

2019-05-08

Klinisk mikrobiologi  
Inga Fröding, Bitr överläkare

## Metoder för bestämning av antibiotikaresistens

Resistensbestämning utförs alltid för isolat från blod, cerebrospinalvätska och ledvätska. I övrigt utförs resistensbestämning efter bedömning av fyndens relevans. Kliniska upplysningar på remissen är av stor vikt för den bedömningen.

Klinisk mikrobiologi på Karolinska använder flera olika metoder för resistensbestämning, och följer riktlinjer från The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, [www.eucast.org](http://www.eucast.org)) och den nordiska metodkommittén för resistensbestämning, (NordicAST, [www.nordicast.org](http://www.nordicast.org))

### SIR-systemet – definitioner

EUCAST ändrade definitionerna av SIR-kategorierna som gäller resistensbestämning av bakterier från 1 januari 2019. På Karolinska Universitetslaboratoriet implementerades förändringarna den 30 april 2019. Fördjupad information framgår även i artikel i läkartidningen (Giske *et al.*, jan 2019).

De nya definitionerna är:

- **S – Känslig vid normal dosering:** En mikroorganism kategoriseras som “känslig vid normal exponering\*” när sannolikheten för framgångsrik behandling är hög vid normal dosering av medlet.
- **I – Känslig vid ökad exponering:** En mikroorganism kategoriseras som “känslig vid ökad exponering\*” när sannolikheten för framgångsrik behandling är hög om koncentrationen av medlet ökas i infektionshärden.
- **R - Resistent:** En mikroorganism kategoriseras som “resistent” när sannolikheten för framgångsrik behandling är låg även vid höga koncentrationer av medlet i infektionshärden.

\*Exponering är en funktion av hur administrationsform, dos, doseringsintervall, infusionstid, så väl som distribution, och utsöndring av det antimikrobiella medlet påverkar koncentrationen av medlet i infektionshärden”

Brytpunkterna för S, I och R har inrättats så att I (I-kategorin) är en lika användbar kategori som S (S-kategorin) men kräver en högre dos. För mer information om dosering, se NordicASTs brytpunktstabell på [www.nordicast.org](http://www.nordicast.org), avsnitt ”dosering”.

## Metoder för rutinemässig resistensbestämning som ger S/I/R

### 1. Diskdiffusion enligt EUCAST

Antibiotikaindränkta papperslappar läggs på en agarplatta som har inokulerats med bakteriesuspension. Efter inkubation avläses zonstorleken med skjutmått. Zonstorleken används för kategorisering av S/I/R för aktuellt antibiotikum enligt NordicAST riktlinjer ([www.nordicast.org](http://www.nordicast.org)).

På Karolinska används diskdiffusion för de flesta bakteriearter utom de som resistensbestäms med automatiserad resistensbestämning, se nedan.

### 2. Automatiserad resistensbestämning med VITEK2 (bioMérieux)

Enterobacterales (gramnegativa tarmbakterier t.ex. *E. coli* och *Klebsiella pneumoniae*) och *Staphylococcus aureus* resistensbestäms i huvudsak med en automatiserad resistensbestämningsmetod. Även denna metod ger kategorisering i S/I/R.

## Metoder för MIC-bestämning (Minsta hämmande koncentration)

MIC-bestämning används när en noggrannare mätning av antibiotikakänsligheten behövs, till exempel för att bekräfta resistens när diskdiffusion eller VITEK2 visar misstanke om resistens eller när en patient är mycket svårt sjuk i bakteriell hjärnhinneinflammation. För vissa arter och antibiotika fungerar inte diskdiffusion eller automatiserad resistensbestämning tillräckligt bra och då används också MIC-bestämning.

För bakterier där EUCAST har fastställda brytpunkter anges både MIC-värdet och S/I/R kategorin i svaret. För arter som saknar brytpunkter anges endast MIC-värdet.

### 1. MIC-bestämning med mikrobuljongspädningsmetod (Broth Microdilution, BMD, Sensititre, ThermoFisher)

Referensmetodik för resistensbestämning av aeroba bakterier för de flesta antibiotika är buljongspädningsmetoden (ISO20776-1). Vid mikrobuljongspädning används 96-hålsplattor där brunnarna innehåller spädningsserier med stigande koncentration av de antibiotika man vill testa. Till brunnarna sätts en standardiserad bakteriesuspension. Minsta hämmande koncentration är den brunn med lägst antibiotikakoncentration där ingen synlig växt kan ses efter 18-24 timmars inkubation.

På Karolinska används kommersiella färdigpreparerade 96-hålsplattor med antibiotika för mikrobuljongspädning av aeroba bakterier, jästsvamp, *Aspergillus* spp, och atypiska mykobakterier.

## 2. MIC-bestämning med agarspädning

Agarspädning är referensmetod för resistensbestämning av anaeroba bakterier. Med denna metod gjuts olika antibiotikakoncentrationer in i agarplattor. En standardiserad bakterisuspension appliceras på varje platta, och plattorna inkuberas anaerobt i 48 timmar. Minsta hämmande koncentration är den lägsta koncentration där ingen bakterieväxt kan ses efter inkubationstiden.

Karolinska Universitetslaboratoriet är nationellt referenslaboratorium för MIC-bestämning med agarspädning.

## 3. MIC-bestämning med gradienttester (Etest, bioMérieux)

Etest är en plastremsa som har en antibiotikagradients, med låg koncentration av läkemedlet i ena änden, och hög koncentration i den andra änden. Denna remsa läggs på en agarplatta som inokulerats med en bakteriesuspension. Efter inkubation kan MIC-värdet avläsas där bakterietillväxten har hämmats av aktuellt antibiotikum.

## 4. MIC-bestämning med buljongspädningsmetod enligt EUCAST

Denna metod är referensmetodik för resistensbestämning av övriga trådsvamparter, *Cryptococcus spp*, samt ovanliga jästsvamparter som inte kan resistensbestämmas med kommersiella Sensititre-paneler. Resistensbestämningen utförs med egentillverkade spädningsserier av antimykotika som sätts i 96-hålsplattor. Standardiserad svampsuspension tillsätts i brunnarna och läses av efter 24-48 timmars inkubation (varierar beroende på art).

Karolinska Universitetslaboratoriet är nationellt referenslaboratorium för denna metod.

### Mer information:

[www.nordicast.org](http://www.nordicast.org)

[www.eucast.org](http://www.eucast.org)

Giske C, Hanberger H, Kahlmeter G. SIR-systemet för att beskriva bakteriers resistens ändras. *Lakartidningen*. 2019 Jan 31;116. pii: FHCX. PubMed PMID: 30720858.

<http://lakartidningen.se/Klinik-och-vetenskap/Kommentar/2019/01/SIR-systemet-for-att-beskriva-bakteriers-resistens-andras/>