

Kwaliteitscontrole van gevoeligheidstesten 2014

KEES VELDMAN^a, ANNET HEUVELINK^b, PETRA THIJSSSENS DE LEUR^b EN DIK MEVIUSA,^c

Samenvatting

Dit artikel beschrijft de resultaten van twee rondzendingen voor antibioticumgevoeligheidstesten uitgevoerd in 2014 door veterinaire laboratoria en dierenartsenpraktijken met de door hun gehanteerde standaardmethode. Het artikel bevat tevens een vergelijking van de kwaliteit van de resultaten van 2014 met de rondzendingen van 2013 (eerder gepubliceerd in dit tijdschrift: deel 138, aflevering 2). De methodes voor en uitvoering van gevoeligheidstesten in veterinaire laboratoria en dierenartsenpraktijken zijn in 2014 verder geharmoniseerd. Bovendien is er meer uniformiteit ontstaan in de keuze van de antibiotica in de testpanels. De verbeterde harmonisatie is het resultaat van de implementatie van adviezen van CVI en de GD en heeft geleid tot een verbetering van de testkwaliteit.

Inleiding

Central Veterinary Institute (CVI) in Lelystad en de Gezondheidsdienst voor Dieren (GD) in Deventer organiseren sinds 2013 jaarlijks rondzendingen voor antibioticumgevoeligheidstesten. Deze zijn bedoeld voor veterinaire laboratoria en dierenartsenpraktijken die dergelijke bacteriële diagnostiek uitvoeren. Het doel van de rondzendingen is te komen tot een verdere harmonisatie van de methode en verbetering van de kwaliteit van de resultaten. De uitkomsten hebben geen consequenties voor de deelnemende laboratoria, maar zijn bedoeld als stimulans voor verdere verbetering van de kwaliteit. In dit artikel wordt de harmonisatie en de kwaliteit van de gevoeligheidstesten in 2014 vergeleken met die van 2013. Hiervoor worden drie indicatoren gebruikt: (1) standaardisatie van de

testmethode, (2) harmonisatie van de antibioticatestpanels en (3) het percentage afwijkende resultaten (resultante van technische uitvoering en de interpretatie).

Materiaal en Methode

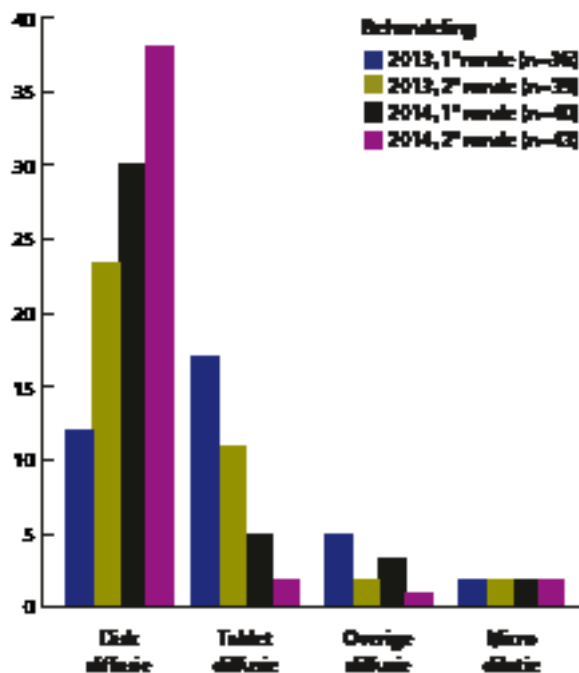
Net als in 2013 zijn in 2014 twee rondzendingen georganiseerd (in maart en september), waarbij steeds vier bacterie-isolaten zijn rondgestuurd naar de deelnemende laboratoria en dierenartsenpraktijken. Tijdens de eerste ronde werden één *Escherichia coli*, één *Staphylococcus aureus*, één *Salmonella enterica* (S. Paratyphi B, variant Java) en één coagulase-negatieve stafylokok (*S. chromogenes*) rondgestuurd en tijdens de tweede ronde één *E. coli*, één *S. aureus*, één *Streptococcus uberis* en één *Enterococcus faecalis*. Van deze isolaten zijn de referentiewaarden bij CVI vastgesteld door de Minimaal Inhiberende Concentratie (MIC) voor een panel antibiotica te bepalen met de micro-bouillondilutiemethode volgens ISO 20776-1. Vervolgens zijn de resultaten geïnterpreteerd met klinische breekpunten zoals aangegeven in de beschikbare tabel met criteria voor zowel de disk-diffusietest als micro-bouillonverduunningstest (zie www.wageningenur.nl/gevoeligheidstest-antibiotica). Deze tabel bevat internationaal geaccepteerde criteria die overgenomen zijn van EUCAST aangevuld met criteria van CLSI.

De GD heeft de isolaten met een begeleidende instructiebrief rondgestuurd naar de deelnemers. Iedere deelnemer werd gevraagd van de vier isolaten met de door hun gebruikte methode de antibioticumgevoeligheid te bepalen voor een aantal antibiotica(groepen). Verder kreeg iedere deelnemer via een unieke code een link naar een website. Op deze website werd de deelnemers gevraagd naast de resultaten en de interpretatie een serie vragen in te vullen met betrekking tot de gehanteerde methode. De resultaten werden uitsluitend kwalitatief beoordeeld op basis van de interpretaties: gevoelig (S),

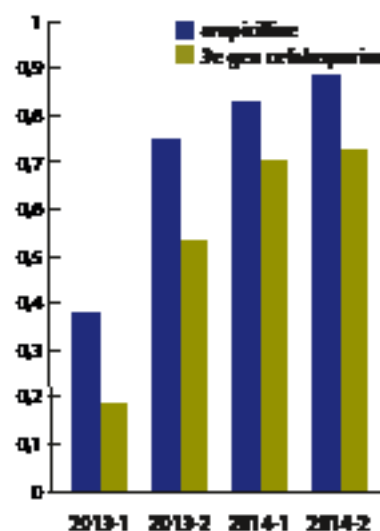
^a Central Veterinary Institute, onderdeel van Wageningen UR.

^b Gezondheidsdienst voor Dieren.

^c Departement Infectieziekten & Immunologie, faculteit Diergeneeskunde.



Figuur 1. Percentage gehanteerde methodes per rondzending voor het bepalen van de gevoeligheid van *E. coli* en *S. aureus* tijdens de rondzending voor gevoeligheidstesten in 2013 en 2014. Disk-diffusie: paper disks op MH-agar met confluerende groei (Europese disk-test), Tabletdiffusie: Rosco tabletten op IST-agar met semi-confluerende groei, Overige diffusie: andere diffusiemethode. Micro-dilutie: MIC-bepaling met de micro-bouillondilutiemethode.



Figuur 2. Percentage deelnemers dat bij *E. coli* de gevoeligheid voor ampicilline en een derde generatie cefalosporine heeft getest.

of resistent (R), waarbij alleen de interpretatie 'gevoelig' bij een resistent isolaat en 'resistent' bij een gevoelig isolaat als afwijkend zijn beoordeeld. Net als in 2013 zijn de resultaten van beide rondzendingen door CVI schriftelijk geanonimiseerd gerapporteerd aan de deelnemers. In aansluiting hierop zijn tijdens twee separate bijeenkomsten op de GD de resultaten van de beide rondzendingen besproken met alle deelnemers.

Resultaten

Aan de eerste rondzendoefening van 2014 hebben 40 laboratoria en dierenartsenpraktijken deelgenomen. Tijdens de tweede rondzendoefening was dit aantal gestegen tot 43 stuks. Dit is een lichte stijging ten opzichte van 2013 (met 36 en 39 deelnemers). De deelnemers waren vooral dierenartsenpraktijken, maar ook enkele veterinair diagnostische laboratoria.

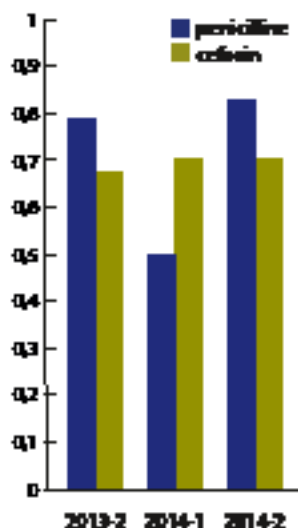
Methodes

De meerderheid (75 tot 88%) van de deelnemers heeft in 2014 de disk-diffusietest (Europese disk-test) gebruikt voor het bepalen van de

antibioticumgevoeligheid. Daarnaast gebruikte een klein deel van de deelnemers tabletdiffusie (5 tot 13%), een mix van disks en tabletten (2 tot 8%) of een MIC-bepaling door micro-bouillondilutie (5 tot 6%). Het percentage laboratoria dat de geadviseerde disk-diffusietest (Europese disk-test) gebruikt is in een relatief korte periode sterk gegroeid van 33 procent in 2013 (eerste ronde) naar 88 procent in 2014 (tweede ronde). Dit is een positieve ontwikkeling in de richting van verdere harmonisatie van gevoeligheidstesten bij veterinaire laboratoria (figuur 1).

Antibioticakeuzes (panels)

Een andere indicator voor de harmonisatie van de gevoeligheidstest is de keuze van de te testen antibiotica. Zoals eerder aangegeven blijken met name de gevoeligheden ten opzichte van de beta-lactamantibiotica een aandachtsgedebied. Voor *E. coli* wordt geadviseerd ampicilline te testen (als representant van de breedspectrumpenicillines) in combinatie met een derde generatie cefalosporine (als indicator voor resistentie door ESBL/AmpC-productie). Voor *S. aureus* wordt geadviseerd penicilline te testen (als indicator voor



Figuur 3. Percentage deelnemers dat bij *S. aureus* de gevoeligheid voor penicilline en cefoxitin heeft getest. De gegevens van de eerste ronde van 2013 bleken niet bruikbaar voor deze vergelijking.

Eerste rondzending 2014	Aantal waarnemingen	Aantal afwijkingen	Percentage afwijkingen
<i>E. coli</i> (CTX-M-1)	211	6	2,8%
<i>S. aureus</i> (MecA)	282	13	4,6%
<i>Salmonella</i> spp.	209	11	5,3%
<i>S. chromogenes</i> (CNS)	284	11	3,9%
totaal	986	41	4,2%

Tweede rondzending 2014	Aantal waarnemingen	Aantal afwijkingen	Percentage afwijkingen
<i>E. coli</i> (TEM-1)	230	7	3,0%
<i>S. aureus</i> (blaZ en induc linR)	302	32	10,6%
<i>S. uberis</i>	162	10	6,2%
<i>E. faecalis</i>	163	21	12,9%
totaal	857	70	8,2%

Tabel 1. Overzicht van de resultaten van de gevoeligheidsbepalingen van de deelnemers aan de rondzendingen van 2014.

resistentie door penicillinaseproductie) in combinatie met een cefinasetest en cefoxitin (als indicator voor resistentie door het MecA-gen). Voor het testen van *E. coli* heeft een groeiend aantal deelnemers voor ampicilline gekozen (in plaats van bijvoorbeeld amox/clavulaanzuur of zelfs in een enkel geval penicilline) in combinatie met een derde generatie cefalosporines (meestal cefotaxime of ceftiofur) (figuur 2). Tijdens de tweede ronde van 2014 werd ampicilline door 88 procent van de deelnemers getest en derde generatie cefalosporine door 72 procent. Het percentage deelnemers dat penicillinegevoeligheid van *S. aureus* test is variabel, maar lijkt toch te groeien (figuur 3). Tijdens de tweede ronde van 2014 werd penicilline door 88 procent van de deelnemers getest. Daarnaast zien we een constante groei van het percentage deelnemers dat cefoxitin test, tot 79 procent van de deelnemers tijdens de tweede rondzending van 2014. Het testen van cefoxitin leidt tot een betere detectie van MRSA.

Resultaten van de deelnemers

Over het algemeen behaalden de deelnemers in 2014 zeer goede resultaten, waarbij relatief weinig afwijkende resultaten zijn geproduceerd (tabel 1). Het gemiddeld aantal afwijkingen bedroeg tijdens de eerste rondzending 4,2 procent (41 afwijkingen bij 986 meetwaarden), waarbij geen grote verschillen werden

waargenomen tussen de geteste bacteriestammen. De ESBL-producerende *E. coli* (met CTX-M-1) scoorde het beste met slechts 2,8 procent afwijkende resultaten. Dit isolaat werd ook meegenomen tijdens de eerste rondzending van 2013, waarbij destijds gemiddeld 6,2 procent afwijkende resultaten werden gevonden. De verbetering in 2014 is vooral toe te schrijven aan de keuze van de geteste cefalosporines, waarbij in 2014 vooral is gekozen voor cefotaxime of ceftiofur (derde generatie cefalosporines) in plaats van cefquinome (vierde generatie cefalosporine) of cefoxitin (een cephamycine) in 2013.

Tijdens de tweede ronde werd bij gemiddeld 8,2 procent van de meetwaarden een afwijkend resultaat geproduceerd (70 afwijkingen bij 857 waarnemingen). Dit is een flink hoger percentage dan in de eerste ronde. Het meest opvallend waren het grote aantal afwijkingen bij *S. aureus* en *E. faecalis*. De geselecteerde *S. aureus* bevatte een induceerbare lincosamideresistentie. Dit type resistentie kan worden aangetoond met een zogenaamde D-test. In veertien gevallen werd bij dit isolaat geen D-test uitgevoerd en werd het isolaat daardoor foutief als clindamycinegevoelig beoordeeld. Naar aanleiding van nieuwe EUCAST-regels is het advies van CVI voor het uitvoeren van de D-test herzien, waarbij voor stafylokokken een maximale afstand tussen de disks wordt aangegeven van 12 tot 20 millimeter (van rand tot rand



Foto: CVL.

gemeten) en voor streptokokken van 12 tot 16 millimeter. De meeste afwijkingen bij *E. faecalis* traden op bij het testen van de combinatie trimethoprim met sulfamethoxazole (TmPS). Het TmPS-gevoelige isolaat werd door vijftien deelnemers foutief als resistent beoordeeld. De voornaamste reden hiervoor was waarschijnlijk de diffuse remzone van *E. faecalis* met geremde doorgroei tot aan de disk. Deze fijne groei moet de beoordelaar eigenlijk negeren. Hij moet aflezen op de meest duidelijke overgang tussen ongeremde en geremde groei. Verder viel bij deze bacterie de grote variatie op in de gebruikte media. Enterokokken (waaronder *E. faecalis*) moeten worden getest op Mueller Hinton (MH)-agar zonder bloed. Relatief veel deelnemers (N = 20) hebben *E. faecalis* getest op Mueller Hinton Fastidious (MH-F)-agar, dit is een te rijk medium voor enterokokken. Het gebruik hiervan kan voor extra afwijkingen hebben gezorgd.

Discussie en conclusie

Net als vorig jaar blijkt de keuze van bacteriespecies en de specifiek aanwezige resistentie-

mechanismen in 2014 een grote invloed te hebben gehad op het aantal afwijkende resultaten. Om deze reden kan uit het stijgende percentage afwijkingen in de tweede ronde ten opzichte van de eerste ronde geen conclusie worden getrokken over een eventuele verandering in de kwaliteit van de gevoeligheidstesten zoals die wordt uitgevoerd door de deelnemers. Het gemiddeld aantal afwijkingen in 2014 bedroeg 6 procent, dit is een daling ten opzichte van 2013, toen het gemiddeld aantal afwijkingen 9 procent bedroeg.

De harmonisatie in de uitvoering van gevoeligheidstesten in veterinaire laboratoria en dierenartsenpraktijken heeft zich in 2014 verder doorgezet. Ook is meer uniformiteit ontstaan in de antibioticumkeuze bij het testen van beta-lactamantibiotica bij *E. coli* en *S. aureus*. De harmonisatie in de testmethode en testpanels leidt tot een verbetering van de kwaliteit van de gevoeligheidstesten in de praktijk. Op basis van deze testen kan een gerichter advies worden gegeven over de keuze van de antibiotica waardoor de kans op een succesvolle antibioticumbehandling stijgt. ●