

## RAPID POLYMYXIN NP

Érzékenység és rezisztencia kimutatása  
enterobaktériumok polimixinnel szembeni viselkedésében  
(kolónia és hemokultúra)  
**10 teszt (REF 23000)**



CPB 0405-HU-2018-02

Kizárólag *in vitro* diagnózishoz, csak professzionális használatra

A tesztek egyszer használatosak

### I - CÉL

A Rapid Polymyxin NP teszt ki tudja mutatni az enterobaktériumok polimixinnel (polimixin E vagy kolisztin, illetve polimixin B) szembeni érzékenységét vagy ellenállását kolisztin, illetve polimixin B) baktériumtenyésztéssel agar táptalajon vagy pozitív hemokultúrából.

### 2 - JELENTŐSÉG

A multirezisztens baktériumok kifejeződése (úgynevezett multirezisztens vagy BMR baktériumok) több antibiotikum család számára közegészségügyi kihívást jelent a terápiás lehetőségek drasztikus csökkenése révén és a halálozási arány emelkedésével az intenzív osztályokon. A BMR-ek közül az enterobaktériumok (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* vagy egyéb fajták) a Gram-negatív BMR bacilusok általi fertőzések fő forrását jelentik. Ők felelősek a legtöbb közösségben szerzett fertőzésért (húgyúti, tüdő-, intraabdominális, vér-) és nozokomiális fertőzésért. Továbbá a  $\beta$ -laktámokkal szemben kialakult ellenállásukról (penicillinek, kefalosporinok, monobaktám) és az aminoglikozidok és kinolonok kiterjedt spektrumával szembeni ellenállásukról egyre több jelentés érkezik világszerte. Baktériumok A BMR felkészítette az érdeklődést egy Ez a fejlődése régi antibiotikumcsoporttal kapcsolatban, a polimixinek (polimixin E vagy kolisztin és polimixin B), amelyekre általában "végső megoldás" molekulaként tekintenek. A kolisztinnel ahhoz vezet ma, hogy Ugyanakkor növekszik a felhasználása, az előfordulása és a szaporodás a új, kolisztinnel és karbapenémekkel szemben multirezisztens enterobaktériumok új törzseinek kolisztin és új fenyegetést jelent a hatékony alkalmazható terápiák fenntarthatóságára nézve. A terápiás zsákutcák és ellenőrzése és a klinikai környezetben előforduló fertőzési kockázatok csökkentése tehát a kolisztinnel szembeni ellenálló baktériumtörzsek érzékenységi és ellenállósági profiljának gyors értékelését követelik meg. A jelenleg rendelkezésre álló kolisztinnel szembeni érzékenység és rezisztencia meghatározási módszerek nem alkalmasak klinikai és kórházi ellátásra. Megítélésük szerint bonyolultak, hosszúak (24 óra, MIC folyadék közegben), vagy nem elég megbízhatóak, mint például az agar diffúziós módszerek.

A Rapid Polymyxin NP tesztet használják az enterobaktériumok kolisztinnel szembeni rezisztenciájának a kevesebb mint 3 órán belüli meghatározására, kifinomult és specifikus módon. Ez a teszt gyors, könnyen használható, könnyen olvasható és minden elemző laboratóriumban használható. Folyadékos módszert alkalmaz a fenotípusos rezisztenciák összességének a kimutatására, amely lehetővé teszi a megfelelő antibiotikummal való azonnali alkalmazását vagy a colistin-rezisztens törzsek átvivőanyagainak az azonosítását a járványterjedés kockázatának a korlátozása érdekében

### 3 - ELV

A Rapid Polymyxin NP teszt elve az alábbiakban olvasható: Nordmann, Jayol és Poirer (1-2-3). Ez a folyékony eljárás glükóz gyors metabolizmusának kolorimetriás kimutatására támaszkodik, a baktériumok szaporodásához kapcsolódóan, meghatározott kolisztin koncentráció esetében.

A tenyésztőközegnek a növekedés következtében történő savasodása színváltozás által válik láthatóvá, a pH indikátor narancssárgáról sárgára változik (fenolvörös).

### 4 - REAGENSEK

Leírás	Mennyiség
<b>RP NaCl:</b> üveg 3 mL folyékony tápközeg 0,85 g / L NaCl tartalommal inokulum előállításához	12
<b>RP Medium :</b> Üveg - 1,5 mL tenyésztőközeg enterobaktériumokhoz, forrázatból Mueller-Hinton (25 g / L) kationos, glükóz a 10 g / l, és fenolvörös (50 mg / L) pH indikátorként	10
<b>RP kolisztin tálcák:</b> tálcák negatív C- kontroll mélyedéssel, teszt-mélyedéssel amely 2 $\mu$ g / mL koncentrációjú kolisztint tartalmaz és egy C+ baktérium szaporodási kontroll-mélyedéssel. tálcák alumínium tasak csomagolásban, nedvességmegkötővel a tasakban	10
<b>RP TC (Turbidity Control) :</b> üveg 3 mL bárium-szulfát oldat zavarosság kimutatására	1
<b>Záró rendszer:</b> Védőfedél a a tálcán áttetsző műanyaggal bevonva	10

### 5 - ALKALMAZÁSRA VONATKOZÓ ÓVINTÉZKEDÉSEK

A készlet reagensait kizárólag *in vitro* diagnosztikára szánják, azokat csak az arra jogosult személyek kezelhetik. A beoltott minták, baktériumtenyészetek és reagensok potenciálisan fertőzésveszélyesek, a megfelelő óvintézkedések alkalmazásával és a felhasználás országában az ilyen típusú termékre vonatkozó hatályos higiéniai jogszabályok betartásával kell kezelni. Est recom-Mikrobiológiai biztonsági állomás (PSM) használata ajánlott. Ne használja fel a reagenset a lejáratú idejükön túl. A reagenset hőmérséklet között +2 és +8°C közötti hőmérsékleten kell tárolni. Ne használjon sérült vagy a használat előtt rosszul tárolt reagenset. sation.

Ne használjon olyan RP közeg ampullákat, amelyeken szivárgás jelei láthatók.

Az eredmények, amelyeket a Rapid Polymyxin NP teszt hoz, kimutatják az enterobaktériális törzsek kolisztin érzékenységét vagy rezisztenciáját a mintában, de ez önmagában nem elegendő a effectuer klinikai diagnózis felállításához. Klinikai diagnózist az orvosnak kell felállítania a biológiai eredmények és klinikai tünetek fényében.

### 6 - MINTAGYŰJTÉS

A tesztelt mikroorganizmusok lehetőleg az alábbi típusú nem savas táptalajon kell izolálni: Luria Bertani, Mueller Hinton, Columbia agar 5% juhvérral, Csokoládé agar-PolyVitec, Eozin Metilénkék agar vagy kromogén agar. Nem szerepelnek a közegek listáján például a Drigalski típusú agarok. A tesztet a közelmúltban nyert kolóniákból kell elvégezni (15h - 24h inkubáció). A vérmintákból származó enterobaktériumokat lehet közvetlenül kisméretű, aerob vagy anaerob körülmények között inkubált hemokultúrákból vizsgálni.

### 7 - REAGENSEK ELKÉSZÍTÉSE ÉS TÁROLÁSA

Minden reagens használatra kész.

A készletet és a reagenset +2 és +8°C-on tárolva eredeti csomagolásukban vannak a a dobozon feltüntetett lejáratú dátumig tarthatók el.

Az RP Medium reagens és RP NaCl reagens egyszerűen használhatóak. Ha az RP TC reagenset az inokulum kalibrálására használjuk elszigetelt kolóniákból, meg kell őrizni a készlet utolsó RP Medium reagensének az elhasználásáig. Fénytől védve tárolandó. Az RP TC reagenst +2 - +8°C közötti hőmérsékleten és

### 8 - SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT REAGENS ÉS ANYAGOK

Tartályok szennyezett hulladékhöz;  
Denzitóméter  
Pipetta és kúpok  
+36°C +/- 2°C-ra minősített kemence

### 9 – MŰKÖDÉS

#### 9.1 AGAR KÖZEGBEN ISOLÁLT KOLÓNIAK VIZSGÁLATA

A GRAM-negatív baktériumfenotípust GRAM festéssel kell ellenőrizni. Kezdődően azonosított kolóniákból.

A vizsgálatot kizárólag Enterobaktériumokként és a *Pseudomonas aeruginosa* és *Acinetobacter baumannii* kihagyásával kell elvégezni.

A reagenset 10 percig szobahőmérsékletre kell vinni. Előinkubálni az RP Medium közeget 10 percig 37°C-on. Távolítsa el a tálcák alsó részén levő ragasztót (1., 2. és 3. mélyedések).

#### • Negatív kontroll előkészítése:

C- 1. sz. mélyedésben szétosztani;  
- 75  $\mu$ L nem beoltott RP Medium táptalajt  
- 25  $\mu$ L nem beoltott RP NaCl-ot

#### az RP NaCl üvegben:

#### • A bakteriális szuszpenzió előkészítése

Három-négy azonos izolált kolóniát beinjektálni egy 10  $\mu$ L-es fecskendő vagy egy lezárt végű Pasteur pipetta segítségével NaCl-ot és alaposan homogenizálni. Egy RP palackba kell tenni

#### • Az inokulum standardizálása:

Az inokulum standardizálását ajánlott denzitóméterrel végezni. Ugyanakkor egy üveg RP TC rendelkezésre áll a bevált gyakorlatok feltételei szerint (lásd: *RP TC üveg*).

#### - Denzitóméterrel

Ellenőrizze a denzitóméterrel, hogy a beoltott közeg zavarosságát 3 és 3,5 Mac Farland (Mc F) között van. A palackot forgatni kell a készülékben, és az így kapott legalacsonyabb értéket kell figyelembe venni.

Ha az Mc F 3-nál alacsonyabb (elégten inokulum), újra be kell oltani az üveget, egészen addig, amíg az McF-érték 3 és 3,5 között nem lesz. Ha az Mc F érték 3,5 fölött van (túl sűrű inokulum), hígítani kell egy új üveg RP NaCl-dal amíg a megfelelő átlátszóságot el nem érjük. Plusz 2 üveg NaCl RP van a ehhez a készletben, használat után ezeket el kell dobni.

A összeférhetlenség áll a rendelkezésre bocsátott RP NaCl között, ajánlott:

- a tartalmat az eszközzel kompatibilis csőbe áthelyezni,  
- 0 McF értéket kapni,  
- majd addig adni hozzá a kolóniákat amíg McF 3-3,5 közötti értéket nem kapunk.

#### - Az RP TC palackhoz képest

Ez a vizuális leolvasási módszer lehet szubjektív és megköveteli jó laboratóriumi gyakorlatot követel meg azért, hogy garantált legyen a a beoltott RP NaCl üveg 3-3,5 McF közötti értéke. A beoltott RP NaCl üveg elvárt optikai sűrűségének a biztosítása érdekében a rendelkezésre álló RP TC zavarosságához képest validálni kell az inokulum zavarosságát előidéző eljárást.

#### Módszertan:

Igazítsa a beoltott közeg átlátszóságát az RP TC zavarosság szabályozáshoz az üveg címkéjén lévő fekete vonalak segítségével. Ha be kell állítani a zavarosságot, a fentiek szerint járjon el.

### • Inokulum előkészítése az RP Medium táptalajban és eloszlása a tálcában:

- Töltsünk 500 µL RP NaCl-ot az RP Medium üvegbe.  
- Gyorsan homogenizáljuk és oszlassuk el a beoltott RP Medium közeget:

-100 µL a 2. sz. teszt mélyedésben (amelyik a kolisztint tartalmazza)  
-100 µL a 3. számú, baktérium szaporodási C+ kontroll-mélyedésben (kolisztin nélkül)

Fedje be a tálcat a "rendszer lezárása" fedéllel.

Azonosítsa a tálcat a vizsgált minta referenciáival. Inkubálja a tálcat +36 +/- 2°C közötti hőmérsékleten 2-3 órán keresztül.

Első megfigyelést végezhetünk 2 órás inkubáció után (lásd a végeredmény leolvasásának és értelmezésének feltételét, 10. bekezdés - Olvasás és értelmezés).

### 9.2 POZITÍV HEMOKULTÚRA FORRÁZAT VIZSGÁLATA

A vizsgálatot csak enterobaktériumokat tartalmazó pozitív monomikrobiális hemokultúrából szabad elvégezni (amiben nincs *Pseudomonas aeruginosa* és *Acinetobacter baumannii*) amelyet a MALDI TOF azonosít.

A reagenseket szobahőmérsékletre kell vinni (+18°C és +25°C között) 10 percig. Az RP táptalajt előinkubáljuk 10 percig 37°C-on.

Távolítsa el a tálca alsó részén levő ragasztót (1., 2. és 3. mélyedések).

#### • Negatív kontroll előkészítése:

C- 1. sz. mélyedésben szetosztant:

- 75 µL nem beoltott RP táptalaj

- 25 µL nem beoltott RP NaCl

**A bakteriális szuszpenzió előkészítése a NaCl RP palackban:**  
helyezzen 300 µL monomikrobiális pozitív hemokultúrát az RP NaCl flakonba Keverje alaposan össze

**Inokulum előkészítése az RP Medium táptalajban és eloszlása a tálcában:**

500 µL beoltott RP NaCl-ot injektálunk az RP táptalajú fiolába, homogenizáljuk és eloszlátjuk a beoltott RP táptalajt:

- 100 µL a 2. teszt mélyedésbe (amelyikben kolisztin van)

- 100 µL a 3. számú, baktérium szaporodási C+ kontroll-mélyedésben

Fedje be a tálcat a "rendszer lezárása" fedéllel. A tesztelt mintával azonosítsa a tálcat.

Inkubálja a tálcat +36 +/- 2°C-on **2-4 órán át**. Első megfigyelést 2 óra inkubálás után lehet elvégezni (lásd a végeredmény értelmezésének feltételét, 10. bekezdés - Olvasás és értelmezés).

### 10 - LEOLVASÁS ÉS ÉRTELMEZÉS

Az eredmények leolvasása a teszt mélyedés színének azonosítása és C + és C- mélyedések színével történő összehasonlítása alapján történik.

**Negatív leolvasáskontroll (C- negatív kontroll 1. sz. mélyedés) :**

A negatív kontroll 1. sz. (C-) mélyedése a táptalaj kezdeti (narancssárga) színt mutatja. A vizsgálati mélyedés színváltozásának megbecslése ez alapján a kontroll alapján történik.

Ha a C- mélyedés sárga színt mutat, érvénytelen. Ebben az esetben ne értelmezze az eredményt, és ismétlje meg a tesztet.

**Validálás (pozitív kontroll C + 3. sz. mélyedés) :**

Ellenőrizze, hogy a baktérium szaporodáshoz kapcsolódó (C +) táptalaj sárgára változott-e.

**A 2. teszt mélyedés leolvasása és értelmezése:**

A közeg színének megváltozása a kezdeti narancssárgáról sárgás narancssárgára vagy sárgára azt jelzi, hogy a törzs képes 2 µg / mL kolisztin koncentrációjúra fejlődni.

Másrészt a táptalaj színváltozásának hiánya azt jelzi, hogy a törzs fejlődése 2 µg / mL kolisztin koncentrációnál megakadt.

#### • Oltott kolóniákból származó inokulum

Tegyünk első megfigyelést 2 órás inkubálás után.

Ha a C + pozitív kontroll mélyedés (3. sz. mélyedés, baktérium szaporodási kontroll) sárga színváltozást mutat, akkor végezze el a teszt mélyedés leolvasását (2. sz. mélyedés):

**1 /** ha a TEST mélyedés sárga (vagy sárga / narancssárga és világosabb színű) mint a negatív C- kontroll mélyedés (1. sz. mélyedés), akkor a törzs ellenáll a kolisztinnek

**2 /** ha a TEST mélyedés narancssárga (olyan intenzitású narancs színnel mint az 1. sz. C- mélyedés), akkor inkubálja újra a tálcat egy órán keresztül egy új leolvasás elvégzéséhez. A végeredményt 3 órás inkubálás adja.

#### • Inokulum pozitív hemokultúrákból

Tegyünk első megfigyelést 2 órás inkubálás után.

Ha a C+ pozitív kontroll mélyedés (3. sz. mélyedés, baktérium szaporodási kontroll) sárga színváltozást mutat, akkor végezze el a teszt mélyedés leolvasását (2. sz. mélyedés):

Teszt (2. sz. mélyedés):

**1 /** ha a TESZT mélyedés sárga (vagy sárga / narancssárga és világosabb színű) mint a negatív C- kontroll mélyedés (1. sz. mélyedés), akkor a törzs ellenáll a kolisztinnek

**2 /** ha a TESZT mélyedés narancssárga (olyan intenzitású narancs színnel mint az 1. sz. C- mélyedés), akkor inkubálja újra a tálcat egy órán keresztül egy új leolvasás elvégzéséhez. A végeredményt 4 órás inkubálás adja.

Jelenleg nem állnak rendelkezésre kritikus koncentrációk az enterobaktériumok CLSI (4-5) referenciája szerint. Ezért a törzseket az EUCAST-szabvány által ajánlott értelmezési kritériumok szerint (6) kolisztin-érzékenyként vagy kolisztin-rezisztensként írják le:

- MIC enterobaktérium törzs 2 µg / mL ≥ kolisztinnel érzékenyként van definiálva (gátolt baktérium szaporodás; a tápközeg narancssárga színeződése).

- MIC enterobakterium törzs 2 µg / mL < kolisztinnel rezisztensként van definiálva (nem gátolt bakteriális növekedés; a táptalaj sárga / narancssárga vagy sárga színeződése).

### 11 - MINŐSÉGELENŐRZÉS

Az alábbi gyűjtési törzsekkel végezhető el a vizsgálat ellenőrzése:

- *Escherichia coli* ATCC 25922, kolisztinre **érzékeny** törzs 2 óra inkubáció után (C- narancssárga mélyedés, **narancs TESZT mélyedésC** + sárga mélyedés) - *Proteus mirabilis* ATCC 25933, kolisztin-**rezisztens** törzs 2 óra inkubáció után (C- narancssárga mélyedés, **sárga TESZT mélyedésC** + sárga mélyedés)  
- *Escherichia coli* NCTC 13846 (pozitív mcr1), kolisztin-**rezisztens** törzs 2 óra inkubáció után (C- narancssárga mélyedés, **sárga TESZT mélyedésC** + sárga mélyedés).

### 12 - HIBÁK OKAI - SPECIÁLIS ESETEK

A mélyedések beoltását a McF 3-3,5 közötti zavarossági értékű bakteriális szuszpenzió befejezése után 60 percen belül kell elvégezni RP NaCl reagensben.

A tálca pozitív kontrolljának (3. sz. mélyedés) színváltozása a 2 órás inkubálás előtt nem jelenti azt, hogy a vizsgálati mélyedések eredményei értelmezhetőek.

Az idő előtti, az ajánlott 2 órás inkubálás előtt történő leolvasás hibás eredményhez vezethet: hamis kolisztinnel szembeni érzékenységet mutathat ki rezisztens törzsnél.

Ha a tálca pozitív kontrollja (3. sz. mélyedés) nem mutatja a várható színváltozást (sárga), akkor egy mélyedés sem értelmezhető. Új vizsgálatot kell végezni.

Rendkívül fontos, hogy ne lépje túl a végeredmények olvasásának inkubációs idejét: **ez 3 óra az izolált kolóniák inokuluma esetén, 4 óra pozitív hemokultúra esetén.**

**A hemokultúrák esetében elengedhetetlen a javasolt, 2 óra és 4 óra közötti inkubációs idő tiszteletben tartása.**

Egy adott típusú enterobaktérium érzékeny törzsének és rezisztens törzsének az egyidejű jelenléte a hemokultúra forrázatban nem homályosítja el az ellenálló törzs kimutatását.

Kolisztin-érzékeny enterobakteriális törzs jelenléte elhomályosíthatja egy másik, olyan természetesen rezisztens enterobaktérium faj rezisztenciájának a kimutatását, amely szintén jelen van a hemokultúra forrázatban.

A vérmintákat monomikrobiális hemokultúrákból kell vizsgálni.

### 13 - A MÓDSZER KORLÁTAI

A vizsgálandó bakteriális kolóniákat nem szabad olyan agaron izolálni, amelynek elve a tápközeg savasodásának (pl. Drigalski, Bromocresol purple (BCP) és MacConkey) kimutatása, ami nem alkalmas a Rapid Polymyxin NP teszt elvégzésére. Elengedhetetlen a megfelelő tápközegre történő előzetes átültetés (lásd a 6. pontot - Minták összegyűjtése).

Pozitív hemokultúrákból történő beoltás esetén a mélyedések alján lévő vörösvértestek leülepedése nem zavarja a színváltozás leolvasását és értelmezését.

Izolált kolóniákból történő tesztelés esetén a 3 és 3,5 McF közötti, standardizált inokulumba való beoltás garantálja a teszt eredményességét.

A detektálási határérték (vagy analitikai érzékenység) 10<sup>7</sup> CFU/mL; ez annak a minimális baktériumtartalomnak felel meg, amely elegendő a kolisztinrezisztens törzsek vérmintában történő kimutatásához. 10<sup>7</sup> CFU/mL alatti bakteriális sűrűség a hemokultúra forrázatban hamisan negatív eredményt adhat.

### 14 - EREDMÉNYEK

#### 14.1 IZOLÁLT KOLÓNIAKBÓL VÉGZETT TESZTEK EREDMÉNYEI

A Rapid Polymyxin NP teszt értékelését az Antibiotikumokkal szembeni rezisztencia osztály végezte el (INSERM, Fribourgi Egyetem Tertmészettudományi Kara, Svájc), meghatározva a minimális gátló koncentrációt (MIC) folyadékfázisban (mikrooidat kationos Müller-Hinton forrázatban) a Clinical Laboratory Standard Institute (4-5) iránymutatásában leírtak szerint, ezt a módszert tekintve referencia-módszernek.

A vizsgálat során a baktériumok különböző nemzetközi klinikai mintákból származnak, és a következő fajok szerint vannak felosztva:

Faj	Szám vizsgálva	Faj	Szám vizsgálva	Faj	Szám vizsgálva
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	113	<i>Enterobacter absuriae</i>	2	<i>Proteus stuartii</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	40	Morganella morgani	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 enterobaktérium törzset választottunk ki az enterobaktériumok legreprezentatívabb fajtáiból, amelyek közül 78 törzs érzékeny és 141 törzs rezisztens a kolisztinnal szemben.

A rezisztens törzsek között a polimixinnel szembeni ellenállás különböző molekuláris mechanizmusai figyelhetők meg (kromoszomális, plazmid, belső vagy nem meghatározott).

A kolisztin törzsek minimális gátló koncentrációja (MIC) és rezisztencia mechanizmusa az alábbiak szerint oszlik meg:

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

Rezisztencia mechanizmusok			Törzsek száma
<b>Belső rezisztencia (természetes)</b>			10
<b>szerzett rezisztencia</b>	kromoszomális	hetero-rezisztencia	2
		MgrB génmutáció	70
		PhoP vagy Q génmutáció	2
	PmrA vagy B génmutáció	10	
plazmid	mcr-1 génmutáció	30	
<b>Ismeretlen mechanizmus</b>			17

A baktériumtörzset agaron (Luria Berta-ni, Müller Hinton, Columbia 5% vér) 18-24 órán át újraizoláltuk, hogy a CLSI folyékony mikrodatat technika általi MIC meghatározásával párhuzamosan megvizsgáljuk a Rapid Polymyxin NP-t is.

A Rapid Polymyxin NP tesztet 2 óra és 3 óra inkubáció után értelmeztük. A Rapid Polymyxin NP teszt klinikai egyezésétől százalékos aránya 97,7% folyadékkezes MIC módszerrel végezve. A teszt szenzitivitása 99,3%, a specifikitása pedig 94,9%.

4 nagy eltérést (DM) (MIC 1 és 2 mg/l között) és egy nagyon nagy eltérést (DTM) (*Klebsiella pneumoniae* törzs 8 mg/l MIC figyelhetünk meg, amelynek rezisztencia mechanizmusa nem ismert).

A klinikai egyezés aránya 1 megközelítő hígításra nézve 99,1%. 1 DM és 1 DTM marad.

Inkubációs időt tekintve az összes törzs 2 óra alatt értelmezhető eredményt adott. Ezen felül az érzékeny törzsek profilja 3 órás inkubáció után is stabil.

## 14.2 POZITÍV HEMOKULTÚRÁK VIZSGÁLATI EREDMÉNYEI

A hemokultúra protokollok két típusának kombinációjával nyert végeredmény:

Eredmények	Hemokultúra hemokultúrák	Klinikai dúsítottak *	Összességében
<b>Szenzitivitás</b>	66,7%	98%	<b>96,3%</b>
<b>Specifitás</b>	100%	100%	<b>100%</b>

\* dúsítottak: a kolisztinre érzékeny vagy kolisztinnal szemben rezisztens enterobaktériumok törzseivel kiegészített hemokultúrák

### • Pozitív klinikai hemokultúrákból végzett vizsgálatok eredményei

27 pozitív klinikai hemokultúra aerob és anaerob tenyésztő edényben (BD BACTEC™ Plus Aerobic/ F és Plus Anaerobic/F) nem duplikált páciens mintájából, a detektálást a Becton Dickinson FX automata végezte, az elemzést a lausanne-i Egyetemi Kórház (CHUV Lausanne, Svájc) végezte, Pr. G. Greub.

A vizsgált fajok megoszlása az alábbi: 19 *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae*, 2 *Klebsiella oxytoca*, 2 *Enterobacter aerogenes*, 1 *Proteus mirabilis* és 1 *Serratia marcescens*.

Két természetesen kolisztin rezisztens törzs (*Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*) konzisztensen pozitív eredményeket adott az 4 órás inkubáció során minden aerob és anaerob tenyésztési körülmény tekintetében.

Egy kolisztin-rezisztens *Klebsiella pneumoniae* törzs (MIC = 8 mg / l) nem lett kimutatható (hamis negatív eredmény) a 4 órás vizsgálati inkubációs idő alatt.

Klinikai vérkultúrák esetében a teszt szenzitivitása 66,7%, specifikitása pedig 100%.

A vizsgálatban vizsgált összes hemokultúra forrázat bakteriális sűrűsége  $\geq 10^7$  CFU/mL volt, kivéve két  $10^6$  CFU/mL sűrűségű anaerob edényt.

### • Dúsított hemokultúrákon végzett vizsgálatok eredményei:

Még több rezisztens törzs vizsgálata érdekében a CHUV elvégzett egy dúsított hemokultúra protokollt.

A vizsgált 72 törzs közül az 51 rezisztens törzs különféle kolisztin rezisztencia genotípusokat tartalmazott, és 21 törzs volt érzékeny. Minden törzs esetében aerob és anaerob edényeket vizsgáltak.

Az 51 rezisztens törzs közül egyetlen eltérés figyelhető meg egy *E. coli* törzsnél: MCR-1 (hamis negatív eredmény).

A dúsított hemokultúrák esetében a teszt szenzitivitása 98%, specifikitása pedig 100%.

## 15 - HULLADÉKÁRTALMATLANÍTÁS

A hulladékot a felhasználási országban az ilyen típusú reagensekre vonatkozó hatályos higiéniai jogszabályoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

## 16 - BIBLIOGRÁFIA

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», 20th March 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. 10th ed. Document M07–A10. Wayne (PA): The Institute; January 2015.

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

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

A korábbi verziók módosításai szürke színnel vannak jelölve.

**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>

