



**Karolinska
Institutet**

Snabb resistensbestämning med VITEK2

Christian G. Giske

Docent / BÖL

Klinisk mikrobiologi

Karolinska Universitetssjukhuset

NordicAST 120530

Snabbdiagnostik vid positiv blododling

- Komplett svar samma dag som flaskan larmar
- Preliminära försök visade att snabbdiagnostik från blododlingsflaskor fungerar bra på gramnegativa bakterier
- Grampositiva bakterier binder till kolpartiklar och kan därför inte anrikas på ett enkelt sätt

Organisation av arbetet

- Kl 8:00 görs grampreparat på positiva flaskor.
 - Kl 8:30 läses preparat och våravdelningar kontaktas.
 - Buljong från flaskor med gramnegativ växt centrifugeras i 2 steg.
 - Suspension på 0,5 McF bereds och Vitek 2 laddas
 - Resultat i de flesta fall färdiga innan arbetsdagens slut
 - Ansvarig läkare eller infektionsbakjouren kontaktas om patienten erhållit felaktig behandling
-

Preparation av bakterier

- Aspirera 2-3 ml blod från positiv flaska
 - Centrifugera 10 min vid 1400 rpm (300g) för att eliminera kolpartiklar och erythrocyter
 - Överför supernatanten till nytt rör
 - Späd med 5 ml PBS lösning
 - Centrifugera 10 min vid 3600 rpm (2200g) för att anrika bakterierna
 - Späd till 0,5 McF
-

Studie

- 104 konsekutiva flaskor med gramnegativ växt inkluderades
- Blandkulturer exkluderades
- 99/104 stammar artbestämdes korrekt
- 98/104 stammar kunde resistensbestämmas

Korrekt identifierade stammar

Escherichia coli	45	
Klebsiella pneumoniae	21	
Klebsiella oxytoca	2	
Enterobacter cloacae	8	
Enterobacter aerogenes	1	
Citrobacter braakii	3	
Citrobacter species	1	
Proteus mirabilis	4	
Serratia marcescens		1
Salmonella species	5	
Pseudomonas aeruginosa	6	
Stenotrophomonas maltophilia	2	

Felaktigt identifierade stammar

- 1 *Enterobacter amnigenus* → *Enterobacter cloacae*
 - 2 *Sphingomonas paucimobilis* → *Bacteroides fragilis*
 - 1 *Pantoea agglomerans* → *Neisseria* species
 - 1 Oidentifierad → *Pseudomonas alcaligenes*
-

Tidåtgång

Identifiering

- medeltid = 5,0 h
- mediantid = 4,75 h
- 99/104 klar inom 7 h

Resistensbestämning

- Medeltid = 7,5 h
 - Mediantid = 6,75 h
 - 71/104 klar inom 7,5 h
 - 78/104 klar inom 8 h

 - Dock vägledande information klar tidigare
-

Utfall

- 30/104 patienter fick felaktig antibiotikabehandling
 - 4 erhöll inte antibiotika alls
 - 8 erhöll grampositiv terapi (vankomycin, klindamycin, kloxacillin)
 - 18 erhöll felaktig gramnegativ terapi
-

Ingen terapi påbörjad

- 3 Salmonella (infektionsmottagningen)
- 1 Escherichia coli (kirurgipatient)

Grampositiv terapi påbörjad

- 4 *Escherichia coli*
- 1 *Klebsiella pneumoniae*
- 1 *Klebsiella oxytoca*
- 1 *Citrobacter species*
- 1 *Salmonella sp*

Felaktig gramnegativ terapi

- 5 ESBL bildande *Klebsiella pneumoniae* (tot 7)
 - 4 resistent *Escherichia coli*
 - 2 resistent *Enterobacter cloacae*
 - 1 resistent *Citrobacter braakii*
 - 1 *Salmonella*
 - 2 *Stenotrophomonas maltophilia*
 - 3 *Pseudomonas aeruginosa*
-

Antibiotika avvikelse jämfört med MIC-bestämning

Cefotaxim	0/92
Ceftazidim	1/97
Ciprofloxacin	4/97
Gentamicin	1/97
Meropenem	0/97
Piperacillin/Tazobactam	4/97
Tobramycin	0/97
Trimsulfa	0/92

Slutsatser

- Vitek 2 är ett värdefullt verktyg vid snabbdiagnostik av gramnegativa fynd i blododlingsflaskor.
 - 18/104 patienter med gramnegativ sepsis kunde med hjälp av Vitek 2 erhålla effektiv antibiotikabehandling 1 dygn tidigare jämfört med om konventionell metodik använts.
-

Hur snabbt kan vi påvisa resistens?

- Dygnet har 24 timmar, inte 8....
 - Fenotypiska metoder kan utnyttjas bättre än i nuläget
 - Tiden för artbestämning har gått ned
 - Molekylärbiologi
 - Hittills svårt – mycket komplex bild med många resistensmekanismer (och vissa gener uttrycks inte)
 - Enklare att påvisa resistens än känslighet
 - Proteonomik
 - Masspektrofotometri kan visa sig lösa en del av problemen man har observerat med molekylära metoder
 - Hur kan vi intressera kliniker för labsvar mitt i natten?
 - Hur får vi till en ordning där landstingen betalar för utökade öppettider på laboratoriet
-