

RAPID POLYMYXIN NP

Detectie van gevoeligheid en resistentie van enterobacteriën op polymyxinen (kolonie en bloedkweek)
10 testen (REF 23000)



CPB 0405-DU-2018-02

Aleen voor diagnostisch gebruik in vitro, alleen voor professioneel gebruik. Tests voor eenmalig gebruik

1 – DOEL

Met de test Rapid Polymyxin NP kan de gevoeligheid en de resistentie van enterobacterie worden gedetecteerd ten opzichte van polymyxinen (polymyxine E of colistine, en polymyxine B) vanaf een bacteriële cultuur op een agar-medium of een positieve bloedkweek.

2 – BELANG

De ontwikkeling van bacteriën die multiresistent zijn aan verschillende families van antibiotica (bekend als multiresistente bacteriën of BMR) vertegenwoordigt een volksgezondheidsprobleem door een drastische vermindering van de therapeutische behandelmogelijkheden en door de verhoging van het sterftecijfer in de intensieve zorg-afdeling. Onder de BMR's zijn de enterobacteriën (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* of andere soorten) de belangrijkste bron van BMR-infecties met gramnegatieve bacillen. Ze zijn verantwoordelijk voor de meeste in de gemeenschap opgelopen infecties (met betrekking tot urine, longen, intra-abdominaal, bloed) en nosocomiale infecties. Bovendien wordt hun verworven weerstand tegen β -lactaminen (penicillines, cephalosporinen, monobactam) en het brede spectrum van aminoglycosiden en quinolonen in toenemende mate gerapporteerd in de wereld.

Deze ontwikkeling van BMR-bacteriën heeft gezorgd voor een hernieuwde belangstelling in een oude klasse van antibiotica, de polymyxinen (Polymyxine E of colistine en Polymyxine B), die in het algemeen worden beschouwd als moleculen als laatste redmiddel.

Het toenemende gebruik van colistine leidt echter vandaag de dag tot het ontstaan en de toename van nieuwe stammen van enterobacteria die multiresistent zijn tegen colistine en carbapenems, en vormt een nieuwe bedreiging voor de duurzaamheid van een effectief therapeutisch arsenaal. De controle van therapeutische impasses en de beheersing van besmettelijke risico's in een klinische context vereisen een snelle evaluatie van de profielen van gevoeligheid en resistentie van de bacteriestammen ten opzichte van colistine.

De momenteel beschikbare methodes voor deze bepaling van gevoeligheid aan of resistentie tegen colistine zijn niet aangepast aan de behoeften van klinieken en ziekenhuizen. Ze worden beoordeeld als saai en lang (24 uur, MIC in vloeibaar medium) of niet voldoende betrouwbaar zoals het geval is bij methoden van verspreiding op agar.

De test Rapid Polymyxin NP maakt het mogelijk om de resistentie van enterobacteria tegen colistine te bepalen in minder dan 3 uur en dat op een gevoelige en specifieke manier. Deze test is snel, gemakkelijk te lezen, eenvoudig te gebruiken en geschikt voor alle laboratoria. Ze maakt gebruik van een vloeibare detectiemethode van het geheel van fenotypische resistenties, die de onmiddellijke implementatie van een passende antibiotische therapie of de identificatie van draagobjecten van colistineresistente stammen mogelijk maakt om de risico's van de verspreiding van een epidemie te beperken.

3 – PRINCIPE

De test Rapid Polymyxin NP is gebaseerd op het principe omschreven door Nordmann, Jayol en Poirel (1-2-3). Deze methode in een vloeibaar medium is gebaseerd op de colorimetrische detectie van de snelle stofwisseling van glucose, gekoppeld aan de bacteriële groei, in aanwezigheid van een bepaalde concentratie van colistine.

De verzuring van het kweekmedium als gevolg van die groei wordt gevisualiseerd door de verkleuring van de pH-indicator van oranje naar geel (fenolrood).

4 – REAGENTIA

Omschrijving	Hoeveelheid
RP NaCl: Flacon van 3 mL van vloeibaar medium met 0,85 g/L van NaCl voor de bereiding van het inoculum	12
RP Medium: Flacon van 1,5 mL van kweekmedium voor enterobacteriën, op basis van Mueller-Hinton-bouillon (25 g/L) aangepast in kationen, van glucose bij 10 g/L, en fenolrood (50 mg/L) als pH-indicator	10
RP galerijen colistine: Galerij met een negatief controleputje C-, een testputje met colistine van een concentratie van 2 μ g/mL en een putje voor controle van de bacteriële groei C+. Galerij verpakt in een aluminium zak met geïntegreerd droogmiddel.	10
RP TC (Turbidity Control): Flacon van 3 mL van oplossing van bariumsulfaat als controle van troebelheid	1
Closing System: Beschermende deksel van de geïnoculeerde galerij in doorschijnend plastic	10

5 - VOORZORGEN BIJ GEBRUIK

De reagentia in deze kit zijn uitsluitend bedoeld voor *in-vitro*-diagnose en dienen door geautoriseerd personeel worden gehanteerd. Monsters, bacteriekweken en geïnoculeerde reagentia kunnen besmettelijk zijn en moeten worden gehanteerd met de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen, met inachtneming van de geldende hygiënevoorschriften en wetgeving voor dit type product in het land van gebruik. Het gebruik van een toestel van microbiologische veiligheid (PSM) wordt aanbevolen.

Gebruik reagentia niet langer dan de vervaldatum. De reagentie moeten worden opgeslagen bij temperaturen tussen +2 en +8°C.

Gebruik geen beschadigde of vóór het gebruik verkeerd opgeslagen reagentia. Gebruik geen flacons RP Medium die tekenen van lekkage vertonen. De met de test Rapid Polymyxin NP verkregen resultaten weerspiegelen de colistinegevoeligheid of -resistentie van de in het monster aanwezige enterobacteriestammen, maar kunnen niet alleen voor een klinische diagnose worden gebruikt. Die moet worden uitgevoerd door de arts op basis van biologische resultaten en klinische symptomen.

6 - VERZAMELING VAN MONSTERS

De te testen micro-organismen moeten geïsoleerd zijn bij voorkeur op niet zure kweekmedia van het type type Luria Bertani, Mueller Hinton, Columbia-agar 5% bloed van schapen, chocolade agar-PolyVitex, eosine methyleen blauwe agar of chromogenische agars. Uitgesloten van de lijst van deze media zijn bijvoorbeeld de agars van het type Drigalski. De test moet worden uitgevoerd vanaf recent verkregen kolonies (15 tot 24 uur van incubatie). De enterobacteriën afkomstig van bloedmonsters kunnen rechtstreeks worden getest vanaf monomicrobiële bloedculturen geïncubeerd in anaërobe of aërobe voorwaarden.

7 - BEREIDING EN CONSERVERING VAN REAGENTIA

Alle reagentia zijn klaar voor gebruik. De kit en de reagentia die bij +2+8°C in hun oorspronkelijke verpakking worden bewaard, zijn stabiel tot de op de verpakking vermelde uiterste gebruiksdatum.

De reagentia RP Medium en RP NaCl zijn geschikt voor eenmalig gebruik. Als het reagens RP TC wordt gebruikt voor het kalibreren van inocula vanaf geïsoleerde kolonies, moet het worden bewaard tot gebruik van het laatste reagens RP Medium van de kit. Het reagens RP TC moet worden opgeslagen bij +2+8°C weg van licht.

8 - REAGENS EN BENODIGD, MAAR NIET MEEGELEVERD MATERIAAL

Containers voor verontreinigd afvalmateriaal

Densitometer

Pipet en kegels

Broedstof gekwalificeerd bij +36°C +/- 2°C

9 – WERKWIJZE

9.1 TEST VANAF KOLONIES GEÏSOLEERD OP AGARMEDIUM

Het fenotype van GRAM-negatieve bacteriën moet worden geverifieerd door de realisatie van een GRAM-verkleuring. De test mag enkel worden uitgevoerd vanaf kolonies geïdentificeerd als zijnde van enterobacteriën en met name met uitzondering van *Pseudomonas aeruginosa* en *Acinetobacter baumannii*.

Houd de reagentia gedurende 10 min op kamertemperatuur. Incubeer vooraf gedurende 10 min bij 37°C het reagens RP Medium.

Verwijder de tape die het onderste deel van de galerij bedekt (putjes 1, 2 en 3).

• Bereiding van de negatieve controle:

Verdeel in de put C- n° 1:

-75 μ L van niet-geïnoculeerd RP medium

-25 μ L van niet-geïnoculeerd RP NaCl

• Bereiding van de bacteriële suspensie in de flacon van RP NaCl:

Prik drie of vier identieke geïsoleerde kolonies met behulp van een oese van 10 μ L of met een pasteurpipet met dop.

Ontlaad ze in een flacon van RP NaCl en homogeniseer goed.

• Standaardisatie van het inoculum:

Het wordt aanbevolen de standaardisatie van het inoculum met behulp van een densitometer uit te voeren. Er wordt echter een flacon van RP TC ter beschikking gesteld onder de voorwaarden van goede gebruikspraktijken (zie paragraaf *flacon RP TC*).

- Met behulp van een densitometer

Controleer met behulp van een densitometer of de troebelheid van het geïnoculeerde medium tussen 3 en 3,5 Mc Farland (Mc F) ligt. Er moet rekening worden gehouden met de laagste waarde verkregen bij het draaien van de flacon in het apparaat. Als de Mc F minder is dan 3 (onvoldoende inoculum), inoculeer de flacon dan opnieuw tot er een McF tussen 3 en 3,5 wordt verkregen. Als Mc F hoger is dan 3,5 (te rijk aan inoculum), verdunt u het met een nieuwe flacon RP NaCl totdat een correcte opaciteit wordt verkregen. Daarom zijn er 2 extra flacons RP NaCl in de kit inbegrepen en ze moeten na gebruik worden weggegooid.

In geval van onverenigbaarheid tussen de meegeleverde RP NaCl-flacon en de densitometer, wordt het volgende aanbevolen:

- giet de inhoud in een buis die compatibel is met dit apparaat,

- verkrijg een waarde van 0 Mc F,

- voeg vervolgens de kolonies toe totdat u een Mc F van 3-3,5 verkrijgt.

- Ten opzichte van de flacon RP TC

Deze methode van visuele aflezing kan subjectief zijn en vereist goede laboratoriumpraktijken om de betrouwbaarheid te garanderen van het verkrijgen van een Mc F van 3-3,5 in de geïnoculeerde RP NaCl-flacon. Om het verkrijgen te garanderen van de verwachte optische dichtheid van de geïnoculeerde RP NaCl-flacon in vergelijking tot de troebelheid van de meegeleverde RP TC, is het noodzakelijk om het proces van realisatie van de troebelheid van het inoculum te valideren.

Methodologie:

Pas de opaciteit van het geïnoculeerde medium aan die van de troebelheidscontrole RP TC aan met behulp van de zwarte lijnen op het etiket van de flask. Indien het nodig is om de troebelheid aan te passen, gaat u te werk zoals hierboven vermeld.

• Bereiding van het inoculum in het RP Medium en verdeling in de galerij:

- Breng 500 µL van geïnoculeerd RP NaCl in de RP Medium-flacon.
- Homogeniseer goed en verdeel het geïnoculeerde RP Medium: -100 µL in testputje n°2 (met de colistine)
- 100 µL in putje n°3 voor controle van de bacteriële groei C+ (zonder colistine)

Dek de galerij af door de afdekking "closing system" in te schakelen. Identificeer de galerij met de referenties van het geteste monster. Incubeer de galerij gedurende 2 tot 3 uur bij +36 ± 2 °C.

Een eerste waarneming kan worden uitgevoerd na 2 uur van incubatie (zie voorwaarde van aflezing en interpretatie van het uiteindelijke resultaat in paragraaf 10 - Aflezing en interpretatie).

9.2 TEST VANAF BOUILLON VAN POSITIEVE BLOEDKWEK

De test mag alleen worden uitgevoerd op een positieve monomicrobiële bloedkweek die enterobacteriën bevat (en met uitzondering van met name *Pseudomonas aeruginosa* en *Acinetobacter baumannii*) geïdentificeerd door MALDI TOF.

Houd de reagentia gedurende 10 min op kamertemperatuur (+18 +25 °C). Incubeer vooraf gedurende 10 min bij 37°C het reagens RP Medium. Verwijder de tape die het onderste deel van de galerij bedekt (putjes 1,2 en 3).

Bereiding van de negatieve controle:

Verdeel in de put C- n° 1:

- 75 µL van niet-geïnoculeerd RP Medium
- 25 µL van niet-geïnoculeerd RP NaCl

Bereiding van de bacteriële suspensie in de flask van RP NaCl:

Breng 300 µL positieve monomicrobiële bloedkweek in de flask RP NaCl. Meng goed.

Bereiding van het inoculum in het RP Medium en verdeling in de galerij:

- Breng 500 µL van geïnoculeerd RP NaCl in de RP Medium-flacon. Homogeniseer goed en verdeel het geïnoculeerde RP Medium
- 100 µL in testputje n°2 (met de colistine)
- 100 µL in putje n°3 voor controle van de bacteriële groei C+ (zonder colistine)

Dek de galerij af door de afdekking "closing system" in te schakelen. Identificeer de galerij met het geteste monster.

Incubeer de galerij **gedurende 2 tot 4 uur** bij +36 ± 2 °C. Een eerste waarneming kan worden uitgevoerd na 2 uur van incubatie (zie voorwaarde van interpretatie van het uiteindelijke resultaat in paragraaf 10 - Aflezing en interpretatie).

10 - AFLEZING EN INTERPRETATIE

De aflezing van de resultaten is gebaseerd op de identificatie en de vergelijking van de kleur van de testputjes met die van de putjes C + en C-.

Negatieve controle van aflezing (negatief controleputje C- n°1) :

Negatief controleputje n°1 (C-) vertoont de initiële kleur (oranje) van het medium. De waarneming van een kleurverandering van het testputje wordt in relatie tot deze controle uitgevoerd.

Als putje C- een gele verkleuring vertoont, is deze ongeldig. Interpreteer het resultaat in dit geval niet en herhaal de test.

Validatie (positief controleputje C+ n°3) :

Controleer of het medium dat overeenkomt met de controle voor bacteriële groei (C+) geel is geworden.

Aflezing en interpretatie van het Testputje nr. 2:

Een verandering in kleur van het medium, dat eerst oranje was, in geel/oranje of geel weerspiegelt het vermogen van de stam om zich te ontwikkelen bij de geteste concentratie van 2 µg/mL van colistine.

Het gebrek aan kleurverandering in het medium duidt er echter op dat stamontwikkeling werd geremd bij de concentratie van 2 µg/mL colistine.

• Inoculum uit geïsoleerde kolonies

Maak een eerste waarneming na 2 uur incubatie.

Als het positieve controleputje C+ (putje n°3, controle van bacteriële groei) een gele verkleuring vertoont, voer dan een aflezing uit van het testputje (putje n°2):

1/ als het TEST-putje geel is (of geel/oranje en lichter gekleurd dan het negatieve controleputje C- (putje n°1), dan is de stam resistent tegen colistine.

2/ als het TEST-putje oranje is (met een oranje kleurintensiteit gelijk aan putje C- n°1), incubeer dan de galerij opnieuw gedurende 1 uur om een nieuwe aflezing uit te voeren. Het eindresultaat wordt gegeven na 3 uur incubatie.

• Inoculum uit positieve bloedkweken

Maak een eerste waarneming na 2 uur incubatie.

Als het positieve controleputje C+ (putje n°3, controle van bacteriële groei) een gele verkleuring vertoont, voer dan een aflezing uit van het testputje (putje n°2):

1/ als het TEST-putje geel is (of geel/oranje en lichter gekleurd dan het negatieve controleputje C- (putje n°1), dan is de stam resistent tegen colistine.

2/ als het TEST-putje oranje is (met een oranje kleurintensiteit gelijk aan putje C- n°1), incubeer dan de galerij opnieuw gedurende 2 uur om een nieuwe aflezing uit te voeren. Het eindresultaat wordt gegeven na 4 uur incubatie.

Volgens het referentiekader CLSI (4-5) is er momenteel geen kritische concentratie voor enterobacteriën beschikbaar. De stammen worden dus ingedeeld als gevoelig of resistent ten opzichte van colistine volgens de volgende interpretatiecriteria gedefinieerd door het referentiekader EUCAST (6):

- een stam van enterobacteriën van MIC tot colistine ≤ 2 µg/mL wordt als gevoelig gedefinieerd (geïnhibeerde bacteriële groei; oranje verkleuring van het medium).

- een stam van enterobacteriën van MIC tot colistine > 2 µg/mL wordt als resistent gecategoriseerd (niet-geïnhibeerde bacteriële groei; geel/oranje of gele verkleuring van het medium).

11 - KWALITEITSCONTROLE

Er kan een controle van de test worden uitgevoerd met collectorstammen:

- *Escherichia coli* ATCC 25922, stam **gevoelig** aan colistine na 2 uur van incubatie (putje C- oranje, **TEST-putje oranje**, putje C+ geel) - *Proteus mirabilis* ATCC 25933, stam **resistent** tegen colistine na 2 uur van incubatie (putje C- oranje, **TEST-putje geel**, putje C+ geel)
- *Escherichia coli* NCTC 13846 (mcr1 positief), stam **resistent** tegen colistine na 2 uur van incubatie (putje C- oranje, **TEST-putje geel**, putje C+ geel).

12 - OORZAKEN VAN FOUTEN - BIJZONDERE GEVALLEN

Het inoculeren van de putjes moet gebeuren binnen 60 minuten na de realisatie van de bacteriesuspensie tot de troebelheid van Mc F 3-3,5 in het RP NaCl-reagens.

De kleurverandering van de positieve controle (putje nr. 3) van de galerij vóór de 2 uur van incubatie betekent niet dat de resultaten van de testputjes interpreteerbaar zijn.

Een vroegtijdige aflezing, vóór de aanbevolen 2 uur van incubatie, kan leiden tot een foutief resultaat: een foutieve gevoeligheid voor colistine voor een resistente stam.

Als de positieve controle van de galerij (putje nr. 3) niet de verwachte kleurverandering (geel) vertoont, dan kan geen enkel putje worden geïnterpreteerd. Er moet een nieuwe test worden uitgevoerd.

De incubatietijd voor het aflezen van de eindresultaten mag niet worden overschreden: respectievelijk **3 uur voor de testen uitgevoerd vanaf inoculum uit geïsoleerde kolonies en 4 uur voor testen uitgevoerd vanaf positieve bloedkweken.**

Voor bloedkweken is het noodzakelijk om de aanbevolen incubatietijd van 2 tot 4 uur te respecteren.

De gelijktijdige aanwezigheid van een gevoelige en een resistente stam van dezelfde enterobacteriële soort in de bloedkweekbouillon verbergt de detectie van de resistente stam niet.

De aanwezigheid van een colistinegevoelige enterobacteriële stam kan de detectie van resistente van een andere van nature uit resistente enterobacteriële soort die gelijktijdig aanwezig zijn in de bloedkweekbouillon verbergen.

De bloedmonsters moeten vanaf monomicrobiële bloedkweken worden getest.

13 - BEPERKINGEN VAN DE METHODE

De te testen bacteriekolonies mogen niet zijn geïsoleerd op agars waarvan het principe de onthulling is van de verzuring van het medium (bijvoorbeeld: Drigalski, broomkresolpaars (BCP) en MacConkey), dat niet geschikt is voor de realisatie van de test Rapid Polymyxin NP. Er moet absoluut op voorhand een overenting op een geschikt medium worden uitgevoerd (zie paragraaf 6 - Verzameling van monsters).

In het geval van inoculatie vanaf positieve bloedkweken is de sedimentatie van rode bloedcellen op de bodem van de putjes niet van invloed op het aflezen en interpreteren van de kleurverandering. Voor de test vanaf geïsoleerde kolonies, garandeert het naleven van een inoculatie van de test vanaf een gestandaardiseerd inoculum tussen 3 en 3,5 McF de prestaties van de test.

De detectiegrens (of analytische gevoeligheid) bedraagt 10⁷ CFU/mL; dat komt overeen met de minimale bacteriële lading die nodig is om colistineresistente stammen in een bloedmonster te detecteren. Een bacteriële dichtheid van minder dan 10⁷ CFU/mL in de bloedkweekbouillon kan vals-negatieve resultaten tonen.

14 - PRESTATIES

14.1 PRESTATIES VAN DE TEST VANAF GEÏSOLEERDE KOLONIES

De evaluatie van de prestaties van de test Rapid Polymyxin NP werd uitgevoerd door de "Unité Résistances Emergentes aux Antibiotiques" (INSERM, Faculté der Wetenschappen, Universiteit van Fribourg, Zwitserland) met betrekking tot de methode voor het bepalen van minimale remmende concentraties (MIC) in vloeibaar medium (microverdunding in Mueller-Hin-ton kation aangepaste bouillon gebruikt zoals beschreven in de richtlijn van het Clinical Laboratory Standard Institute (4-5) bekend als de referentiemethode.

De bacteriën van de studie zijn afkomstig van verschillende klinische monsters van internationale oorsprong en worden verdeeld volgens de volgende soorten:

Soort	Aantal getest	Soort	Aantal getest	Soort	Aantal getest
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	113	<i>Enterobacter absuriae</i>	2	<i>Proteus stuartii</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	40	Morganella morganii	2	<i>Proteus vulgaris</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	16	<i>Proteus mirabilis</i>	2	<i>Salmonella concord</i>	1
<i>Citrobacter freundii</i>	8	<i>Proteus rettgeri</i>	2	<i>Salmonella isangi</i>	1
<i>Citrobacter koseri</i>	8	<i>Salmonella enterica</i>	2		
<i>Enterobacter aerogenes</i>	8	<i>Serratia marcescens</i>	2		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	8	<i>Salmonella sp.</i>	2		

219 stammen van enterobacteriën werden geselecteerd uit de meest representatieve soorten van enterobacteriën, waaronder 78 colistinegevoelige stammen en 141 colistineresistente stammen.

Onder de resistente stammen worden verschillende moleculaire resistentiemechanismen tegen polymyxinen waargenomen (chromosomaal, plasmidisch, intrinsiek of onbepaald).

De MIC's van de stammen aan colistine en hun resistentiemechanisme worden als volgt verdeeld:

MIC (µg/mL)	0,125	0,25	0,5	<1	1	2	4	8	16	>16	32	64	128	>128
Aantal van stam	9	1	1	60	3	4	8	18	19	10	21	33	20	12

Resistentiemechanismen			Aantal stammen
Intrinsieke resistentie (natuurlijk)			10
Verworven resistentie	chromosomaal	heteroresistentie	2
		MgrB-genmutatie	70
		PgoP- of Q-genmutatie	2
		PmrA- of B-genmutatie	10
	plasmide	mcr-1-genmutatie	30
Onbekend mechanisme			17

De bacteriestammen werden opnieuw geïsoleerd op agar (Luria Berta-ni, Mueller Hinton, Columbia 5% bloed) gedurende 18-24 uur om de Rapid Polymyxin NP te testen parallel aan de bepaling van MIC's met de techniek in vloeibare microverdunding van het CLSI.

De test Rapid Polymyxin NP werd na 2 en 3 uur van incubatie geïnterpreteerd. Het percentage van klinische concordantie van de test Rapid Polymyxin NP bedraagt 97,7% ten opzichte van de methode van MIC in vloeibaar medium. De gevoeligheid van de test bedraagt 99,3% en de specificiteit bedraagt 94,9%.

Er zijn 4 grote discrepanties (DM) (MIC tussen 1 en 2 mg/l) en één zeer grote discrepantie (DTM) (stam *Klebsiella pneumoniae* van MIC 8 mg/l waarvan het resistentiemechanisme niet bekend is).

Het percentage van klinische concordantie, tot op 1 verdunning nauwkeurig, bedraagt 99,1%. Er blijft 1 DM en 1 DTM.

Wat de incubatietijd betreft, gaven alle stammen in 2 uur een interpreteerbaar resultaat. Bovendien is het profiel van gevoelige stammen stabiel, zelfs na 3 uur incubatie.

14.2 PRESTATIES VAN DE TEST VANAF POSITIEVE BLOEDKWEKEN

Globale prestaties verkregen door het combineren van de twee soorten bloedweekprotocollen:

Prestaties	Bloedweek klinisch	Bloedkweken verrijkt*	Globaal
Gevoeligheid	66,7%	98%	96,3%
Specificiteit	100%	100 %	100 %

* verrijkt: bloedkweken met stammen van enterobacteriën die gevoelig zijn voor of resistent zijn tegen colistine

• Prestaties van testen uitgevoerd vanaf positieve klinische bloedkweken

27 positieve klinische bloedkweken in aërobe en anaërobe kweekflacons (BD BACTEC™ Plus Aerobic/F en Plus)

Anaërobe/F) vanaf niet-geduplicateerde patiëntmonsters, werden gedetecteerd door Becton Dickinson FX en geanalyseerd door de CHUV in Lausanne, Zwitserland, Pr. G. Greub.

De verdeling van de geteste soorten is de volgende: 19 *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae*, 2 *Klebsiella oxytoca*, 2 *Enterobacter aerogenes*, 1 *Proteus mirabilis* et 1 *Serratia marcescens*.

Twee stammen van natuurlijke colistineresistentie (*Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*) gaven positieve overeenkomende resultaten binnen 4 uur van incubatie voor elke aërobe en anaërobe kweekconditie.

Een stam van *Klebsiella pneumoniae* die resistent is tegen colistine (MIC = 8 mg/l) werd niet binnen vier uur na de incubatie van de test gedetecteerd (vals-negatief resultaat).

Voor klinische bloedkweken bedraagt de gevoeligheid van de test 66,7% en de specificiteit 100%.

De bacteriële dichtheid van alle in deze studie geteste bloedweekbouillons bedroeg $\geq 10^7$ CFU/mL met uitzondering van 2 anaërobe flacons op 10^6 CFU/mL.

• Prestaties van testen uitgevoerd vanaf verrijkte bloedkweken:

Om meer resistente stammen te testen werd een protocol van verrijkte bloedweek uitgevoerd door de CHUV.

Van de 72 geteste stammen bevatten 51 resistente stammen verschillende genotypes van colistineresistentie en waren 21 stammen gevoelig. Voor elke stam werden er aërobe en anaërobe flacons getest.

Onder de 51 resistente stammen werd slechts één discrepantie waargenomen bij een stam *E. coli* MCR-1 (vals-negatief resultaat).

Voor verrijkte bloedkweken bedraagt de gevoeligheid van de test 98% en de specificiteit 100%.

15 - AFVALVERWIJDERING

Afval dient te worden afgevoerd in overeenstemming met de in het land van gebruik voor dit type reagentia geldende hygiënevoorschriften en wetgeving.

16 - BIBLIOGRAFIE

1 - Nordmann P, Jayol A, Poirel L. 2016. Rapid detection of polymyxin resistance in Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis 22:1038-1043

2 - Nordmann P, Jayol A, Poirel L, EP15305409.3: "Test for determining susceptibility to resistance to polymyxins in Enterobacteriaceae", 20. března 2015

3 - Jayol A, Dubois V, Poirel L, Nordmann P. 2016 Rapid detection of polymyxin-resistant Enterobacteriaceae from blood cultures. J Clin Microbiol 54:2273-2277.

4 - Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution of antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. 10. vydání Dokument M07-A10. Wayne (PA): The Institute; leden 2015.

5 - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28. vydání. Dokument M100-28. Wayne (PA): The Institute; 2018.

6 - Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Doporučení 2017. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, V1.0 března 2017.

De wijzigingen ten opzichte van de vorige versie zijn grijs gemarkeerd.



ELITech MICROBIO
 Parc d'activités du Plateau
 allée d'Athènes
 83870 SIGNES
 FRANCE
 ☎: 33 (0)4 94 88 55 00
 Fax.: 33 (0)4 94 32 82 61
 http://www.elitechgroup.com