

# Utvärdering av automatiserad avläsning av buljong-MIC

Aina Iversen

NordicAST 2016-05-03

# Disposition

Hur fungerar automatiserad avläsning av buljong-MIC?

Arbetsflöde

Kort om standarden ISO 20776

Utvärdering av Grampositiva bakterier

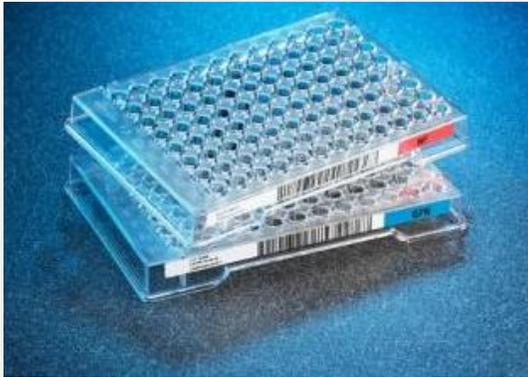
Utvärdering av Gramnegativa bakterier

Sammanfattande resultat

Fördelar och nackdelar

Hur vi går vidare

# Thermo Scientific™ Sensititre™ ARIS system Automated Reading and Incubation System



Sensititre™ - färdiga paneler för buljong-MIC i mikrotiterplatta.

För automatisk avläsning krävs särskilda plattor med en fluorescerande komponent.



ARIS 2X

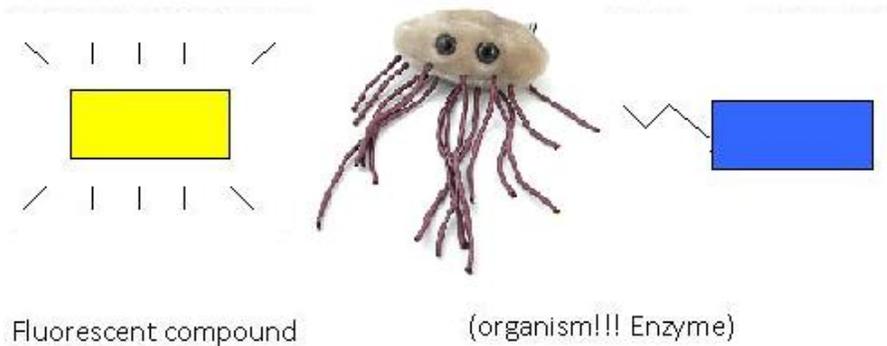
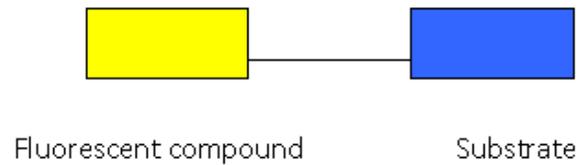
*J Clin Microbiol. 2003 May; 41(5):1951-1956,  
J Clin Microbiol. 2004 Feb; 42(2): 909-911*

# ARIS 2X

- 64 plattor
- Aerob inkubation
- Kopplas till SWIN software
- Resultatrapport med MIC-värde och tolkning
- Automatisk avläsning av bakterietillväxt sker med hjälp av fluorescens



# Avläsning av fluorescens



Concentration	Well	Fluorescent Value
128		200
64		200
32		200
16		200
8		3500
4		3500
2		3500
1		3500

# Arbetsflöde



1. Slamma isolat till McFarland 0.5 vatten, överför till MHB



2. AIM™ Automated Inoculation Delivery System – dispenserar vald volym till alla brunnar  
Följeplatta stryks, täck platta med film



3. Registrera och inkubera plattan i Aris. Avläsning av MIC efter 18 h. Rapport per isolat

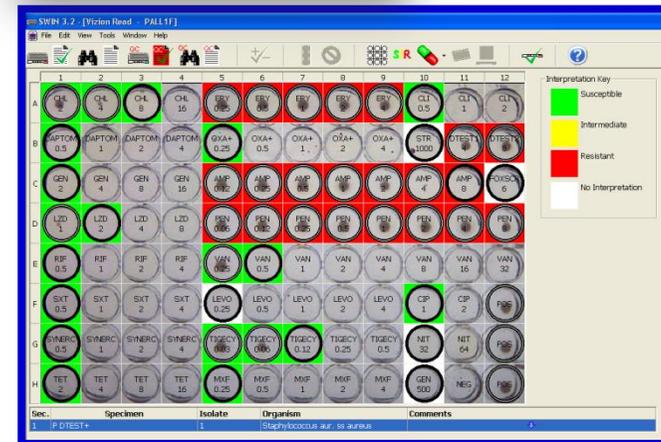


4. Manuell avläsning av MIC

# Vizion system

Thermo Scientific™ Sensititre™

- Digital bild av plattan med panelen i SWIN software
- Semi-automatisk avläsning av bakterieväxt i SWIN software
- Automatisk tolkning
- Bilder lagras



# Rapporten

## Simple Multi Plate Report

Specimen : 15ED501122  
 Specimen Date/Time : 22/03/2016 16:28:24  
 Source : ANY SOURCE  
 Isolate : A  
 Organism : Escherichia coli

	LBRMOF AutoRead 18 Hour Incubation Period 23/03/2016 10:55:45		LBRMOF Manual Read 18 Hour Incubation Period 23/03/2016 11:19:09	
<b>Antimicrobial</b>				
Amikacin	<= 4	S	<= 4	S
Amoxicillin/ Clav.Acids */2	> 8	NI	> 8	NI
Aztreonam	> 16	R	> 16	R
Cefepime	> 8	R	> 8	R
Cefepime/ Clavulanic Acid	4	NI	4	NI
Cefotaxime	> 4	R	> 4	R
Cefotaxime/ Clavulanic Acid	> 1	NI	> 1	NI
Cefoxitin	> 16	NI	> 16	NI
Ceftazidime	> 8	R	> 8	R
Ceftazidime/ Clavulanic Acid	> 4	NI	> 4	NI
Ciprofloxacin	> 2	R	> 2	R
Colistin	<= 1	S	<= 1	S
Ertapenem	> 2	R	> 2	R
Imipenem	<= 0.5	S	<= 0.5	S
Meropenem	0.5	S	0.5	S
Piperacillin/Tazobactam	> 16	R	> 16	R
Tigecycline	<= 0.5	S	<= 0.5	S
Tobramycin	> 8	R	> 8	R
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	> 4	R	> 4	R

## Simple Multi Plate Report

Specimen : 15ED501122  
 Specimen Date/Time : 22/03/2016 16:28:24  
 Source : ANY SOURCE

### Expert Comments

- EU536.Aminoglycoside breakpoints are based on once-daily administration of high aminoglycoside dosages. Most often aminoglycosides are given in combination with beta-lactam agents.
- EU550.The Piperacillin breakpoints apply to Piperacillin-Tazobactam dosage of 4g x 3
- EU551.The Cefepime breakpoints apply to a daily intravenous dose of 2g x 2 and a high dose of at least 2g x 3
- EU552.The Cefotaxime breakpoints apply to a daily intravenous dose of 1g x 3 and a high dose of at least 2g x 3
- EU553.The Ceftazidime breakpoints apply to a daily intravenous dose of 1g x 3 and a high dose of at least 2g x 3
- EU557.EUCAST breakpoints apply to Ertapenem 1000mg x 1 daily administered intravenously over 30 minutes as the only dose.
- EU558.EUCAST breakpoints apply to Imipenem 500mg x 4 daily administered intravenously over 30 minutes as the lowest dose. 1g x 4 daily was taken into consideration for severe infections and in setting the I/R breakpoint.
- EU559.EUCAST breakpoints apply to Meropenem 1000mg x 3 daily administered intravenously over 30 minutes as the lowest dose. 2g x 3 daily taken into consideration for severe infections and in setting the I/R breakpoint.
- EU560.Ciprofloxacin breakpoints apply to an oral dose of 500mg x 2 (or as low as 250mg x 2 for uncomplicated urinary tract infections) to 750mg x 2 and an intravenous dose of 400mg x 2 to 400mg x 3
- EU564.EUCAST breakpoints apply to intravenous Amikacin dosage of 15mg/kg/day. In the absence of Pk/Pd data these have been determined mainly on the basis of Pk data and pre-existing breakpoints.
- EU567.EUCAST breakpoints apply to intravenous Tobramycin dosage of 3-4.5 mg/kg/day. In the absence of Pk/Pd data these have been determined mainly on the basis of Pk data and pre-existing breakpoints.
- EU570.Breakpoints apply to a Tigecycline intravenous dose of 100mg followed by 50mg 12 hourly for CSSSI (Complicated skin and skin structure infections) and CIAI (Complicated intra-abdominal infection)
- EU386.If production of metallo-beta-lactamase is confirmed, report the susceptible results as intermediate and the intermediate results as resistant for any Beta-lactam except Aztreonam which should be reported as found. Scientific basis: Metallo-beta-lactamases can hydrolyse all Beta-lactams except Monobactams. EUCAST Expert rules in antimicrobial susceptibility testing Table 9 Rule number 9.7.
- EU389.If reduced susceptibility to Carbapenems AND Oxymino-Cephalosporins AND Aztreonam, resistance may reflect either KPC, IHI, GES beta-lactamases or combinations of AmpC or ESBL plus Impermeability. In either case, Ertapenem tends to be the most affected Carbapenem. Synergy between Carbapenems and Clavulanic acid may arise with either KPC enzymes or with combinations of ESBL and impermeability. Scientific basis: KPC carbapenemase or combinations of ESBL or AmpC and impermeability. EUCAST Expert rules in antimicrobial susceptibility testing Table 9 Rule number 9.8.
- EU533.If Enterobacteriaceae (excluding Klebsiella oxytoca and Citrobacter koseri) are resistant or intermediate to any 3rd or 4th generation Oxymino-Cephalosporin or Aztreonam, test for ESBL. If positive, report any susceptible results for these Cephalosporins (including 4th generation agents) and for Aztreonam as intermediate; and report any intermediate results as resistant. ESBL producers may appear susceptible to Penicillin/beta-lactamase inhibitor combinations. The use of these combinations against ESBL producers remains controversial and should be approached with caution. Scientific basis: A few ESBL producers may be tested susceptible in vitro for any of 3rd or 4th generation Oxymino-Cephalosporin or Aztreonam. Efficacy of Cefotaxime, Ceftazidime and Ceftriaxone against ESBL-producing isolates with MICs lower than 2ug/ml remains to be fully documented. EUCAST Expert rules in antimicrobial susceptibility testing Table 9 Rule number 9.1.

# Hur överensstämmer resistensbestämning i ARIS systemet med referensmetoden?

Utprovning enligt SS-EN ISO 20776:2007

➤ Överensstämmelse mellan metoderna för antibiotika/organismkombinationer anges som:

- Essential agreement (EA) - MIC +/- 1 spädningssteg
- Category agreement (CA) - samma SIR-tolkning

➤ Skillnaderna i CA kategoriseras i:

- Minor discrepancies (mD) S/ R <-> I
- Major discrepancies (MD) S → R
- Very major discrepancies (VMD) R → S

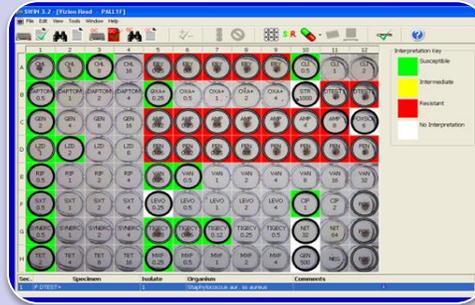
Anges som procentuell andel av totalt antal isolat.

En acceptabel nivå är EA ≥ 90% och MD och VMD ≤ 3%

# Utvärdering av stafylokocker och enterokocker



Referensmetod  
Sensitre **utan**  
fluorescerande  
ämne  
Manuell avläsning  
av MIC



Sensitre **med**  
fluorescerande  
ämne  
Avläsning av MIC  
med Vizion



Sensitre **med**  
fluorescerande  
ämne  
Avläsning med  
ARIS

*Scopes E et al Multi-site evaluation of Sensitre MIC EUCAST standard panel using EUCAST breakpoints for enterococci. Poster presented at ECCMID 2016.*

*Wang et al Multi-site evaluation of Sensitre MIC EUCAST standard panel using EUCAST breakpoints for Staphylococcus species. Poster presented at ECCMID 2016.*

<b>Stafylokokker</b>	<b>n=100</b>
Koagulasnegativa stafylokokker KNS	50
<i>Staphylococcus aureus</i> MSSA	25
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	25

# Standardpanel för stafylokocker

(EUSTAPF/ CML1FSAP)

Antibiotikum	Range (mg/L)	Antibiotikum	Range (mg/L)
Cefoxitin	1-8	Moxifloxacin	0,25-2
Cefoxitin screen	6	Mupirocin	0,5-8
Ceftarolin	0,5-4	Norfloxacin	4-16
Klindamycin D-test	0,12-1	Rifampicin	0,03-1
Daptomycin	0,5-4	Teikoplanin	1-16
Erytromycin	0,25-4	Telavancin med tween	0,03-1
Fusidinsyra	0,5-4	Tetracyklin	0,5-4
Gentamicin	0,25-8	Tobramycin	0,25-8
Levofloxacin	0,5-4	Trimetoprim/ sulfametoxazol	1/19-8/152
Linezolid	2-16	Vankomycin	0,5-16

# Stafylokokker och standardpanel

Överensstämmelse mellan ARIS och referensmetod vid 18 h

Antibiotikum	EA (%)	CA (%)	Antibiotikum	EA (%)	CA (%)
Cefoxitin	100	n/a	Moxifloxacin	100	98
Cefoxitin screen	100	n/a	Mupirocin Mup 256	100	100
Ceftarolin	100	100	Norfloxacin	100	n/a
Klindamycin D-test	100	100	Rifampicin	100	100
Daptomycin	100	100	Teikoplanin	100	100
Erytromycin	100	100	Telavancin med tween	100	100 (MRSA)
Fusidinsyra	100	100	Tetracyklin	100	95
Gentamicin	100	100	Tobramycin	100	100
Levofloxacin	100	99	Trimetoprim/ sulfametoxazol	100	91
Linezolid	100	100	Vankomycin	100	100

# Överensstämmelse mellan ARIS och referensmetod - Stafylokocker

**EA = 100%**

**Inga** stora eller mycket stora diskrepanser (MD eller VMD) erhöles för testade antibiotika

Några mindre diskrepanser (mD) erhöles

Levofloxacin 1/25 MRSA

Moxifloxacin 2/50 KNS

Tetracyklin 5/50 KNS

Trim-sulfa 9/50 KNS

<b>Enterokocker</b>	<b>n=100</b>
<i>E. faecalis</i> (VRE)	5
<i>E. faecalis</i> (VSE)	43
<i>E. faecium</i> (VRE)	26
<i>E. faecium</i> (VSE)	15
<i>Enterococcus</i> spp.	11

# Standardpanel för enterokocker

(EUENCF/ CML1FENC)

Antibiotikum	Range (mg/L)	Antibiotikum	Range (mg/L)
Amoxicillin	0,25-32	Nitrofurantoin	32-64
Amoxicilli/klavulan- syra (konstant 2 mg/L)	0,25-32	Norfloxacin	4-16
Ampicillin	0,25-32	Quinupristin/ dalfopristin	0,25-8
Ciprofloxacin	0,5-16	Streptomycin	512-1024
Gentamicin	32-256	Teikoplanin	0,5-8
Imipenem	0,5-16	Tigecyklin	0,06-2
Levofloxacin	0,5-16	Trimetoprim	0,25-4
Linezolid	0,5-8	Vankomycin	0,12-16

# Enterokocker och standardpanel

Överensstämmelse mellan ARIS och referensmetod vid 18 h

Antibiotikum	EA (%)	CA (%)	Antibiotikum	EA (%)	CA (%)
Amoxicillin	100	100	Nitrofurantoin	100	100
Amoxicillin/ klavulan-syra	100	99	Norfloxacin	100	n/a
Ampicillin	100	100	Quinupristin/ dalfopristin	99	90
Ciprofloxacin	100	100	Streptomycin	99	n/a
Gentamicin	100	n/a	Teikoplanin	100	100
Imipenem	100	100	Tigecyklin	100	100
Levofloxacin	100	100	Trimetoprim	100	97
Linezolid	99	100	Vankomycin	100	100

# Överensstämmelse mellan ARIS och referensmetod - Enterokocker

**EA = 99%**

**Inga** stora eller mycket stora diskrepanser (MD eller VMD) erhöles för testade antibiotika

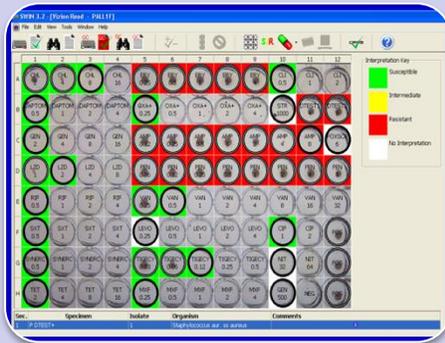
Mindre diskrepanser (mD) erhöles för

Amoxicillin-klavulansyra 1/11 övriga enterokocker

Quinupristin-Dalfopristin 9/26 VRE Efm, 2/15 VSE Efm

Trimetoprim 1/11 övriga enterokocker

# Pågående utvärdering av Aris systemet för Gramnegativa bakterier



Manuell  
avläsning  
med Vizion



Automatisk  
avläsning  
med ARIS

<b>Gramnegativa isolat</b>	<b>n = 83</b>
<i>E. coli</i> känsliga	6
<i>E. coli</i> ESBL	10
<i>E. coli</i> ESBL-CARBA	7 (2 NDM, 4 OXA-48, 1 KPC)
<i>K. pneumoniae</i> känsliga	1
<i>K. pneumoniae</i> ESBL	5
<i>K. pneumoniae</i> ESBL-CARBA	6 (3 OXA-48, 1 KPC, 1 NDM+OXA-48)
Övriga <i>Enterobacteriaceae</i>	6
Övriga <i>Enterobacteriaceae</i> ESBL, ESBL-CARBA	3
<b>Summa <i>Enterobacteriaceae</i></b>	<b>44</b>
<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	<b>19</b> (14 MDR, 5 känsliga)
<b><i>Acinetobacter</i> spp.</b>	<b>20</b> (14 MDR, 6 känsliga)

# Panel för Gramnegativa bakterier

(NLBRMOF)

Antibiotikum	Range (mg/L)	Antibiotikum	Range (mg/L)
Cefotaxim	0,12-4	Imipenem	0,5-8
Ceftazidim	0,5-8	Ertapenem	0,12-2
Cefepim	0,5-8	Trimetoprim-sulfametoxazol	1/19-4/76
Cefoxitin	8-16	Ciprofloxacin	0,12-2
Cefotaxim/klavulansyra	0,03-1/4	Tobramycin	0,5-8
Ceftazidim/klavulansyra	0,12-4/4	Amikacin	4-32
Cefepim/klavulansyra	0,12-8/4	Tigecyklin	0,5-2
Piperacillin/ tazobaktam	1-16/4	Colistin	1-4
Amoxicillin/klavulansyra	0,5-8/2	Aztreonam	0,5-16
Meropenem	0,12-8		

# Enterobacteriaceae (n=44)

Överensstämmelse mellan ARIS och manuell avläsning (18h)

Antibiotikum	EA (%)	CA (%)	Antibiotikum	EA (%)	CA (%)
Cefotaxim	100	100	Imipenem	100	100
Ceftazidim	100	100	Ertapenem	100	100
Cefepim	100	100	Trimetoprim-sulfametoxazol	99	98
Cefoxitin	-	NI	Ciprofloxacin	100	98
Cefotaxim/klavulansyra	100	NI	Tobramycin	100	100
Ceftazidim/klavulansyra	100	NI	Amikacin	100	100
Cefepim/klavulansyra	100	NI	Tigecyklin	100	100
Piperacillin/tazobactam	100	100	Colistin	100	100
Amoxicillin/klavulansyra	100	100	Aztreonam	100	100
Meropenem	100	98			

**EA och CA  $\geq$  95% samt 3 mD, inga MD eller VMD**

# *P. aeruginosa* (n=19)

Överensstämmelse mellan ARIS och manuell avläsning (18h)

Antibiotikum	EA (%)	CA (%)	mD	MD
Ceftazidim	100	100		
Cefepim	100	95 (18/19)		1 R
Piperacillin/ tazobactam	100	89 (17/19)		2 R
Meropenem	100	100		
Imipenem	100	89 (17/19)	2 (1R, 1S)	
Ciprofloxacin	100	84 (16/19)	3 ↑	
Tobramycin	100	100		
Amikacin	100	100		
Colistin	-	100		
Aztreonam	100	79 (15/19)	4 I →R	

**EA= 100%, 9 mD, 3 MD och inga VMD**

# *Acinetobacter* spp. (n=20)

Överensstämmelse mellan ARIS och manuell avläsning (18h)

Antibiotikum	EA (%)	CA (%)	mD
Imipenem	100	90 (18/20)	2 ↓
Meropenem	100	95 (19/20)	1 R → I
Trimsulfa	100	95 (19/20)	1 I → R
Ciprofloxacin	100	100	
Tobramycin	100	100	
Amikacin	100	90 (18/20)	2 ↓
Colistin	-	100	

**EA= 100%, 6 mD, inga MD eller VMD**

# Sammanfattning av utvärderingen

Automatisk avläsning av buljong-MIC har god överensstämmelse med referensmetod/ manuell avläsning.

För samtliga stafylokocker, enterokocker, *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter* spp och *P. aeruginosa* erhöles EA  $\geq$  99% och inga VMD. 3 MD erhöles för *P. aeruginosa* med cefepim (1/19) och piperacillin-tazobactam (2/19).

Även i multicenterstudien (stafylokocker och enterokocker) erhöles god överensstämmelse med referensmetoden.

# ARIS systemet

## Fördelar

Guldstandard

Heltäckande paneler – inga kompletterande tester behövs

Lämpligt för isolat från allvarliga infektioner – Blod-, djupa sekret- och nedre luftvägsodlingar

Kan kopplas till LIS för automatisk överföring av resultat

## Nackdelar

Tar mer tid att utföra än Vitek och diskdiffusion

Nackdel med stor volym i spädningsrören. Bra om resistensen kan utföras från primärodlad platta

Glapp mellan instrument och dator – har orsakat "Fatal error"

# På gång

Färdigställa utvärderingen av gramnegativa bakterier

Aris systemet testas i rutindiagnostiken

För att effektivisera arbetsgången

För att testa om systemet är robust nog för kontinuerlig användning av flera personer med bibehållen kvalitet

# ARIS-projektet

Christian Giske, överläkare

Mirja Hägg, ST-läkare

Sharareh Sheikholeslami, BMA

Jenny Lundmark, Ingenjör

Sarah Petersson, BMA

# TACK!

