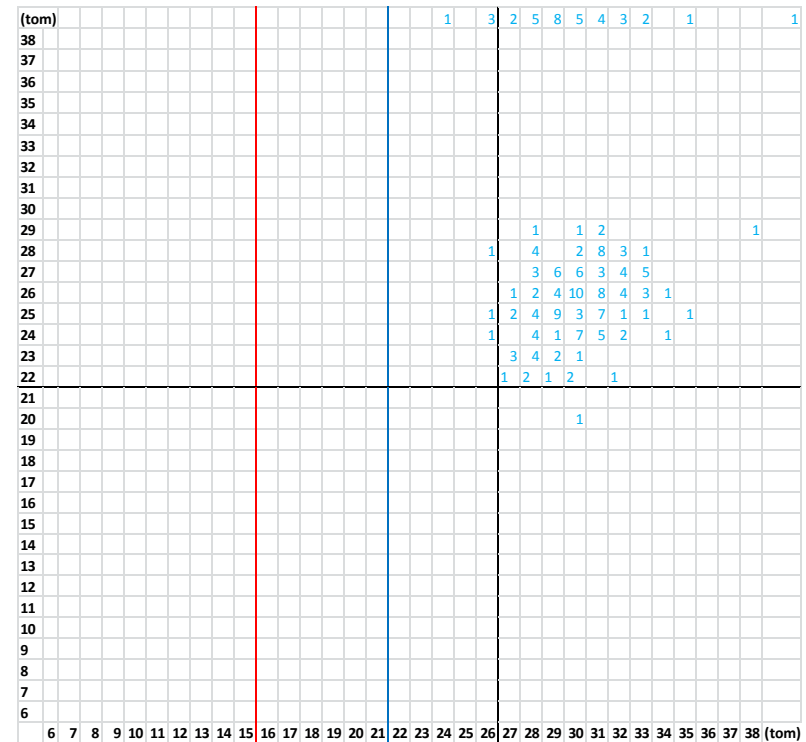
Eucastr 18h

Meropenem

Maldipellet



I rutin



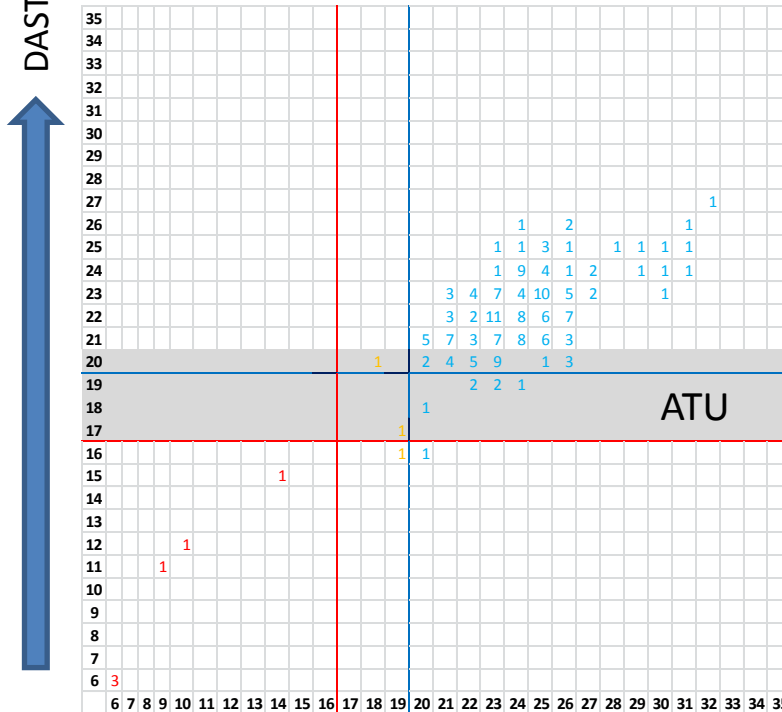
Eucast 18h

Screenpunkt ESBL_{carba}: 11 isolat jmftr med 1 enligt referensmetod.

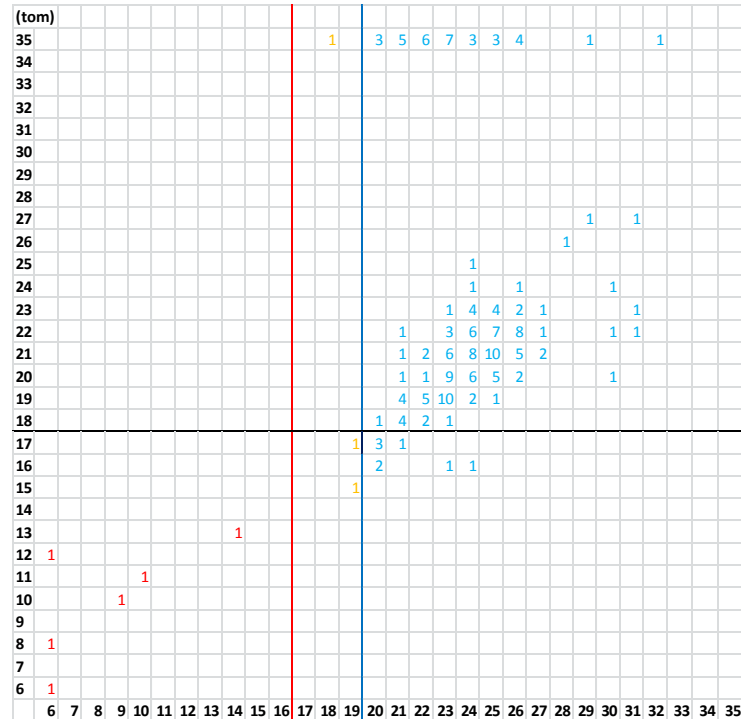
Piperacillin-tazobaktam

Maldipellet

DAST 6h



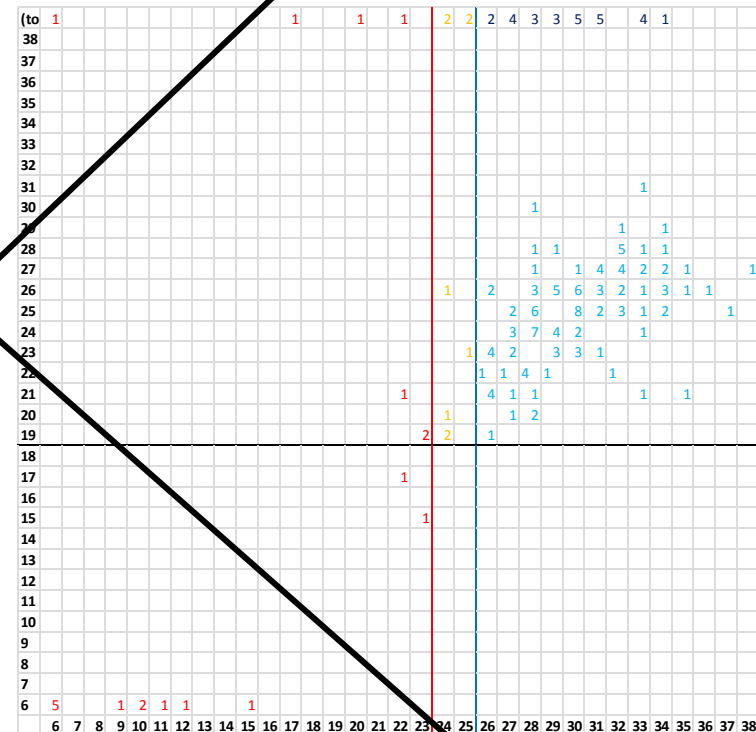
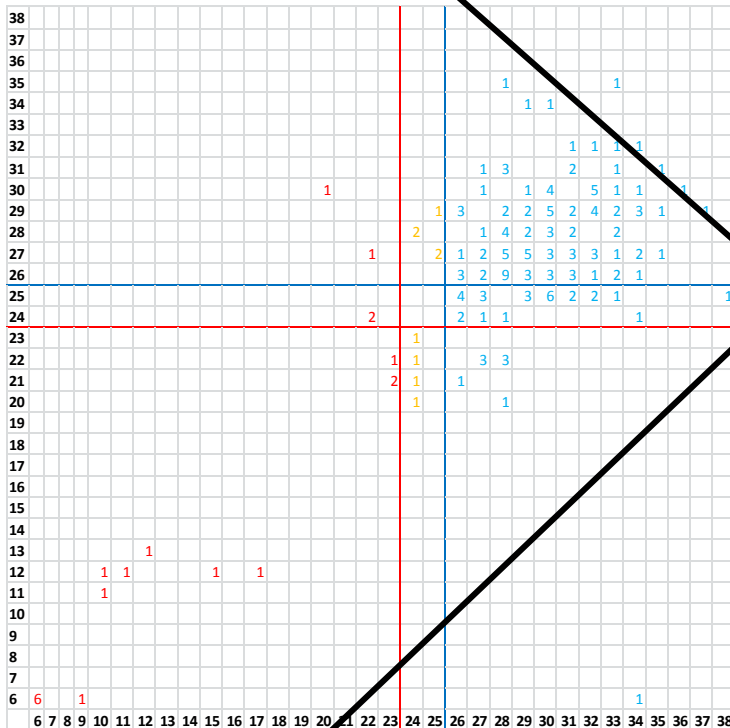
I rutin



Eucast 18h

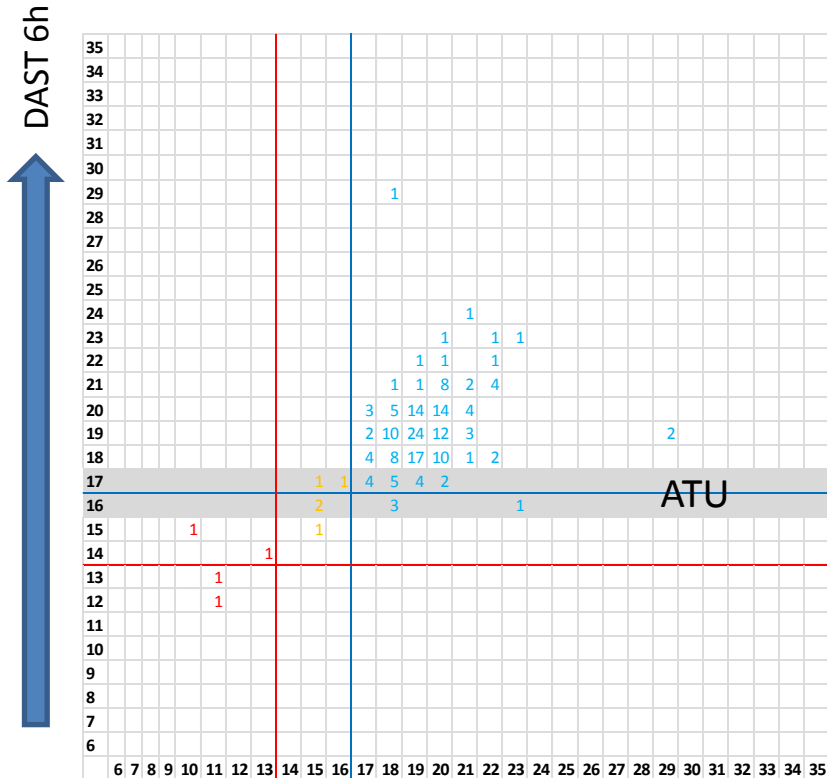


Ciprofloxacin

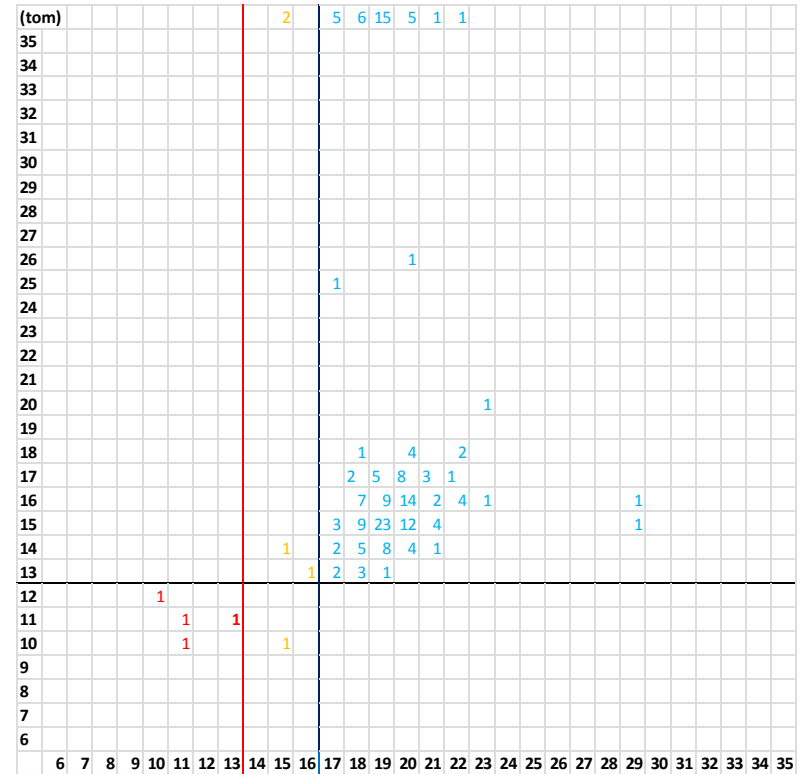


Tobramycin

Maldipellet



I rutin



Eucast 18h

Slutsats

- Båda metoderna fungerar
- Kort inkubation skapar viss osäkerhet
- (M) separerar vildtyp från icke-vildtyp bättre än (D)
- CIP och TSU fungerar inte (men är ändå ej förstahandsbehandling vid sepsis)
- TZP – många errors (ffa mE)
- De 4 ESBL-isolaten hittades
- Screen-bp ESBL_{carba} ej applicerbar? Ffa (D)

”Åtgärder” för säkrare svar

- Area of technical uncertainty (ATU)?
- Justering av brytpunkter?
- Inte svara snabbresistens på ”övriga EBC”?
- MEM – screen. Göra om alla <27 mm med EUCAST:s referensmetod eller direkt göra carba-utredning?
- Göra om allt med referensmetod eller läsa av ”snabb”resistensen igen efter 24h?

	Error	CAZ (M)	CAZ (D)	CTX (M)	CTX (D)	MEM (M)	MEM (D)	CIP (M)	CIP (D)	TZP (M)	TZP (D)	TOB (M)	TOB (D)	SXT (M)	AK (M)
	Tot:	16 mE	1 VME	1 VME	1 VME	1 mE	1 VME	2 VME, 9 ME, 38 mE	3 VME, 5 mE	1 ME, 8 mE	8 ME, 2mE	8 mE	3 mE	8 VME	2 mE
	Med ATU	1 mE		1 VME		0				1 ME, 1 mE		2 mE			2 mE
Svaras ej efter 6 h:		15		0		11		Alla		32		23		Alla	0

Väldigt viktiga personer

- Karin Frykfeldt (metodansvarig blododling)
- Marita Skarstedt (metodspecialist resistensbestämning)
- Jonas Swanberg (Medicinskt ansvarig blododlingar)
- Martin Sundqvist och Lena Serrander (Doktorandhandledare)

Tack!

