

Resistensbestemmelse af gærsvampe

En metodesammenligning af Sensititre YeastOne og Epsilometer test.

Af: Danilo Fobian Kalezic, Bioanalytiker & Mette Jørgensen, Bioanalytikerunderviser, Klinisk Mikrobiologisk Afdeling, Rigshospitalet, Diagnostisk Center.



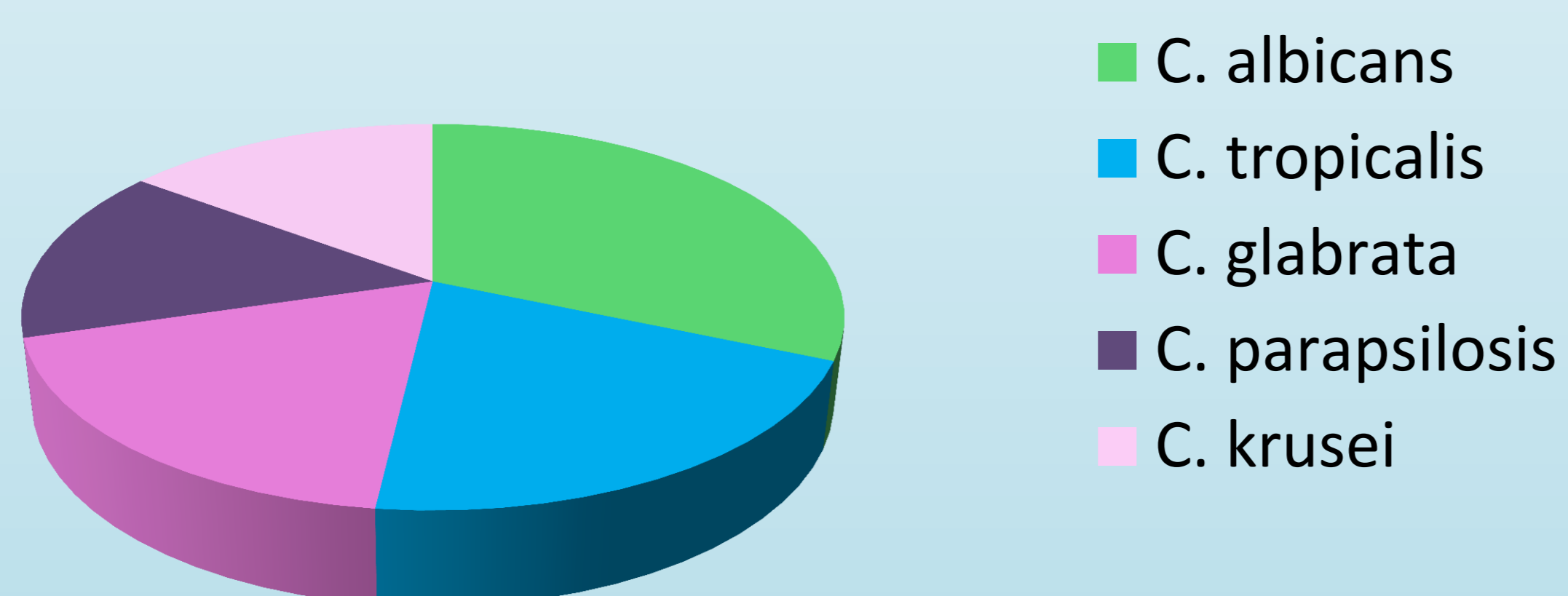
Indledning

Der ses en stigning af Candida infektioner i Danmark.¹ Samtidig ses en stigende tendens til resistensudvikling overfor flere anvendte antimykotika. Dette er med til, at øge behovet for en præcis og hurtig resistensbestemmelse.² Epsilometer test (E-test) er en agarbaseret gradientteknik til kvantitativ antifungal følsomhedstest. Den mindst inhiberende koncentration (MIC) kan bestemmes på baggrund af en prædefineret koncentrationsgradient af 1 specifikt antimykotikum. Der findes flere semiautomatiserede metoder til resistensbestemmelse af gærsvampe, heriblandt Sensititre YeastOne. Det er en mikrotiter bouillon metode, hvor MIC aflæses ved et kolorimetrisk farveskift fra blå til rød. Sensititre YeastOne kan bestemme MIC for 9 forskellige antimykotika, ved samme analysekørsel og gemmer resultaterne i en elektronisk database. Disse to metoder er sammenlignet, hvor E-test er benyttet, som den gyldne standard.

Materialer og Metode

54 gærstammer er benyttet til metodesammenligningen. 3 American Type Culture Collection (ATCC) stammer er benyttet til kvalitetssikring. For hver stamme blev der udført MIC bestemmelse overfor 9 forskellige antimykotika ved brug af både Sensititre YeastOne og E-test. Der er udført et totalt antal E-test på 513 stk. Følgende antimykotika er sammenlignet; posaconazole, voriconazole, itraconazole, fluconazole og amphotericin B. Den acceptable overensstemmelse er fastsat til 95%. De opnåede MIC-værdier er sammenlignet efter inddeling som værende Sensitiv, Intermediær eller Resistent efter de af EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) fastsatte breakpoints.

Fordeling af gærsvampe arter

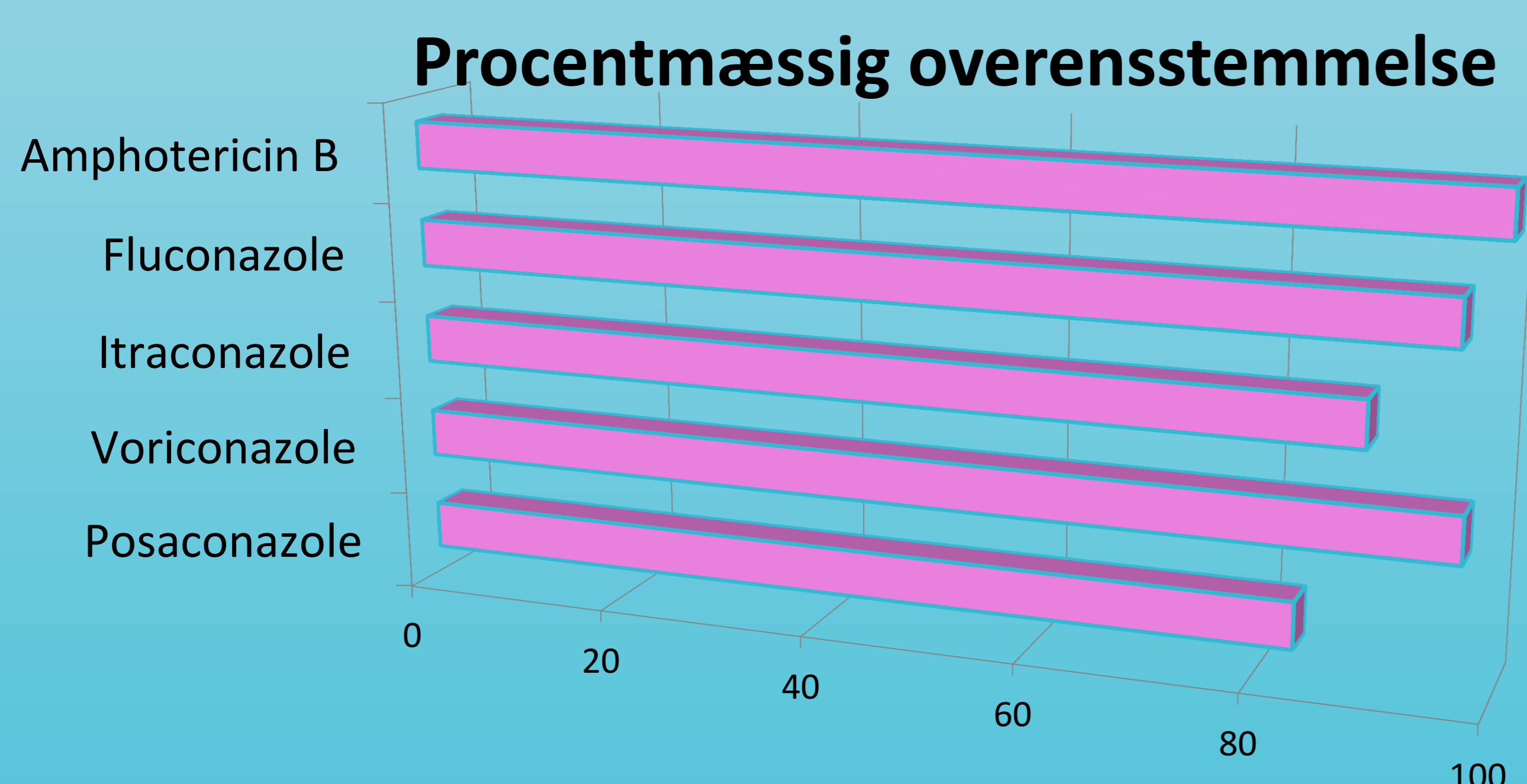


Resultater

Reproducerbarhed for Sensititre YeastOne, undersøgt overfor benyttede ATCC-stammer: 100 %

De opnåede resultater for amphotericin B, voriconazole og fluconazole var alle >95 %.

Der blev opnået en samlet overensstemmelse på 93,14%



Diskussion

Aflæsningen af E-test er i stor grad en subjektiv vurdering.³ Der vil derfor forekomme variationer ved aflæsning af MIC ved brug af E-test. Aflæsning af Sensititre YeastOne er i mindre grad en subjektiv vurdering og er generelt nemmere at aflæse end E-test.³

MIC bestemmelse ved brug af E-test er præanalytisk mere tidskrævende ift. brugen af Sensititre YeastOne. Da E-test er en agarbaseret metode, kan der forekomme varierende vækst egenskaber for de enkelte stammer. Dette kan besværliggøre den manuelle aflæsning. Herunder ses en typisk aflæsning af en Sensititre YeastOne fortyndingsrække.



I nogle tilfælde kan der dog opstå tvivl ved aflæsningen pga. farveintensiteten i panelet. Et eksempel herpå er angivet herunder.



En af fordelene ved Sensititre YeastOne er at der udføres MIC-bestemmelse for flere antimykotika på én gang og at MIC værdierne automatisk gemmes i en elektronisk database. Dette kan i nogle situationer betyde, at en optimal behandling hurtigere kan påbegyndes end ved brug af E-test.

Konklusion

Der er påvist en god overensstemmelse ved sammenligning af de to metoder, overfor de undersøgte antimykotika. Ydermere kan Sensititre YeastOne i nogle situationer bestemme MIC hurtigere end ved brug af E-test, desuden forekommer der færre variationer ved aflæsningsreglerne.

Litteratur

- 1: Arendrup MC, Fuursted K, Gahrn-Hansen B, Schønheyder HC, Knudsen JD, Jensen IM, et al. Semi-national surveillance of fungaemia in Denmark 2004–2006: increasing incidence of fungaemia and numbers of isolates with reduced azole susceptibility: 2008; The Authors Journal Compilation 2008 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, CMI, 14, 487–494.
- 2: Daniele M, Cecile G, Thierry C, Dominique, S and Muriel C. Resistance of *Candida* spp. to antifungal drugs in the ICU: where are we now?: 2014 august; 40: 1241-1255
- 3: Alexander B, Byrne T, Smith K, Hanson K, Anstrom K, Perfect J, et al. Comparative Evaluation of Etest and Sensititre Yeastone Panels against Clinical and Laboratory Standards Institute M27---A2 Reference Broth Microdilution Method for Testing *Candida* Susceptibility to Seven Antifungal Agents: 2007 mar.; vol. 45, no. 3, 698.

