

Phoenix/Vitek/Lappdiffusion vs Sensititre

Stina Bengtsson

Klinisk mikrobiologi Växjö

NordicAST workshop 2012

Syfte

Utvärdera automatiserad MIC-bestämning och lappdiffusion mot ISO referensmetoden broth microdilution (buljongspädning).

MIC-värden och zondiametrar har tolkats mot EUCAST brytpunktstabeller v1.3 (2011) och 2.0 (2012)

Material

479 bakterieisolat - 234 gramnegativa
- 245 grampositiva

Olika resistenstyper MRSA, VRE, ESBL

Referensstammar - *E. faecalis* ATCC 29212
S. pneumoniae ATCC 49619
S. aureus ATCC 29213
E. coli ATCC 25922
P. aeruginosa ATCC 27853
K. pneumoniae ATCC 700603

Gramnegativa organismer

<i>Organism</i>	<i>Antal isolat</i>
<i>Escherichia coli</i>	60
...med ESBL	26
<i>Klebsiella pneumonia</i>	40
...med ESBL	8
<i>Klebsiella oxytoca</i>	12
<i>Morganella morganii</i>	10
<i>Proteus mirabilis</i>	22
<i>Enterobacter aerogenes</i>	9
<i>Enterobacter cloace</i>	13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34

Grampositiva organismer

<i>Organism</i>	<i>Antal isolat</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	64
...mecA positiv	30
Koagulas-negativa staphylococci	25
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	9
<i>Enterococcus faecalis</i>	12
... med Hög gradig aminoglycosid resistens	8
...med VRE	2
<i>Enterococcus faecium</i>	8
... med VRE	10
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	35
<i>Streptococcus pyogenes</i> (ej Vitek)	42

<i>Antibiotikalappar (µg)</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>
Aztreonam (30)	0.5-16	0.5-16
Cefepime (30)	0.5-16	
Cefotaxime (5)	0.5-16	
Ceftazidime (10)	0.5-16	0.5-16
Cefuroxime (30)	1-16 ¹	
Ciprofloxacin (5)	0.03-2	0.03-2
Gentamicin (10)	0.25-8	0.25-8
Imipenem (10)	0.25-16 ²	0.25-16
Meropenem (10)	0.25-16	0.25-16
Piperacillin/ Tazobactam (30-6)	0.5-32	0.5-32
Tigecycline (15)	0.12-4 ³	
Tobramycin (10)	0.25-8	0.25-8
Trimethoprim (5)	1-4	
Trim/Sulfa (1.25-23.75)	2-8	

1. Brytpunkt endast för *E. coli*, *P. mirabilis* och *Klebsiella* spp.
2. Ej utvärderade för *P. mirabilis* och *M. morganii*
3. Zonbrytpunkt endast för *E.coli*. MIC endast i VITEK

<i>Antibiotikalappar (µg)</i>	<i>Staphylococci</i>	<i>Streptococci</i>	<i>Enterococci</i>
Ampicillin (2)			2-8
Cefoxitin (30)	2-8		
Ciprofloxacin (5)	0.5-2		
Clindamycin (2)	0.06-1	0.06-1	
Erythromycin (15)	0.06-4	0.06-4	
Fusidic acid (10)	0.5-16		
Gentamicin (10)	0.5-4		
Gentamicin (30)			128-256 ³
Imipenem (10)			1-8
Linezolid (10)	1-4		0.5-4
Moxifloxacin (5)	0.12-1		
Nitrofurantoin (100)			16-256 ⁴
Benzympenicillin (1 unit)	0.06-2	0.06-2 ²	
Teicoplanin (30)			0.5-8
Tetracycline (30)	0.5-8	0.5-8	
Trim/Sulfa (1.25-23.75)		0.06-4	
Vancomycin	1-4 ¹		0.5-8

1. Endast MIC-brytpunkt

2. Brytpunkt endast för *S. pyogenes*

3 . Ej utvärderad i Phoenix

4. Ej utvärderad i Vitek

Resistensbestämning

- Phoenix (Becton Dickinson)
- Vitek (bioMérieux)
- EUCAST lappdiffusionsmetod
- Broth microdilution (Sensititre)

Phoenix

Automatiserad resistensbestämning

- Panelen innehåller 85 brunnar med antibiotika i olika koncentrationer
- Avläsning sker var 20 min
 - turbiditet (bakteriers tillväxt)
 - redoxindikator (bakteriers metabolism)→ Verkligt MIC-värde

För att få SIR-tolkning av MIC måste det finnas en art identifiering.

Paneler

- Gramnegativa - **NMIC/ID-73**
- Grampositiva - **PMIC/ID-66**
(Stafylokocker och Enterokocker)
- Streptokocker - **SMIC/ID-9**



Vitek

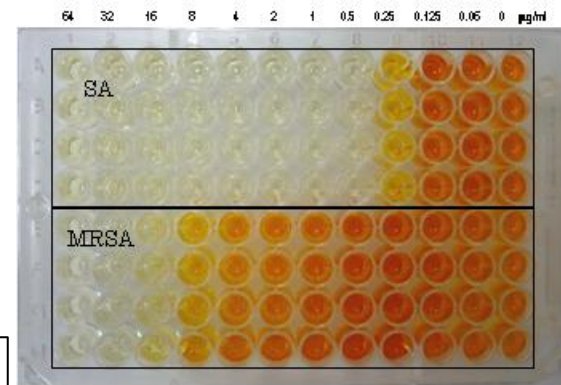
Automatiserad resistensbestämning

- Korten innehåller 64 brunnar med antibiotika i olika koncentrationer samt en kontrollbrunn med odlingsmedium
- Avläsning av bakterietillväxt var 15 min och utvärderar tillväxtmönster i brunnarna i förhållande till växten i kontrollbrunnen
- Algoritmer som beräknar MIC-resultat och tolkning

För att få SIR-tolkning av MIC måste det finnas en art identifiering.

Kort

- Gramnegativa - **AST-N103**
 - **AST-EXN8** (användes till ESBL test för *E. coli* och *K. pneumoniae*)
- Grampositiva - **AST-P592** (Stafylokokker och enterokocker)
 - **AST-GP68** (Streptokocker)



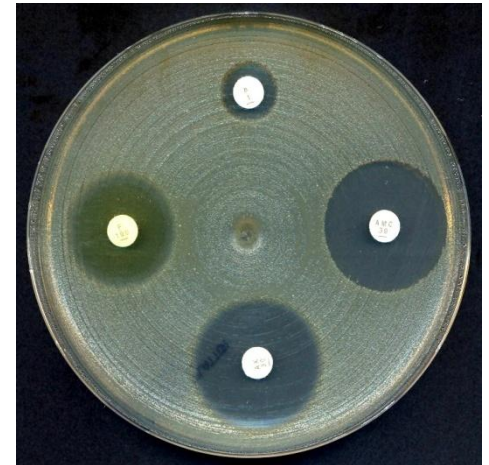
Lappdiffusion

EUCASTs lappdiffusionsmetod

- Oxoid lappar
- MH-agar (Oxiod och BBL)

Plattor

- MH : Gramnegativa
Grampositiva (stafylokocker och enterokocker)
- MH-F: Streptokocker



Broth microdilution (Sensititre)

Referensmetod för MIC bestämning enligt ISO (The International Standards Organization)

Microtiterplattor med koncentrationsgradient

Inkubering 18-24 h

Manuell avläsning av plattorna med Vizion



Plattor

- Gramnegativa - **SENMF**
- Grampositiva - **SEPMF** (stafylokocker och enterokocker)
- **STP6F** (streptokocker)

Categorical agreement (CA)

SIR-tolkning av MIC-värden och zondiametrar enligt EUCAST brytpunktstabell v 1.3 och v 2.0

Kategoriseringen av SIR-resultaten

	Minor error (mE)	Major error (ME)	Very major error (VME)
Broth microdilution	S I I R	S	R
PHOENIX/VITEK/Lappdiffusion	I S R I	R	S

Resultat

Categorical agreement för gramnegativa resp grampositiva enligt brytpunktstabell v 1.3

	Gramnegativ	Grampositiv
Vitek	96,3 %	98,7 %
Phoenix	97,6 %	98,7 %
Lappdiffusion	96,3 %	98,1 %

		CA (%)		
Art	Antal isolat	Vitek	Phoenix	Lappdiffusion
<i>E. coli</i>	86	95,8	99,2	96,7
<i>K. pneumoniae</i>	48	97,0	97,8	96,3
<i>K. oxytoca</i>	12	93,4	98,7	95,5
<i>M. morgani</i>	10	93,4	95,0	92,6
<i>P. mirabilis</i>	22	99,2	99,6	99,6
<i>E. cloacae</i>	13	98,7	99,4	96,8
<i>E. aerogenes</i>	9	100	100	99,1
<i>P. aeruginosa</i>	34	91,6	96,7	92,3
<i>S. aureus</i>	94	99,3	98,7	99,2
Koagulas-negativa staphylococci	25	96,7	99,2	97,2
<i>S. lugdunensis</i>	9	100	100	100
<i>E. faecalis</i>	22	100	100	100
<i>E. faecium</i>	18	94,4	90,7	87,3
<i>S. pneumoniae</i>	35	98,6	99,29	96,4
<i>S. pyogenes</i>	42	-	100	100

M. morganii (n=10)

Antibiotika	Vitek			Phoenix			Lappdiffusion		
	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME
Aztreonam	1								
Cefepime									
Cefotaxime		2			1		1		
Ceftazidime	2			2			1		
Ciprofloxacin									
Gentamicin									
Meropenem									
Piperacillin/Tazobactam	1								
Tobramycin									
Trimethoprim	1			1		1	6		
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	1			1			1		
Totalt	6	2	0	4	1	1	9	0	0

P. aeruginosa (n=34)

Antibiotika	Vitek			Phoenix			Lappdiffusion		
	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME
Aztreonam	5						8		
Ceftazidime		1						1	
Ciprofloxacin	3			2	1		2		
Gentamicin									
Imipenem	1	1	1	1			2	1	
Meropenem	5			3			7		
Piperacillin/Tazobactam		3	2	1		1			
Tobramycin									
Totalt	14	5	3	7	1	1	19	2	0

E. faecium (n=18)

Antibiotika	Vitek			Phoenix			Lappdiffusion		
	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME
Ampicillin	1						1	2	
Gentamicin-HLAR			1	-	-	-			
Imipenem	3			2			3		
Linezolid									
Nitrofuratoin	-	-	-		7	1		10	
Teicoplanin			1						
Vancomycin									
Totalt	4	0	2	2	7	1	4	12	0

Fördelning av mE, ME och VME

	Vitek			Phoenix			Lappdiffusion		
	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME
Grampositiva	13	4	7	11	11	4	11	23	4
Gramnegativa	76	24	8	56	4	5	93	14	0
Totalt	89	28	15	67	15	9	104	37	4

VME

Antibiotika >1 VME

- Benzylpencillin :
S. aureus (3 st Vitek, 3 st Phoenix 2 st lappdiffusion)
- Gentamicin :
S. aureus (1 st Vitek)
E. faecium (1 st Vitek)
- Piperacillin/Tazobactam:
P. aeruginosa (2 st Vitek, 1 st Phoenix)
- Cefuroxime :
E. coli (1 st Phoenix)
K. pneumoniae (1 st Vitek, 1 st Phoenix)
- Trimethoprim/Sulfamethoxazole:
P. mirabilis (2 st Vitek)

Brytpunktstabell v 2.0

- MIC-brytpunkter:

Nitrofuratoin: ME för *E. faecium* försvinner då brytpunkten ändrats och endast gäller för *E. faecalis*

- Zonbrytpunkter:

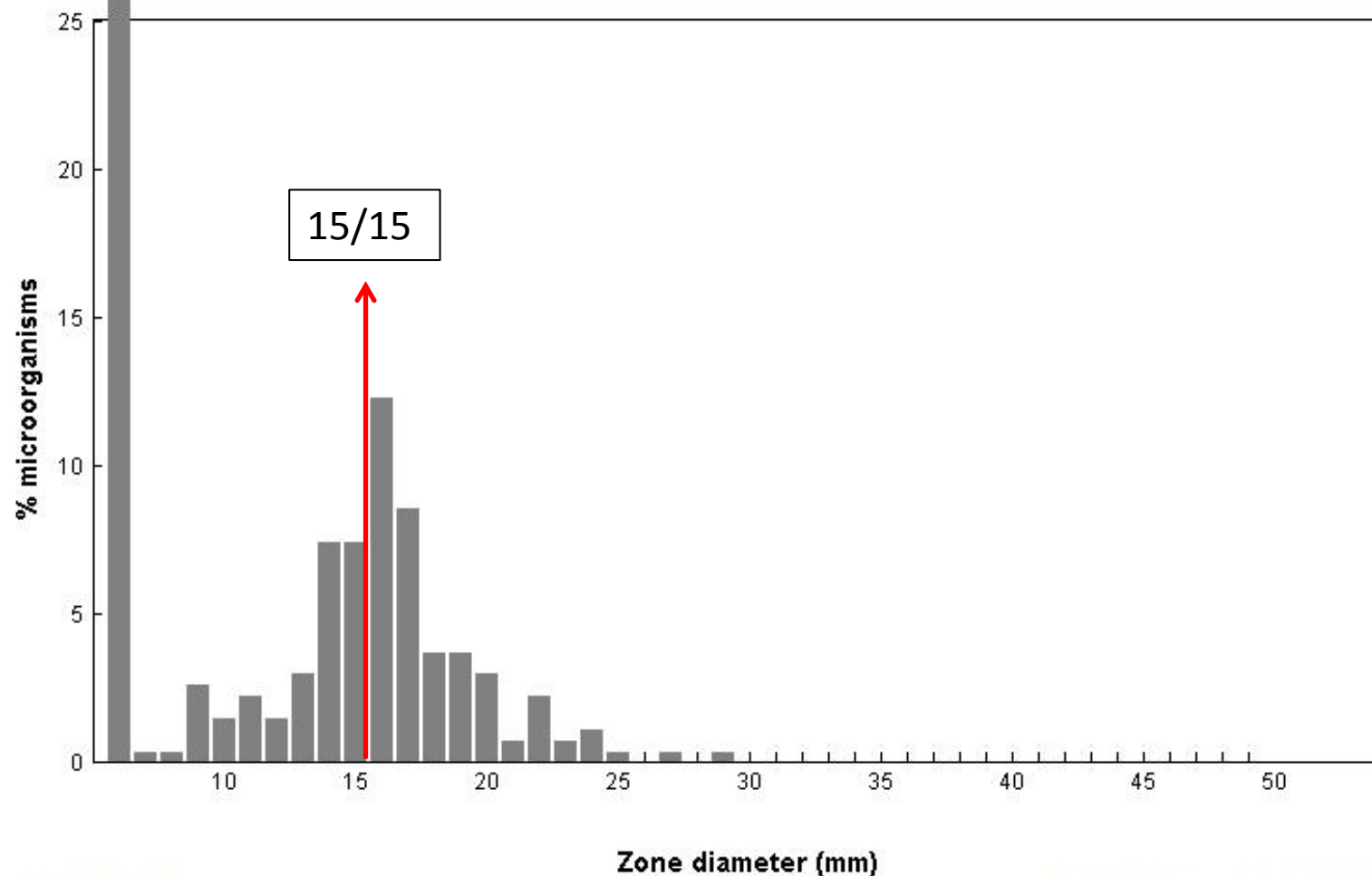
Cefotaxime : 1 mE för *E. coli*

Tobramycin: 1 mE för *K. pneumoniae* och *E. aerogenes*

Nitrofuratoin: ME för *E. faecium* försvinner då brytpunkten ändrats och endast gäller för *E. faecalis*

Nitrofurantoin / *Enterococcus faecium*
EUCAST zone diameter distribution - Reference database 2012-05-21
EUCAST disk diffusion method

Distributions include collated data from multiple sources, geographical areas and time periods and can never be used to infer rates of resistance

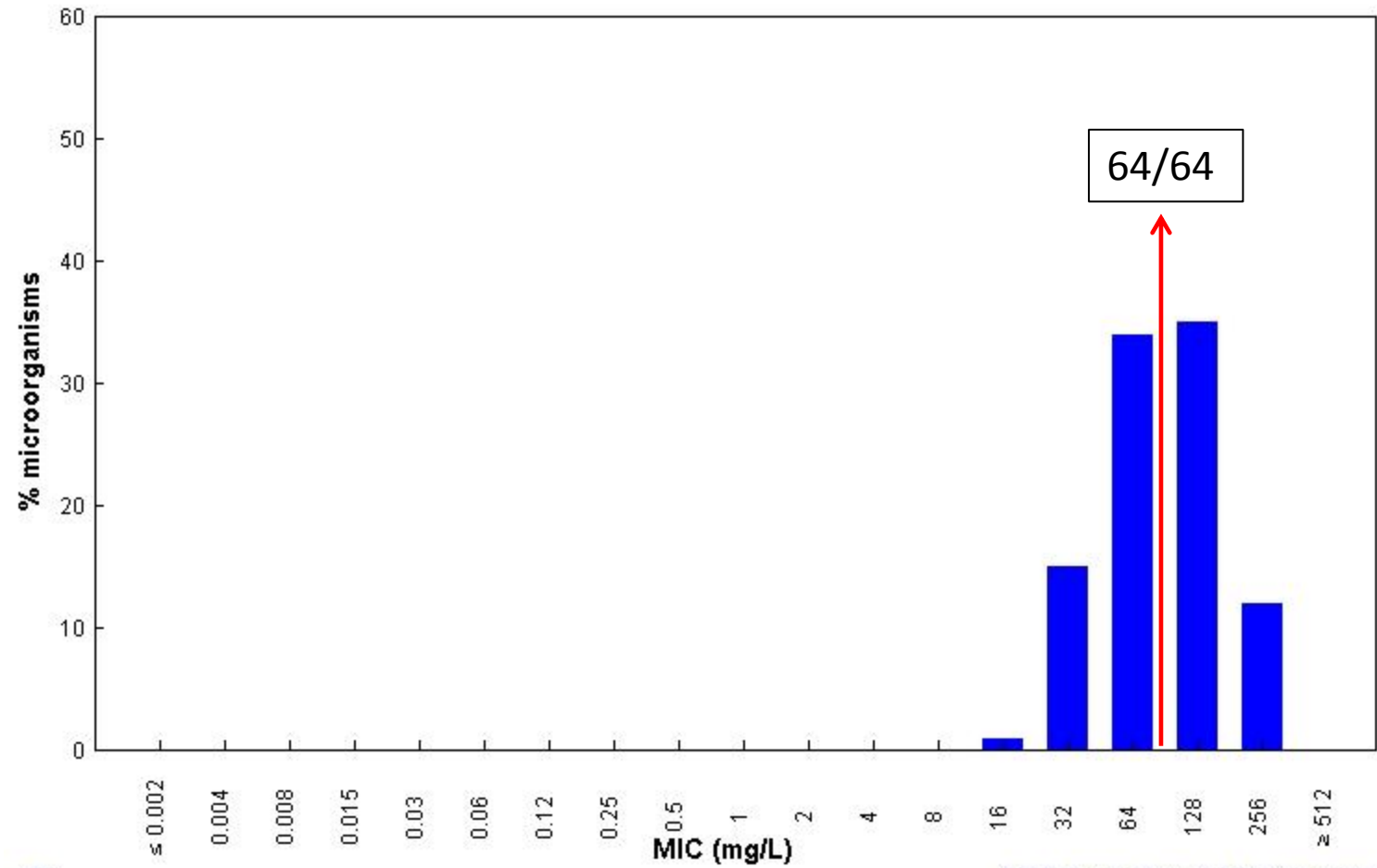


Disk content: 100
 Epidemiological cut-off: -

268 observations (4 data sources)
 Clinical breakpoints: Inappropriate (inappropriate)

Nitrofurantoin / *Enterococcus faecium*
EUCAST MIC Distribution - Reference Database 2012-05-21

MIC distributions include collated data from multiple sources, geographical areas and time periods and can never be used to infer rates of resistance



MIC
Epidemiological cut-off: WT ≤ 256 mg/L

2185 observations (13 data sources)
Clinical breakpoints: Inappropriate

E. faecium (n=18)

Antibiotika	Vitek			Phoenix			Lappdiffusion		
	mE	ME	VME	mE	ME	VME	mE	ME	VME
Ampicillin	1						1	2	
Gentamicin-HLAR			1	-	-	-			
Imipenem	3			2			3		
Linezolid									
Nitrofuratoin	-	-	-						
Teicoplanin			1						
Vancomycin									
Totalt	4	0	2	2	0	0	4	2	0
CA	94,7 %			98,1 %			95,2%		

Slutsats

- Grampositiva har något högre CA än gramnegativa för alla tre metoder
- Phoenix har högst CA för både gramnegativa och grampositiva
- Ofta samma organismer/antibiotika som är problematiska
- Vitek har flest VME (15 st) och lappdiffusion har flest mE (144st) och ME (37 st)
- Förbättringar med v 2.0 för vissa organismer t.ex. *E. faecium*

Tack!

- BD, bioMérieux, och TREK (Thermo Fisher Scientific) för finansiell bidrag och lån av utrustning
- Robert Smyth och Charlotte Bjelkenbrant för hjälp med projektet