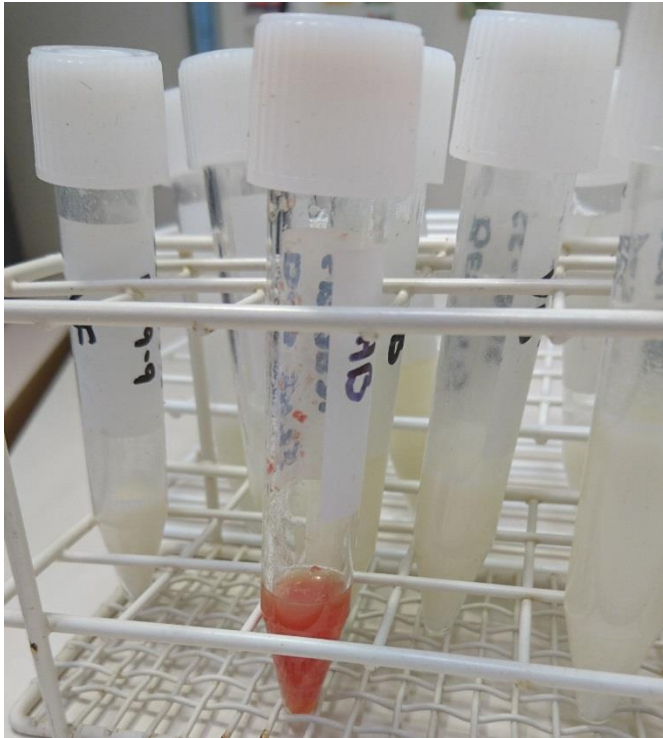


SVA

Utvärdering av penicillinastest med fokus på fältmässiga metoder för säkrare diagnostik av stafylokocker

Finns det bättre och sämre tester för att testa penicillinkänsligheten hos stafylokocker?

Juverinflammation är en vanlig orsak till antibiotikabehandling av mjölkkor. Det är viktigt att veta om bakterien som orsakar sjukdomen är känslig eller inte mot penicillin. I en ny studie har fem olika metoder och tester från fem olika tillverkare för att kontrollera resistens mot penicillin hos stafylokocker testats. Metoden spelar roll men det skiljer även mellan olika varumärken.



Juverinflammation är en förlustbringande sjukdom och en av de vanligaste orsakerna till antibiotikabehandling hos våra mjölkkor. Praxis är att ta ett mjölkprov för odling innan behandlingen inleds. Mjölksprovet odlas för det mesta av den kliniskt verksamme veterinären och i vissa fall skickas proverna till laboratorium.

En av de vanligast förekommande bakteriegrupperna vid juverproblem hos mjölkkor är stafylokocker. För att kunna avgöra hur det provtagna djuret bäst ska behandlas och för att förhindra spridning av resistent bakterier inom besättningen är det viktigt att säkert kunna avgöra om den framodlade stafylokocken är känslig för penicillin eller inte.

Ringtester som varje år skickas ut från SVA till landets fältveterinärer har visat att den test som idag används för att testa stafylokockernas penicillinkänslighet både ger felaktiga resultat och är svårtolkad. Många resistent stafylokocker missas och tolkas istället som känsliga.

För att kunna ge bättre rådgivning, kunna rekommendera den bästa testen på marknaden och dessutom utvärdera om den metod som används av SVAs laboratorium är tillförlitlig gjordes den här studien.

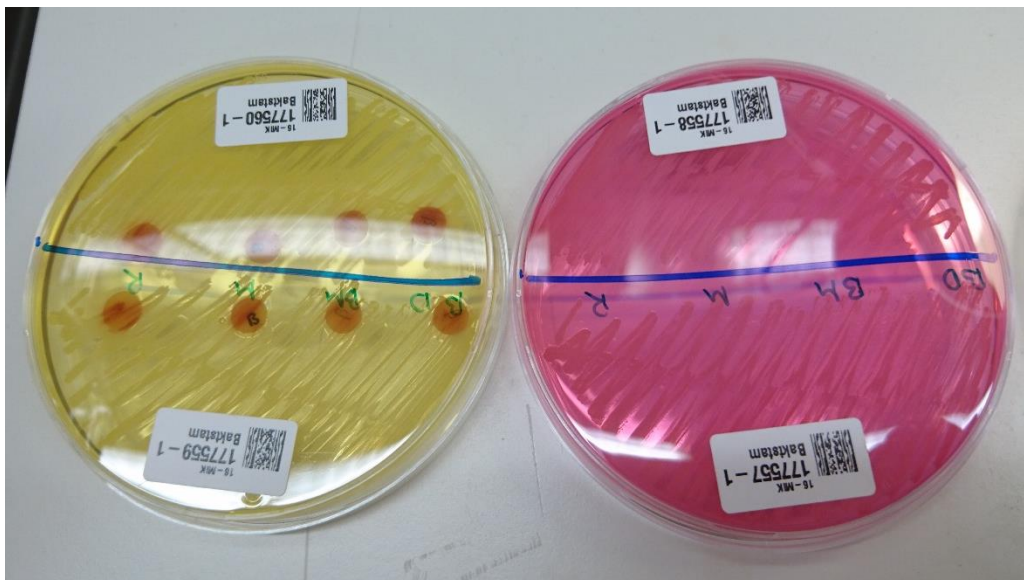
Metoden som idag används i fält är att lägga en nitrocefinlapp på utvuxna kolonier direkt på odlingsplattans stafylokockfältet. Om bakterien är känslig för penicillin syns ett rött färgomslag. Lapparna produceras av

flera olika tillverkare och i studien köptes fem olika märken in, däribland den som idag används av landets veterinärer.

100 stammar av *Staphylococcus aureus*, och 100 stammar vardera av de vanligast förekommande koagulasnegativa stafylokockerna testades med nitrocefintester från fem olika tillverkare på fyra olika sätt. Dessutom utvärderades klöverbladstesten som rutinmässigt utförs på SVA på alla stafylokockstammar. För att kunna avgöra om bakterierna verkligen var känsliga mot penicillin eller inte gjordes PCR-undersökning på samtliga stammar. PCR-undersökningen användes som referensmetod för att kunna räkna fram de olika testernas känslighet.

De olika metoderna som testades var nitrocefintest direkt på SELMA-platta, vilket är den vanligaste metoden i fält, lapp i rör, lapp i petriskål och att testa bakterien efter att den kommit i kontakt med antibiotika, så kallad inducering.

Nackdelen med att testa direkt på SELMA-plattan är att testen bara kan utföras när plattan ändrat färg från rosa till gult. Det är framförallt *Staphylococcus aureus* som ger ett gult färgomslag. I vår studie var det 14 % som av alla *Staphylococcus aureus*-stammar som inte gav något gult färgomslag.

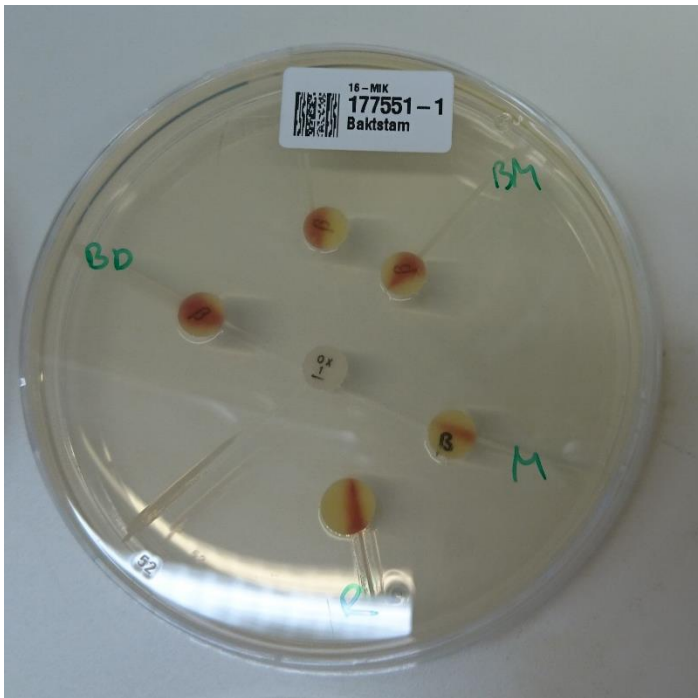


Att testa bakterien direkt på plattan fungerar bara när plattan slagit om till gult.

Samtliga tester jämfördes med PCR för resistensgenen och användes som referensmetod. Dessutom registrerades om testet var tydligt positivt eller negativt resultat eller om resultaten var svårtolkade.

VAD VAR BÄST?

Specificiteten var överlag väldigt hög (låg andel falskt positiva) och skilde sig mycket lite mellan olika metoder och varumärken. När det gällde sensitiviteten varierade det mycket både mellan varumärken och med metod. En hög sensitivitet ger låg andel falskt negativa provsvar.



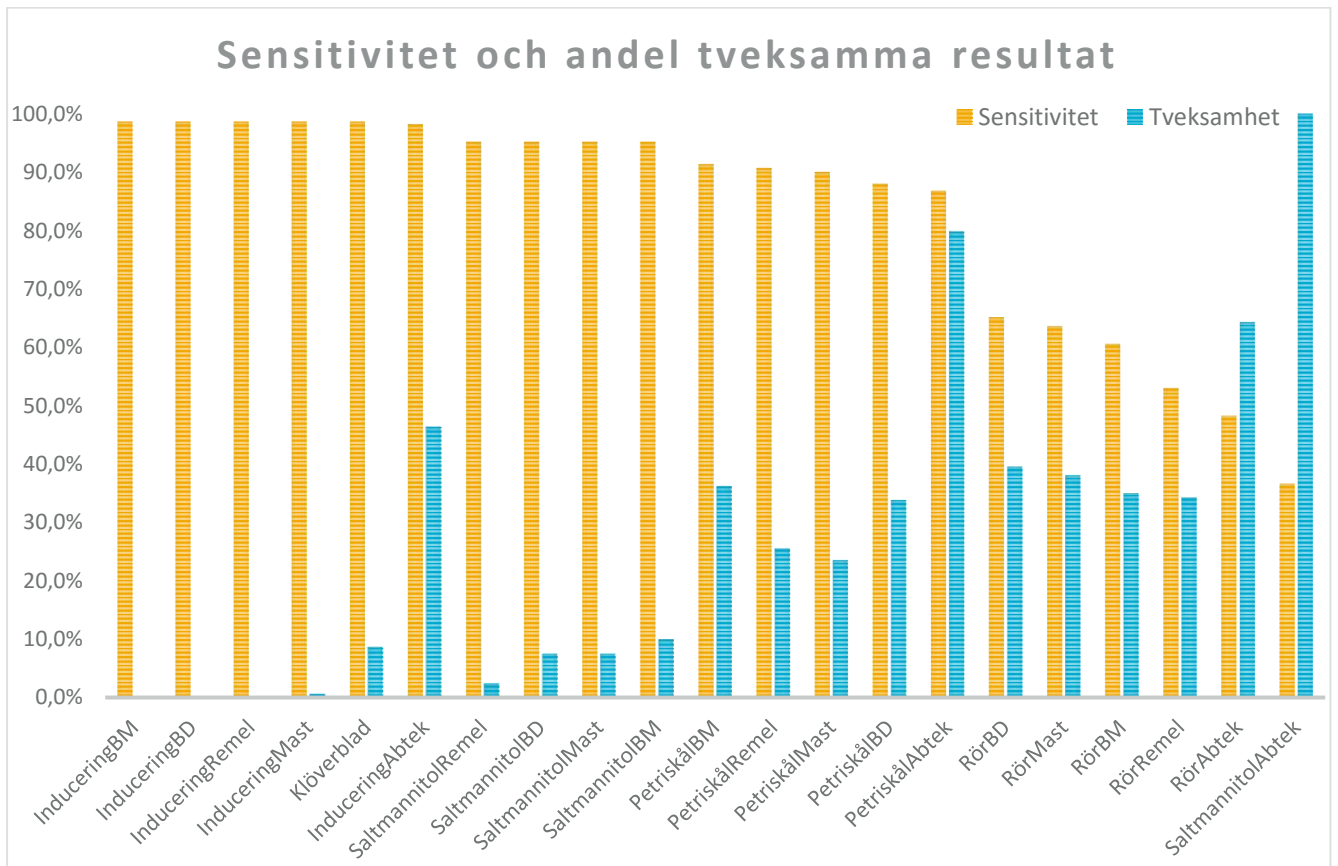
Bäst resultat gav den här metoden, inducering där den testade stammen utsatts för antibiotika innan testning. Bilden visar fem klart positiva lappar från olika tillverkare.

Klart bäst vad gäller känslighet var inducering och klöverbladsmetoden. Bägge testerna tar ett dygn längre och är lite krångligare att genomföra. Näst bäst vad gäller sensitivitet var att utföra testen direkt på SELMA-plattan vilket tyvärr bara fungerar för en del av proverna. Nästan alla tester gav betydligt högre känslighet om testen lästes av efter 60 minuter jämfört med enbart efter 15 minuter.

Nitrocefinslappar från företaget Abtek gav ett klart sämre resultat och var dessutom mera svåravlästa än alla andra lappar. Samma gällde för att utföra testerna i rör, detta gav också en klart sämre känslighet och mer svårtydda tester.

Remel Nitrocefinslappar från Thermo Fisher gav tydligare resultat på saltmannitol än övriga tester och var även tydligare när testet utfördes i petriskål jämfört med Cefinase från Bio Merieux som är den som framförallt används idag.

Sammantaget är andelen falskt positiva tester väldigt liten oavsett metod och varumärke. Känsligheten kan ökas genom att använda rätt sorts lappar och undvika att utföra testen i rör. För att ytterligare öka känsligheten är det viktigt att läsa av nitrocefintesten efter 60 minuter om den är negativ efter 15.



Sensitivitet och andel av de positiva resultaten som var tveksamma för respektive test. BM - Cefinase Discs från Bio Merieux, BD - Cefinase Discs från Becton Dickinson, Mast - Mastdiscs Nitrocefins Discs från Nordic Biolabs, Remel - Remel Nitrocefins Discs från Thermo Fisher och Abtek - Nitrocefins Discs från Abtek Biological.