

Snabb standardiserad resistensbestämning

Martin Sundqvist

Emma Jonasson

Gunilla Cederbrant

Erika Matuschek

Gunnar Kahlmeter

Dept of Clinical Microbiology Växjö

Varför?

- Ökande resistens
- Felaktig behandling leder till ökad risk för död
- Snabbare turn-over på laboratoriet
- Nya metoder (MALDI-TOF) ger möjlighet till snabb artbestämning

Utveckling av standardiserad resistensbestämning på 6-8h

- 1) Utveckling av metod baserad på MH-F agar och inkubation i 5% CO₂
 - + Snabb tillväxt även av Pnc och Betahemolytiska strept.
 - Kräver separata brytpunkter
 - Svårare i automation
- 2) Utveckling av metod baserad på MH och inkubation i luft (EUROSTAR-projektet)
 - + Bra tillväxt av de viktigaste patogenerna
 - + Ger ev möjlighet att använda existerande brytpunkter
 - + Lättare att automatisera
 - Erbjuder inte en metod för Pnc eller betahemolytiska strept.

Vad behövde vi göra?

- Skapa QC-gränser

- *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- 40 to 70 test per stam
- target value (median) och range (min-max) beräknad

Results part 2 (ATCC)

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Eurostar (6h)		EUCAST (18h)	
(n=44/48)	Target	Range	Target	Range
Cefotaxime 5	22	20-24	28	25-31
Ciprofloxacin 5	27	25-29	35	30-40
Meropenem 10	25	23-27	31	28-34
Ceftazidime 10	22	20-24	26	23-29
Piperacillin/tazobactam 30-6	20	18-22	24	21-27
Trimethoprim 5	22	20-24	25	21-28
Nitrofurantoin 100	20	17-22	20	17-23
Tobramycin 10	19	17-21	22	18-26
Gentamicin 10	19	17-21	23	19-26

<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Eurostar (6h)		EUCAST (18h)	
(n=55/56)	Target	Range	Target	Range
Ampicillin 2	16	14-18	18	15-21
Vancomycin 5	14	13-15	13	10-16
Gentamicin 30*	16	14-18	15	12-18
Linezolid 10	22	20-24	22	19-25
Nitrofurantoin 100	20	18-22	21	18-24

* 39/48 tested isolates

Results part 2 (ATCC)

<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 29213	Eurostar (8h)		EUCAST (18h)	
(n=46/46)	Target	Range	Target	Range
Piperacillin/tazobactam 30-6	22	20-24	26	23-29
Tobramycin 10	21	19-23	22	19-25
Meropenem 10	25	23-27	30	27-33
Ceftazidime 10	20	19-23	24	21-27
Imipenem 10	21	19-23	24	20-28
Ciprofloxacin 5	24	22-26	29	25-33
Gentamicin 10	20	18-22	19	16-21

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Eurostar (8h)		EUCAST (18h)	
(n=46/46)	Target	Range	Target	Range
Clindamycin 2	24	22-26	26	23-29
Erythromycin 15	25	23-27	26	23-29
Linezolid 10	26	24-28	24	21-27
Norfloxacin 10	20	18-22	21	18-24
Cefoxitin 30	23	21-25	27	24-30

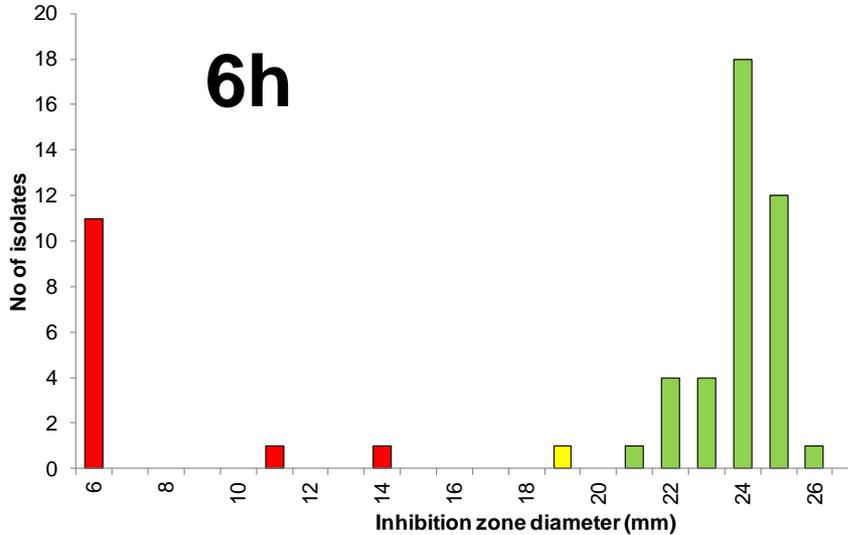
Vad behöver vi göra?

- Skapa QC-gränser
 - *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
 - 40 to 70 test per stam
 - target value (median) och range (min-max) beräknad
- Skapa vildtypsdistributioner (+ resistent isolat)
 - Kliniskt betydelsefulla antibiotika
 - 50 välkarakteriserade *E. coli*, *E. faecalis* /*E. faecium*, *S. aureus* och *P. aeruginosa*
 - Jämföra både SIR kategorisering och zon-zon korrelat med EUCAST metoden (16-20h incubation).

E. coli and cefotaxime 5 μ g

Cefotaxime 5 μ g, 6 hours incubation
E. coli, 55 clinical isolates

6h



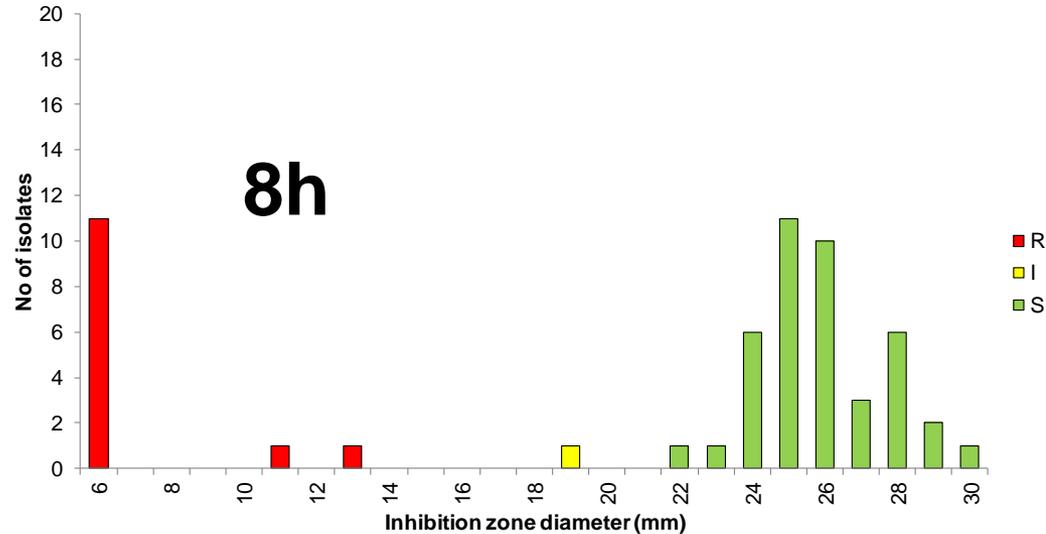
18h CBP

$S \geq 21$

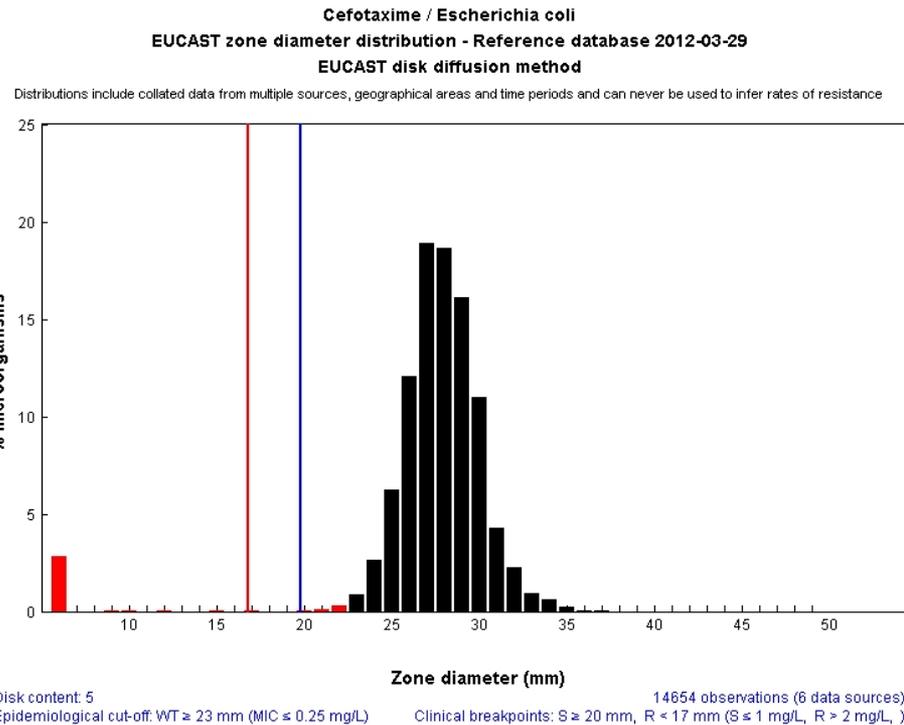
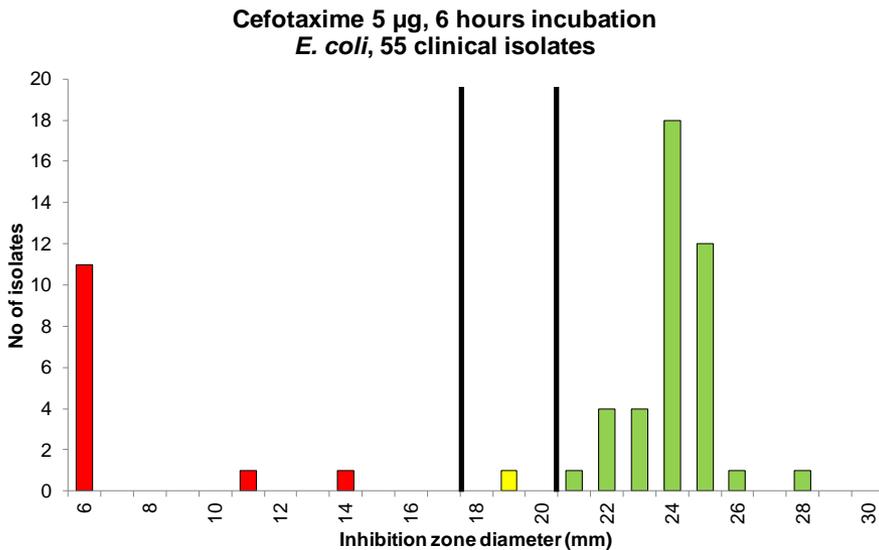
$R < 18$

Cefotaxime 5 μ g, 8 hours incubation
E. coli, 55 clinical isolates

8h



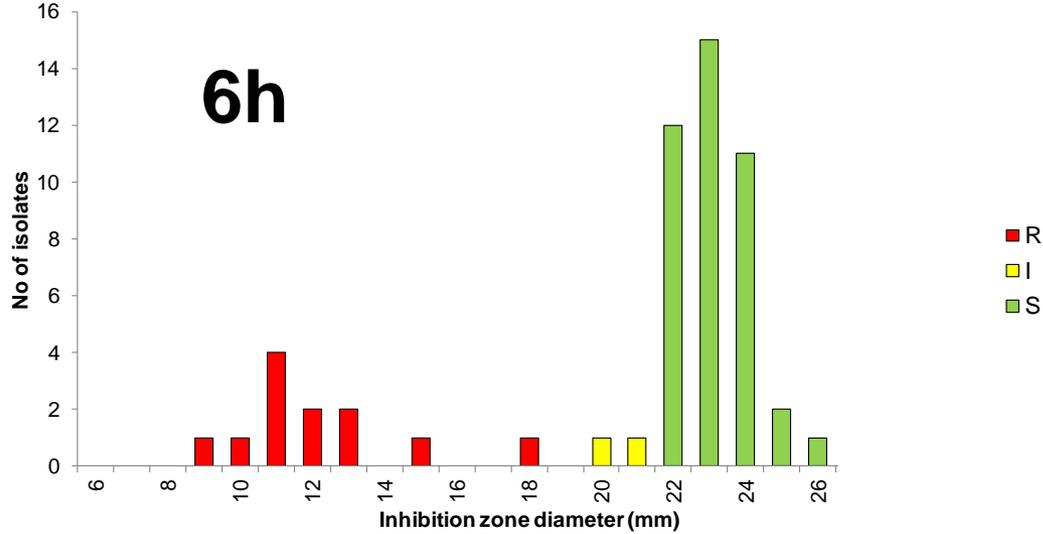
E. coli and cefotaxime 5 μ g



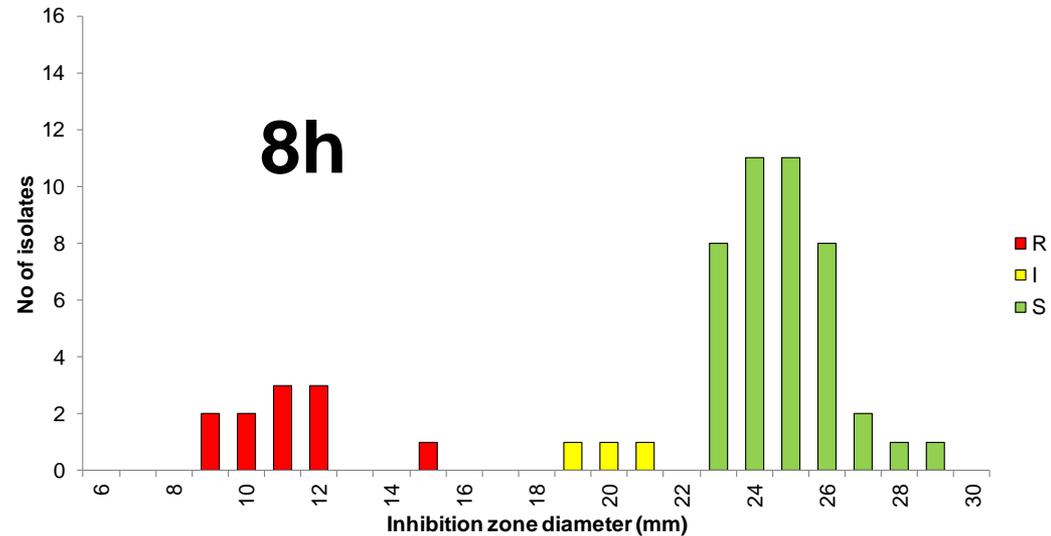
18h CBP
S \geq 21
R<18

E. coli and ceftazidime 10 μ g

Ceftazidime 10 μ g, 6 hours incubation
E. coli, 55 clinical isolates



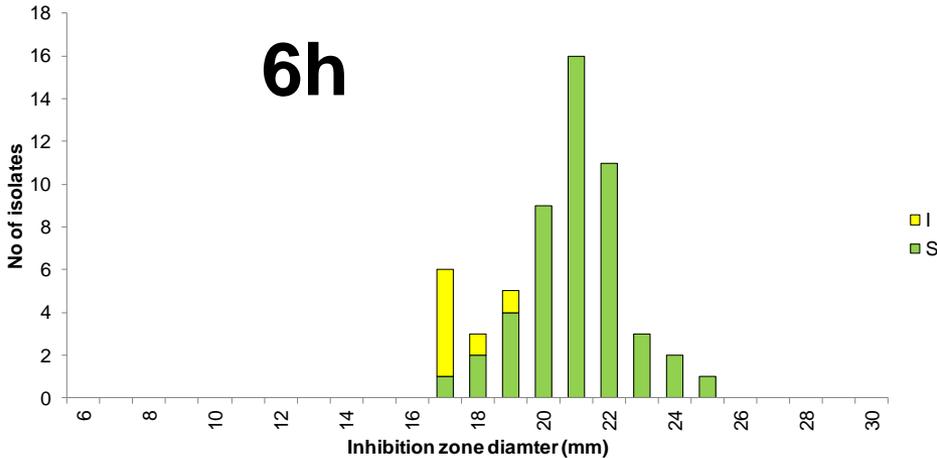
Ceftazidime 10 μ g, 8h incubation
E. coli, 55 clinical isolates



18h CBP
 $S \geq 22$
 $R < 19$

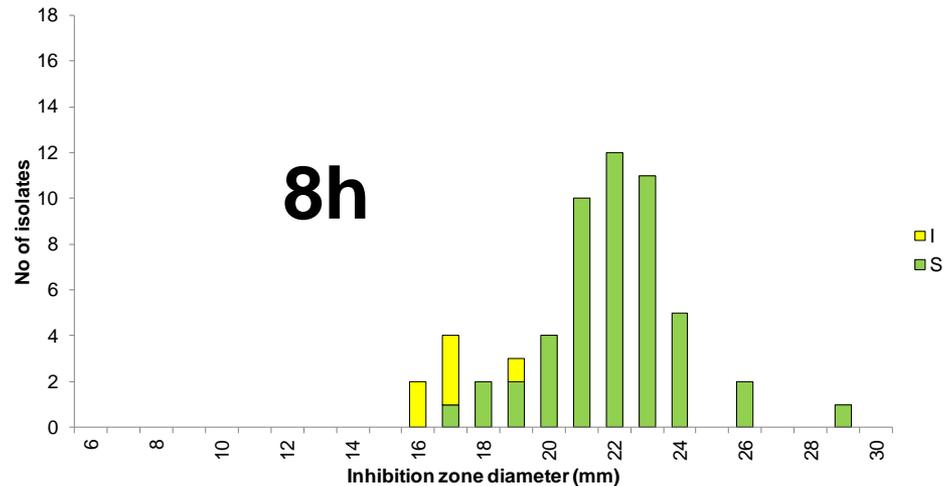
E. coli and piperacillin-tazobactam

Piperacillin-tazobaktam 36 µg, 6 hours incubation
E. coli, 56 clinical isolates

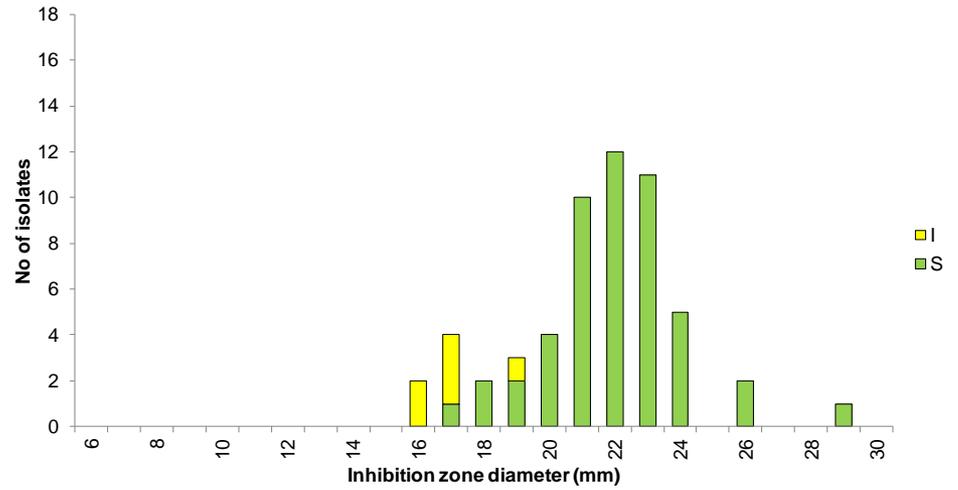


18h CBP
 $S \geq 18$
 $R < 15$

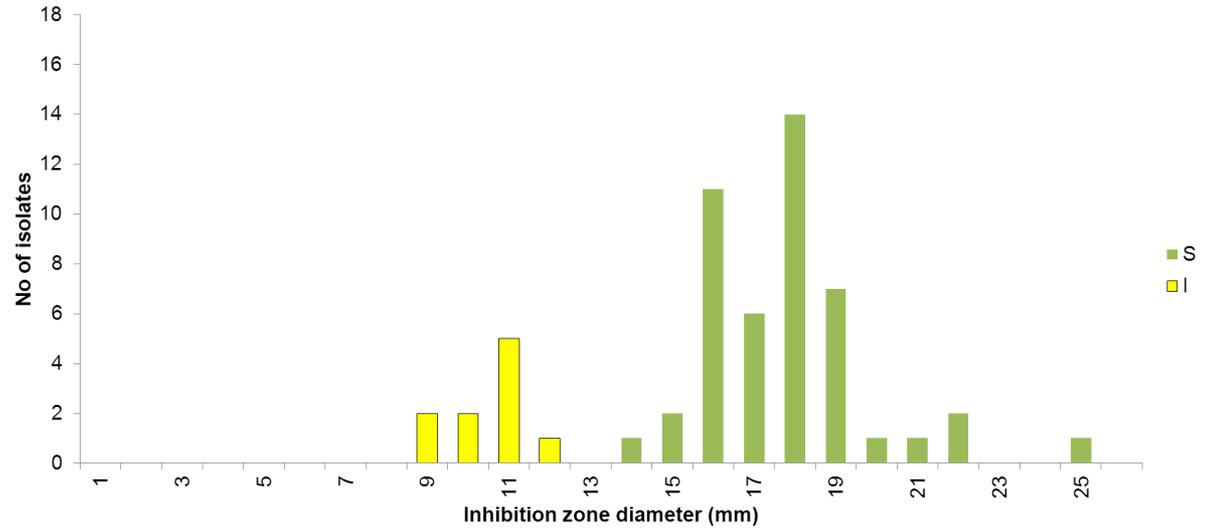
Piperacillin-tazobaktam 36 µg, 8 hours incubation
E. coli, 56 clinical isolates



**Piperacillin-tazobaktam 36 µg, 8 hours incubation
E. coli, 56 clinical isolates**



**Piperacillin-tazobaktam 36 µg, 18 hours incubation
E. coli, 56 clinical isolates**



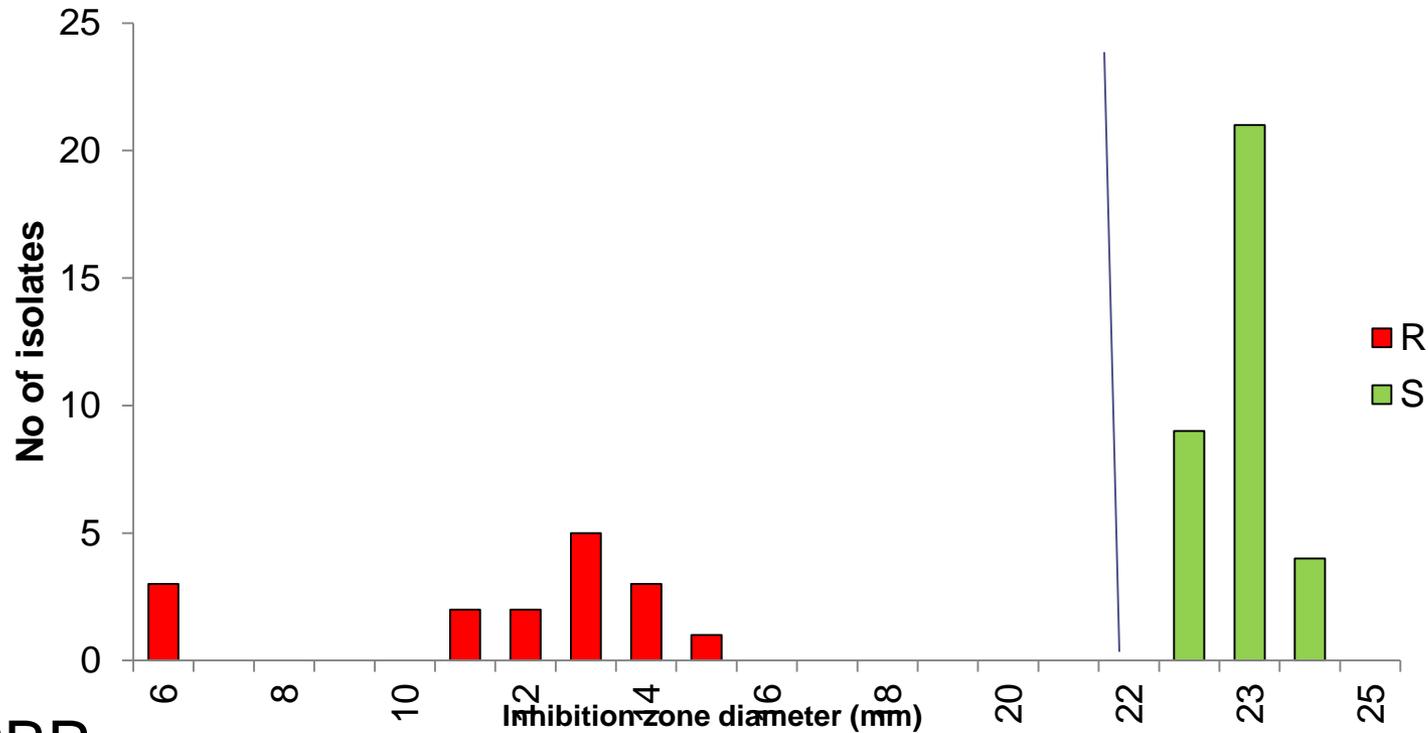
18h CBP
S ≥ 18
R < 15

Vad behöver vi göra?

- Skapa QC-gränser
 - *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
 - 40 to 70 test per stam
 - target value (median) och range (min-max) beräknad
- Skapa vildtypsdistributioner (med enstaka resistent isolat)
 - Kliniskt betydelsefulla antibiotika
 - 50 välkarakteriserade *E. coli*, *E. faecalis* /*E. faecium*, *S. aureus* och *P. aeruginosa*
 - Jämföra både SIR kategorisering och zon-zon korrelat med EUCAST metoden (16-20h incubation).
- Undersöka särskilda resistensmekanismer

S. aureus och cefoxitin 30 μ g

Cefoxitin 30 μ g, 8 hours incubation
S. aureus, 50 clinical isolates



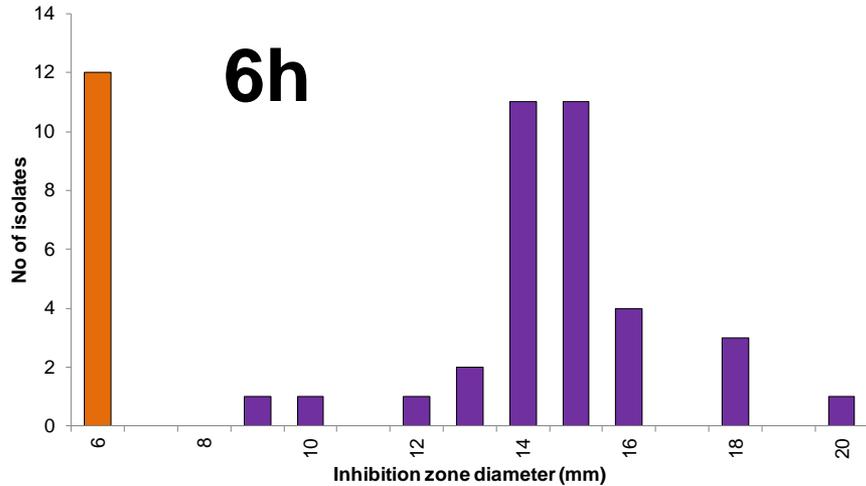
18h CBP

S \geq 22

R<22

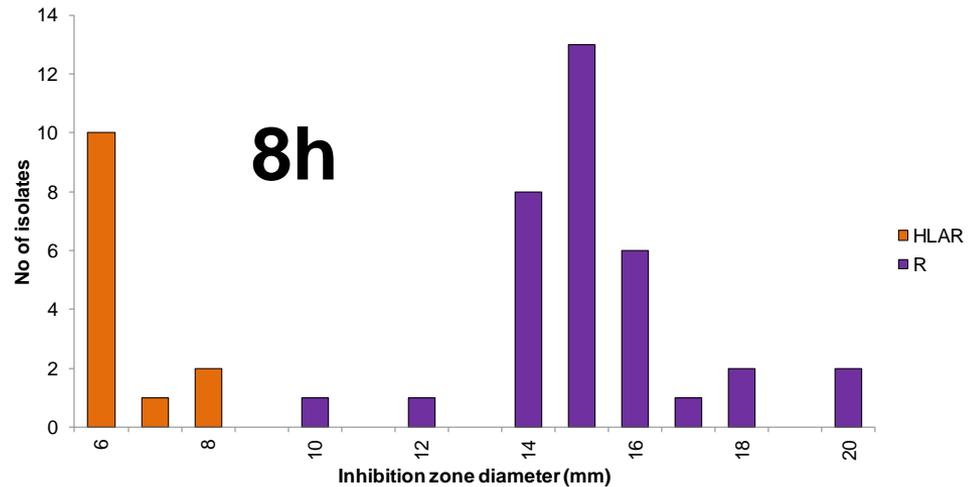
E. faecalis/faecium och gentamicin 30 µg

Gentamicin 30 µg, 6h incubation
Enterococcus, 47 isolates



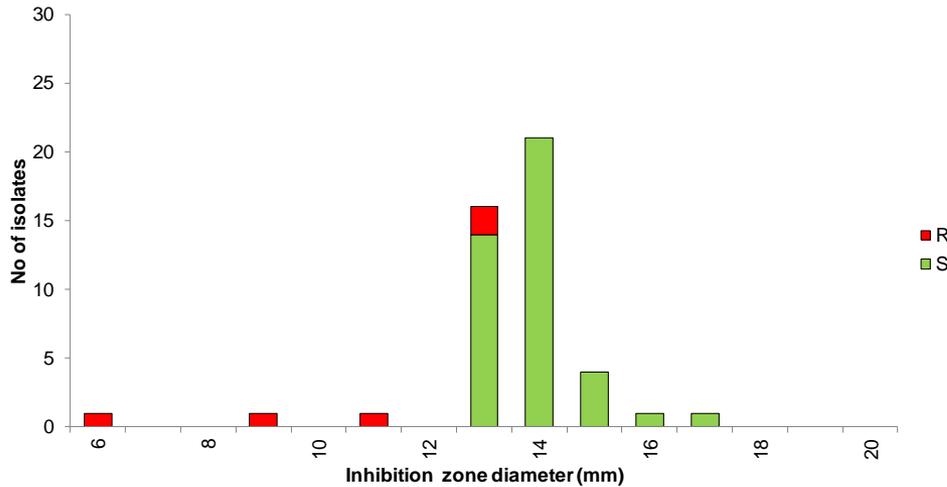
HLAR 6 mm 18h

Gentamicin 30 µg, 8h incubation
Enterococcus, 47 isolates

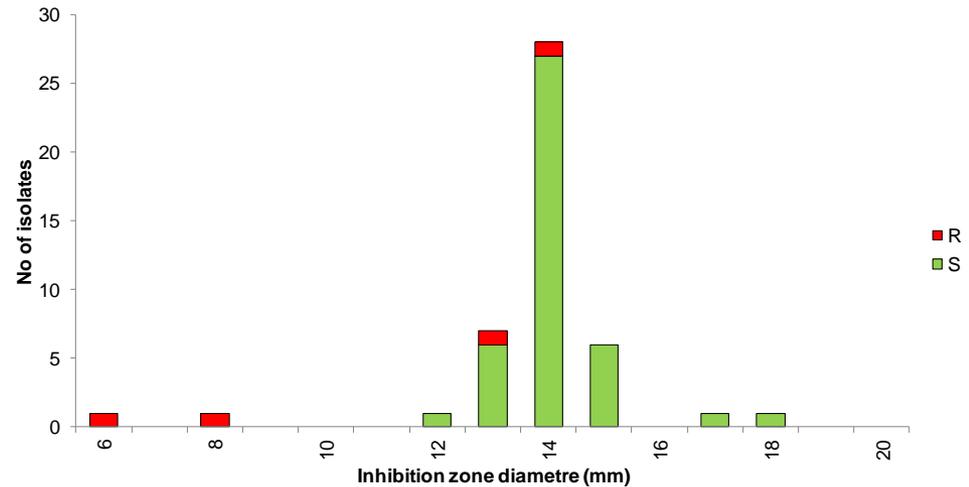


E. faecalis/faecium and vancomycin

Vancomycin 5 µg, 6h incubation
Enterococcus, 46 isolates



Vancomycin 5 µg, 8 h incubation
Enterococcus, 48 isolates

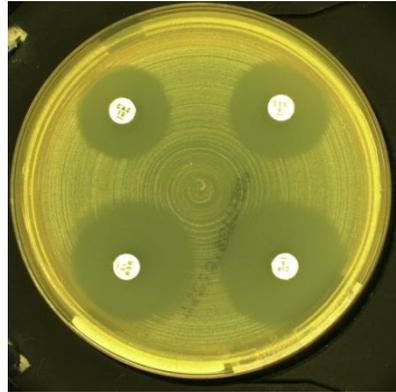
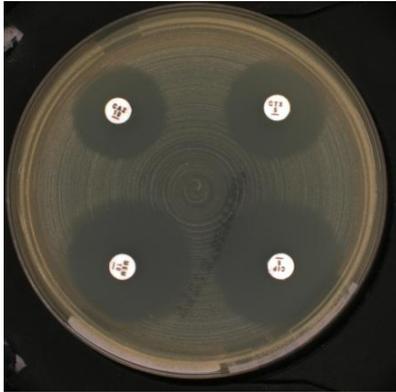


18h CBP

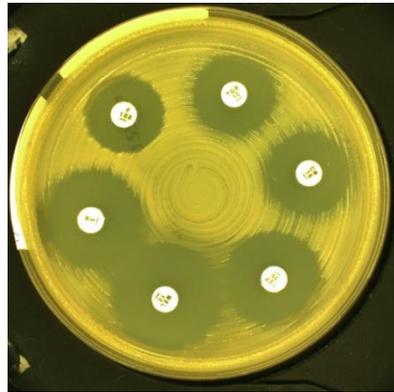
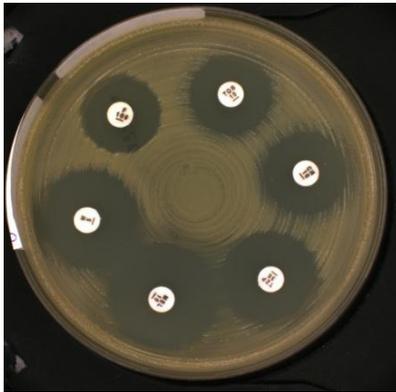
$S \geq 12$

$R < 12$

6 h vs 18 h incubation



Escherichia coli ATCC 25922 after 6h incubation.



Escherichia coli ATCC 25922 and 18h incubation.

Slutsats

- Det är möjligt att standardisera resistensbestämning på 6h (E.coli och Enterokocker) eller 8h (S.aureus och P.aeruginosa) för de flesta antibiotika
- Vissa antibiotika/resistensmekanismer kommer inte att passa
- Fler specifika resistenskombinationer ska testas.
- Större kollektion av konsekutiva kliniska isolat ska testas

Tack