



Validering av det mikrobiella identifierings- och resistensbestämningssystemet Vitek® 2

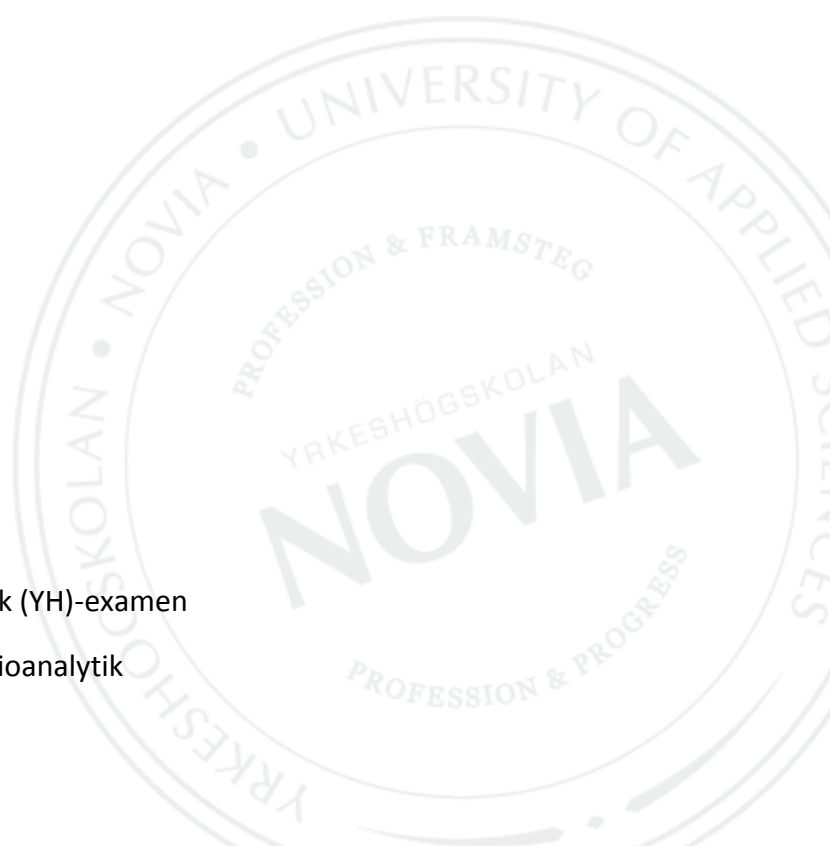
Amanda Kujala

Terese Grans

Examensarbete för Bioanalytik (YH)-examen

Utbildningsprogrammet för Bioanalytik

Vasa 2013



EXAMENSARBETE

Författare: Amanda Kujala & Terese Grans
Utbildningsprogram och ort: Bioanalytik, Vasa
Handledare: Ulla Penttinen & Maaret Suokas

Titel: Validering av det mikrobiella identifierings- och resistensbestämningssystemet Vitek® 2

Datum: 16.12.2013

Sidantal: 80

Bilagor: 13

Sammanfattning

Syftet med detta examensarbete var att validera det mikrobiella identifierings- och resistensbestämningssystemet Vitek® 2 genom att jämföra dess identifiering och resistensbestämning med rutinmetoderna API 20 E™, lappdiffusionsmetod och E-test®. Identifieringen utfördes med kända bakteriestammar från kvalitetskontrollprover och med stammar av *Klebsiella pneumoniae*- och *Klebsiella oxytoca* från patientprov. För resistensbestämning användes Vitek® 2 -systemets resistensbestämningkort AST-P580 och AST-P629, med vilka stafylokocker från både kvalitetskontrollstammar och patientprov undersöktes. Syftet var också att jämföra de två resistensbestämningsskorten med varandra för att undersöka om AST-P629 -kortet kan tas i bruk i stället för AST-P580 -kortet på Nordlabs laboratorium för klinisk mikrobiologi.

Undersökningen utfördes på Nordlabs laboratorium för klinisk mikrobiologi vid Karleby centralsjukhus och genomfördes genom att använda kända bakteriestammar för kvalitetskontroll och tidigare tagna och sparade patientprov. Valideringen visar att Vitek® 2 identifierar 92 % av de undersökta kända kontrollstammarna korrekt. Vid identifiering av *K. pneumoniae* och *K. oxytoca* överensstämmer resultaten från Vitek® 2 och rutinmetoden API 20 E™ till 90 %. Resistensbestämningsskorten från Vitek 2 och rutinmetoderna stämmer överens till 86,7 %. Vid jämförelse av resistensbestämningsskorten AST-P580 och AST-P629 överensstämmer resultaten i 90 % av fallen.

Språk: Svenska

Nyckelord: Vitek® 2, bakterieidentifiering, klebsiella, resistensbestämning, AST-P580, AST-P629

Arkiveras: Yrkeshögskolan Novia

OPINNÄYTETYÖ

Tekijät: Amanda Kujala & Terese Grans

Koulutusohjelma ja paikkakunta: Bioanalytiikka, Vaasa

Ohjaajat: Ulla Penttinen & Maaret Suokas

Nimike: Mikrobiologisen Vitek® 2 -analysaattorin tunnistus- ja herkkyysmäärittysjärjestelmän validointi

Päivämäärä: 16.12.2013

Sivumäärä: 80

Liitteet: 13

Tiivistelmä

Opinnäytetyön tarkoituksena oli validoida mikrobiologisen Vitek® 2 -analysaattorin tunnistus- ja herkkyysmäärittysjärjestelmä, vertaamalla sen määrittämiä käyttämällä rutiinimenetelmiä API 20 E™tä, kiekkomenetelmää ja E-test®iä. Tunnistukset suoritettiin tunnettujen bakteerikantojen laaduntarkkailunäytteistä sekä *Klebsiella pneumoniae* ja *Klebsiella oxytoca* -kantojen avulla potilasnäytteistä. Herkkyysmäärittämissä käytettiin Vitek® 2 -järjestelmän herkkyysmäärittyskortteja AST-P580 ja AST-P629, joilla tutkittiin stafylokokit sekä laaduntarkkailukannoista että potilasnäytteistä. Tarkoituksena oli myös vertailla herkkyysmäärittämissä kortteja keskenään, jotta nähtäisiin, voidaanko AST-P629-kortti ottaa käyttöön AST-P580-kortin tilalle Nordlabin kliinisen mikrobiologian laboratoriossa.

Opinnäytetyö tehtiin Nordlabin kliinisen mikrobiologian laboratoriossa Kokkolan keskussairaalassa ja suoritettiin käyttämällä tunnettuja laaduntarkkailubakteerikantoja sekä aiemmin otettuja ja tallennettuja potilasnäytteitä. Validointi osoittaa että Vitek® 2 tunnistaa 92 % tutkituista tunnetuista kontrollikannoista oikein. *K. pneumoniae*- ja *K. oxytoca* -kantojen tunnistuksessa tuloksille saatiin 90 %:n yhdenmukaisuus Vitek® 2 -analysaattorin ja API 20 E™ rutiinimenetelmän välillä. Herkkyysmäärittämissä tulos Vitek® 2 -analysaattorin ja rutiinimenetelmien välillä täsmäivät 86,7 %:ia tapauksista. Verrattaessa herkkyysmäärittämissä kortteja AST-P580 ja AST-P629 toisiinsa saadaan 90 %:n yhdenmukaisuus.

Kieli: Ruotsi

Avainsanat: Vitek® 2, bakteeritunnistus, klebsiella, herkkyysmäärittäminen, AST-P580, AST-P629

Arkistoidaan: Yrkeshögskolan Novia

BACHELOR'S THESIS

Authors: Amanda Kujala & Terese Grans

Degree Programme in Biomedical Laboratory Science, Vaasa

Supervisors: Ulla Penttinen & Maaret Suokas

Title: Validation of the microbial identification and antimicrobial susceptibility testing system Vitek® 2

Date: 16.12.2013

Number of pages: 80

Appendices: 13

Summary

The purpose of this thesis was to validate the microbial identification and antimicrobial susceptibility testing system Vitek® 2 through comparison between its identification and antimicrobial susceptibility testing and the routine methods API 20 E™, disk diffusion method and E-test®. The identification was performed by using known bacterial strains from quality control specimens and strains of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* from patient specimens. For antimicrobial susceptibility testing with Vitek® 2, the antimicrobial susceptibility testing cards AST-P580 and AST-P629 were used to analyze staphylococci from both quality control strains and patient specimens. Another aim was to compare the two antimicrobial susceptibility testing cards with each other to examine whether the AST-P629 card can replace the AST-P580 card at the Nordlab laboratory for clinical microbiology.

The study was executed at the Nordlab laboratory for clinical microbiology at Kokkola Central Hospital and was carried out by using known bacterial strains used for quality control and earlier collected and stored patient specimens. The validation shows that Vitek® 2 identifies 92 % of the examined known control strains correctly. There is a concordance in the identification of *K. pneumoniae* and *K. oxytoca* strains in 90 % of the cases using Vitek® 2 and the routine method API 20 E™. The results of the antimicrobial susceptibility testing with Vitek® 2 and the routine methods is in concordance in 86,7 % of the cases. In the comparison between the two antimicrobial susceptibility testing cards AST-P580 and AST-P629, the concordance is 90 %.

Language: Swedish

Key words: Vitek® 2, bacterial identification, klebsiella, antimicrobial susceptibility testing, AST-P580, AST-P629

Filed at: Novia University of Applied Sciences

Innehållsförteckning

1 Inledning	1
2 Syfte och frågeställningar	2
3 Teoretisk bakgrund	3
3.1 Preanalytik	4
3.1.1 Provtagning.....	5
3.1.2 Provtransport.....	6
3.2 Bakterier	7
3.2.1 Klassificering och identifiering av bakterier	8
3.2.2 Bakterieuppbyggnad	9
3.2.3 Grampositiva bakterier.....	10
3.2.4 Gramnegativa bakterier	10
3.2.5 Gramfärgning.....	11
3.2.6 Mikrobiota	11
3.2.7 Odling av bakterier	12
3.3 Gramnegativa och grampositiva stavar i undersökningen	13
3.3.1. Klebsiella-arter.....	13
3.3.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14
3.3.3 <i>Acinetobacter baumannii</i>	15
3.3.4 <i>Ochrobactrum anthropi</i>	15
3.3.5 <i>Haemophilus influenzae</i>	15
3.3.6 <i>Eikenella corrodens</i>	16
3.3.7 <i>Neisseria gonorrhoeae</i> och <i>Neisseria lactamica</i>	16
3.3.8 <i>Enterobacter hormaechei</i> och <i>Enterobacter aerogenes</i>	17
3.3.9 <i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	17
3.3.10 <i>Proteus vulgaris</i>	18
3.3.11 <i>Shigella sonnei</i>	18
3.3.12 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	18
3.3.13 <i>Aggregatibacter aphrophilus</i>	19
3.3.14 <i>Oligella urethralis</i>	19
3.3.15 <i>Paenibacillus polymyxa</i>	19

3.4 Grampositiva kocker i undersökningen	20
3.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	20
3.4.2 <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus sciuri</i> , <i>Staphylococcus warneri</i> , <i>Staphylococcus hominis</i> och <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	21
3.4.3 <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus casseliflavus</i> och <i>Enterococcus sacharolyticus</i>	22
3.4.4 <i>Kocuria kristinae</i>	23
3.4.5 <i>Listeria monocytogenes</i>	23
3.4.6 <i>Streptococcus equi</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> och <i>Streptococcus thermophilus</i>	24
3.5 Anaeroba bakterier i undersökningen	25
3.5.1 <i>Bacteroides ovatus</i> , <i>Bacteroides vulgatus</i> och <i>Parabacteroides distasonis</i>	25
3.5.2 <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Clostridium septicum</i> och <i>Clostridium sordellii</i>	26
3.5.3 <i>Corynebacterium striatum</i>	27
3.6 Rutinmetod API® 20 E™ för bakterieidentifiering.....	27
3.7 Bakterieläkemedel och resistens.....	28
3.8 Resistensbestämning av bakterier.....	30
3.9 Rutinmetoderna lappdiffusionsmetod och E-test® för resistensbestämning	31
3.9.1 Drejning	32
3.9.2 Lappstämpling eller E-test®	32
3.9.3 Inkubation.....	32
3.9.4 Avläsning av resultat.....	33
3.10 Det mikrobiella identifierings- och resistensbestämningssystemet Vitek® 2.....	35
3.10.1 Bakterieidentifiering med Vitek® 2	36
3.10.2 Resistensbestämning med Vitek® 2	40
3.10.3 Kvalitetsaspekter	44

4 Tidigare forskning om Vitek® 2	45
5 Undersökningens genomförande och metoder	47
5.1 Undersökningens praktiska genomförande.....	49
5.1.1 Förberedelse av bakteriesuspension.....	52
5.1.2 Inokulation.....	54
5.2 Behandling av resultat	57
6 Resultat och tolkning	58
6.1 Identifiering av kända kontrollstammar med Vitek® 2	58
6.2 Identifiering av <i>Klebsiella pneumoniae</i> och <i>Klebsiella oxytoca</i> med Vitek® 2.....	60
6.3 Resistensbestämning med Vitek® 2.....	62
7 Diskussion och kritisk granskning.....	66
Referenser	70
Bilagor	

Förkortningar

FOX Sc.	Cefoxitin Screen
PEN	Benzylpenicillin
OX	Oxacillin
CN	Gentamicin
TOB	Tobramycin
CIP	Ciprofloxacin
LEV	Levofloxacin
MXF	Moxifloxacin
ICR	Inducible Clindamycin Resistance
E	Erythromycin
DA	Clindamycin
LZT	Linezolid
TEC	Teicoplanin
VAN	Vancomycin
TE	Tetracycline
TGC	Tigecycline
FOS	Fosfomycin
FD	Fusidic Acid
RD	Rifampicin
SXT	Trimethoprim/Sulfamethoxazole
CLX	Cefalexin
FOX	Cefoxitin
CXM	Cefuroxime
MEM	Meropenem
TZP	Piperacillin/Tazobactam

LDC	Lysine
ODC	Ornithine
CIT	Citrate
H ₂ S	Hydrogen sulfide
UREA	Urea
D-GLUK	D-glucose
MAN	Mannitol
SOR	Sorbitol
SAC	Sucrose

1 Inledning

Examensarbetet handlar om validering av analysatorn Vitek® 2 som är ett mikrobiellt identifierings- och resistensbestämningssystem utvecklat av företaget BioMérieux. Examensarbetets praktiska del utfördes vid Karleby centralsjukhus som hör till Mellersta Österbottens Samkommun för Specialsjukvård och Grundsservice (KIURU). Centralsjukhusets kliniska mikrobiologilaboratorium Nordlab använder redan till stor del det mikrobiella identifierings- och resistensbestämningssystemet.

Den vanligaste orsaken till besök på hälsovårdscentral i Finland är infektioner. Uppskattningsvis får i genomsnitt var tjugonde patient en sjukhusinfektion vid vård på en avdelning. Sjukhusinfektioner förlänger vårdperioden med ungefär en vecka, och upp till 800 patienter avlider årligen på grund av dessa. Bakterieläkemedel används väldigt brett både i öppenvården och på sjukhus. De används dessvärre ofta i onödan, vilket leder till ökad läkemedelsresistens. (Koskinen & Turunen 2012, s. 383-388). En redogörelse från år 2010 visar att det i Finland används 18,5 dygnsdoser bakterieläkemedel per 1000 invånare per dag (European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) 2013, s. 11).

Bakteriologiska laboratorieundersökningar är en väsentlig del vid diagnostisering av sjukdomar hos patienten. Genom laboratorieundersökningar kan det klargöras ifall det är frågan om en infektionssjukdom och hur den mest effektivt kan vårdas. (Carlson & Koskela 2011, s. 37). Bakterieläkemedelsresistensen som bakterierna utvecklar skapar utmaningar i vårdandet av patienter (Järvinen, Vaara, Huovinen, Liippo & Vasankari 2011, s. 122). Nya bakterieläkemedel utvecklas kontinuerligt men bakteriernas evolution är snabb (Vaara 2009, s. 2001).

I Skandinavien sker isolering samt identifikation och resistensbestämningar av patogena bakterier på kliniskt mikrobiologiska laboratorium till största delen manuellt (Rantakokko-Jalava, Elo-Lehtonen & Meurman 2006, s. 43). På andra områden inom klinisk laborieverksamhet har automatiken framskridit mycket längre. Denna utveckling kan bero på att bakteriediagnostik är svårare att automatisera på grund av bakteriernas individuella egenskaper och tillväxtförhållanden. Bakteriologisk diagnostik grundar sig även till stor del på reaktioner producerade av levande organismer samt

upptäckt av bakterieläkemedelseffekter i bakterietillväxten, där bakterien måste isoleras levande. (Järveläinen, Roslund & Silander 2006, s. 7).

Inom den mikrobiologiska undersökningsprocessen har behovet av automatisering blivit större eftersom provmängden har ökat och likaså behovet av snabba resultat (Rantakokko-Jalava, m.fl. 2006, s. 43). Nutida mikrobiologiska undersökningsmetoder kräver oftast bakterietillväxt under natten. Med hjälp av automatisering av diagnostik skulle resultaten fås snabbare och arbetets kvalitet bli stabilare eftersom manuellt utförda arbetskedan skulle minska. Den bakteriologiska undersökningsprocessen har ännu inte helt automatiserats, även om undersökningsmetoderna som automatiken bygger på har utvecklats. Bakterien måste dock precis som förr först odlas som renodling manuellt. (Järveläinen, Roslund & Silander 2006, s. 7).

I Finland används Vitek[®] 2 -analysatorn av laboratorier i Lahtis, Björneborg, Rovaniemi, Jyväskylä, Helsingfors, Joensuu, Åbo, Villmanstrand, Seinäjoki, S:t Mickel och Uleåborg (Timoharju 2011, s. 4). Vitek[®] 2 -systemet och de tillhörande reagenskorten har sitt ursprung i NASA:s rymdprogram för att identifiera infektioner hos astronauter. Denna innovation har lett till dagens Vitek[®] 2 -teknologi. (BioMérieux 2009).

Examensarbetet är beställt av sjukhusmikrobiologen Maaret Suokas vid laboratoriet Nordlab i Karleby.

2 Syfte och frågeställningar

Syftet med examensarbetet är att validera Vitek[®] 2 -analysatorn genom att undersöka dess förmåga att identifiera kända kontrollstammar. Bakterier som undersöks är gramnegativa och grampositiva stavar, grampositiva kocker och anaeroba bakterier. Specifikt undersöks bakteriearterna *Klebsiella pneumoniae* och *Klebsiella oxytoca*, då dessa har orsakat problem vid identifiering vid Nordlab. Laboratoriet vill även kunna utföra resistensbestämningar med Vitek[®] 2 för att bestämma vilka bakterieläkemedel som kan användas vid behandling av patienter. I examensarbetet jämförs två resistensbestämningkort för stafylokokker; ett som redan är i användning på laboratoriet och ett nytt som eventuellt kommer att tas i bruk. Jämförelsen visar om det nya resistensbestämningkortet AST-P629 ger tillförlitliga resultat och kan tas i bruk i stället

för det gamla resistensbestämningskortet AST-P580. Dessutom jämförs Vitek® 2 -analysatorn med rutinmetoder.

Examensarbetets frågeställningar är följande: Hur pålitlig är analysatorn Vitek® 2 vid identifiering av bakterier från kända kontrollstammar? Hur bra överensstämmer Vitek® 2 -analysatorns identifiering av bakteriearterna *Klebsiella pneumoniae* och *Klebsiella oxytoca* jämfört med rutinmetoden API 20 E™? Kan analysatorn Vitek® 2 utföra resistens-bestämning pålitligt i jämförelse med rutinmetoder? Hur stor är överensstämmelsen vid resistensbestämning med det gamla resistensbestämningskortet AST-P580 och med det nya resistensbestämningskortet AST-P629? Kan det nya Vitek® 2 -resistens-bestämningskortet tas i bruk istället för det gamla resistensbestämningskortet?

3 Teoretisk bakgrund

Den kliniska laboratorieundersökningsprocessen delas in i den preanalytiska, analytiska och postanalytiska fasen. I den preanalytiska fasen ingår bland annat handledning av patienten, provtagning, transport och förvaring av patientprov. Den analytiska fasen behandlar korrekt analys av provet och den postanalytiska fasen handlar om värdering av resultat och utgivning av analysvar. Laboratorieprocessens mål är att ge tillförlitliga analysvar och att hålla hög kvalitet genom alla skeden. (Antus 2012).

Denna undersökning omfattar hela laboratorieundersökningsprocessen, men fokuserar mest på det analytiska skedet. Detta kapitel ger en bakgrund till ämnet genom beskrivning av bakterier, deras uppbyggnad och funktion. En del av det preanalytiska skedet beskrivs i kapitel 3.1 *Preanalytik* och det analytiska skedet beskrivs i kapitel 3.10 *Det mikrobiella identifierings- och resistensbestämningssystemet Vitek® 2*.

3.1 Preanalytik

Laboratorieundersökningsprocessen indelas traditionellt i tre skeden: preanalytiskt, analytiskt och postanalytiskt skede. Det preanalytiska skedet kan vidare indelas i pre-preanalytiskt skede och traditionellt preanalytiskt skede. Pre-preanalytiska skedet sker utanför laboratoriet och innefattar val av lämpliga undersökningar på basen av diagnos, remiss, provtagning, förvaring, transport och förbehandling av prov innan analys. Det traditionella preanalytiska skedet sker i laboratoriet och innefattar den process som krävs för att göra provet lämpligt för analys. Till processen hör till exempel centrifugering, avskiljning, utspädning och sortering av prover innan de förs in i analysatorer. Det preanalytiska skedet verkar vara mer sårbart för fel än de andra skedena. Pre-preanalytiska och preanalytiska skedet står för 49-73,5 % av alla fel som uppstår i laboratorieundersökningsprocessen. (Da Rin 2010, s. 315-316).

Till preanalytik hör många olika skeden. Dessa skeden är bland annat bestämning av behov av laboratorieundersökning, ifyllande av remiss, patientanvisningar inför provtagning eller patientundersökning, patientförberedelser, lämplig analysomgivning, förberedelse av analysatorer, provtagning, provhantering, provförvaring och provtransport, mottagning av prov i undersökningslaboratorium, provdokumentering samt bedömning av hur representativt provet är. (Matikainen, Miettinen & Wasström 2010, s. 12).

Användning av prov för bakteriologisk analys kräver att de specifika kliniska material som tas stabiliseras och transporteras i enlighet med givna instruktioner för att säkerställa tillförlitliga resultat. Dålig provkvalitet bidrar till feldiagnostisering och onödig eller fel bakterieläkemedelsbehandling. Kommunikation mellan laboratoriepersonal och läkare är nödvändig för ett korrekt val av bakteriologiska undersökningar och tolkning av resultat. Laboratoriepersonalen är ansvarig för övervakning och utbildning av den personal som sköter provtagning och provtransport. (Thomson 2007, s. 291).

3.1.1 Provtagning

Prov för bakteriologiska odlingar bör tas så fort som möjligt efter sjukdomens början och före ibruktagande av bakterieläkemedelsbehandling. Ett andra prov kan behövas på grund av dålig provkvalitet eller bristfälliga transportförhållanden som påverkar det första provet, men behövs annars sällan för diagnostisering av en infektionssjukdom. Material för bakteriologiska undersökningar bör tas från ett representativt provtagningsställe där infektion påträffas. Provtagningsställen med inflammation och utan kontaminerande bakterier från mikrobiota är optimala. Exempel på mikrobiota som lätt kan kontaminera provtagningsställen är urinrörsmikrobiota som kontaminerar urin, hudmikrobiota som kontaminerar venpunktionsblod och mikrobiota i nässvalg som kontaminerar bihåleprov. Laborariepersonalen är ansvarig för övervakning och utbildning av den personal som utför provtagning. (Thomson 2007, s. 291).

Vid provtagning bör kontamination med mikrobiota undvikas eftersom läkare eller vårdpersonal kan misstolka bakterietillväxt av mikrobiota för infektion. Dessutom kan mikrobiota täcka det egentliga bakteriefyndet vilket gör det svårt att upptäcka. Tillräcklig materialmängd bör tas för att möjliggöra alla undersökningar som begärts. Otillräcklig mängd material kan ge falskt negativa resultat. Prov bör märkas med patientens personuppgifter, provtagningsställe, datum och klockslag för provtagning och provtagarens initialer. Rätt provtagningsmaterial som är tillverkat för att stöda överlevnad av patogena bakterier, eliminera läckage av provmaterial och möjliggöra säker provhantering under transport och analysering bör användas. (Thomson 2007, s. 291).

Ytdesinficering följt av aspiration och vävnadsbiopsi är lämpliga provtagningsmetoder när anaeroba bakterier misstänks. Provtagning med bomullssticka rekommenderas inte på grund av liten provmängd och svårigheter med att få anaeroba bakterier på bomullsstickan. Dessutom är bomullsstickorna i aerob miljö och bomullsstickan kan kontamineras med mikrobiota. Ifall prov för anaerob odling inte är packade i en totalt anaerob förpackning, bör de förvaras i rumstemperatur. Kylskåpstemperatur rekommenderas inte, eftersom syre lättare diffunderar in i kalla prov. Prov för bakterieodling bör inte förvaras över 24 timmar, även om det är taget i ett lämpligt transportmedium eller förvaras i kylskåpstemperatur (Thomson 2007, s. 291-303).

3.1.2 Provtransport

Prov för bakterieodling bör genast transporteras till laboratoriet. Onödig försening eller utsättning för extrema temperaturer äventyrar resultaten och måste undvikas. (Thomson 2007, s. 291). Om transporten tar mer än två timmar, behövs speciella transportmedium eller kylskåpstemperatur. Optimala transporttider för kliniska prov för bakterieodling beror på mängden material som tagits. Små volymer vätska (<1 ml) eller vävnader (<1 cm³) bör transporteras inom 15-30 minuter för att undvika avdunstning, uttorkning och utsättning för omgivningens miljöförhållanden. (Thomson 2007, s. 303).

Bakterier som är speciellt känsliga för omgivningens miljöförhållanden är *Shigella spp.*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* och anaeroba bakterier. Pålitlig identifiering av dessa bakterier kräver omedelbar analysering. Förseningar upp till sex timmar resulterar i minimal förlust av organismantal vid användning av transportmedium. Längre förseningar, även vid användning av transportmedium, resulterar i märkbar minskning i organismantal. Nedkylning förbättrar återhämtningen av bakterier vid förseningar över sex timmar. Prov som innehåller anaeroba bakterier bör ändå förvaras i anaerob miljö. (Thomson 2007, s. 303).

Transport av kliniska prov och infektionssubstanser från ett laboratorium till ett annat, oberoende av distans, kräver strikt uppmärksamhet för packning av prov och märkningsinstruktioner. Material för transport måste märkas ordentligt, paketeras och skyddas under transport. Vissa bakterier orsakar infektioner som sällan påträffas och kräver därför speciella transportförhållanden eller transportmedium. (Thomson 2007, s. 303).

3.2 Bakterier

Bakterier finns överallt och deras viktigaste uppgift är att bryta ner organiska ämnen i naturen. Endast några hundra bakterier är humanpatogena av alla de flera tusen som existerar. (Ericson & Ericson 2009, s. 21).

Bakterier är prokaryota encelliga organismer som varierar i storlek, men de kliniskt betydelsefulla bakterierna är i genomsnitt 1-5 mikrometer i diameter (Hirvonen 2013). På grund av deras storlek krävs mikroskopering för att de skall kunna granskas. När bakterier odlas på näringsmedier, skapar de kolonier som är synliga för ögat. Varje koloni består av hundra till tusen miljoner bakterieceller. (Vaara, Skurnik & Sarvas 2010, s. 14).

Bakterier kan ha aerob (med syre) eller anaerob (utan syre) metabolism. Den metabola aktiviteten hos bakterierna är ytterst varierande och påverkar bland annat bakteriens förökningsförmåga. Proteinsyntesen sker i bakteriens cytoplasma, där även den största delen av cellens ämnesomsättningsreaktioner sker. (Hirvonen 2013). Patogena bakterier förökar sig oftast bäst i temperaturer som liknar den vävnad eller det organ i människan där bakterier finns (ca 37°C). De flesta kliniskt relevanta bakterierna föredrar ett nästan neutralt pH på 6,5–7,5. Vattenavdunstning från näringsmedium kan vara skadligt för bakterietillväxten. (Forbes, Sahm & Weissfeld 2007, s. 101-102). Bakterierna förökar sig könlöst genom att dela sig. Vissa bakterier klarar av att bilda endosporer, så kallade överlevnadsformer, med vilka cellen överlever omgivningens förhållanden när dessa försämras. (Hirvonen 2013).

3.2.1 Klassificering och identifiering av bakterier

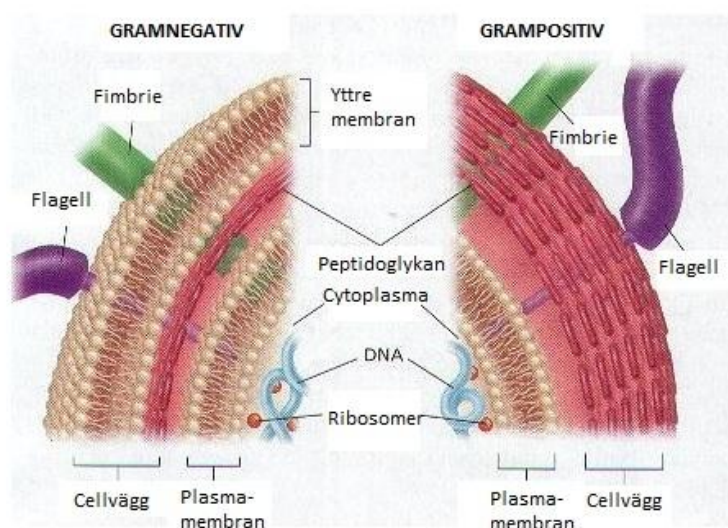
Taxonomi indelas traditionellt i klassificering, nomenklatur och identifiering (Vandamme 2007, s. 275). Taxonomi, alltså klassificering av bakterier, kan kategoriseras i art, släkte, familj, ordning och klass. Art är den viktigaste enheten inom mikrobiologi och beskriver en grupp stammar som är genetiskt nära besläktade. En stam är en population av genetiskt identiska organismer som alla härstammar från samma "modercell". (Lassen & Degré 2011, s. 29). För att klassificera bakterier kan i princip all genotypisk, fenotypisk och fylogenetisk information användas. Genotypisk information härstammar från nukleinsyror (DNA/RNA) som finns i cellen, medan fenotypisk information härstammar från proteiner och deras funktioner, olika kemotaxonomiska markörer och ett brett urval av andra uttryckta egenskaper. (Vandamme 2007, s. 278). Fylogenetik är indelning enligt släktskap och baserar sig på nukleinsyrasekvenserna i genomen samt aminosyra-sekvenserna i proteinerna (Carlson & Linder 2012, s. 125), vilket uttrycker i vilken grad bakterierna har en gemensam evolution. Bakterienamn består av två delar, varav det första betyder släkte och det andra art. (Lassen & Degré 2011, s. 29).

Identifikation är den process där en organism igenkänns och tillhör en känd taxon (Vandamme 2007, s. 282). Bakterieidentifiering bör ske genom identifiering av arvs massa, men detta används inte ännu i rutinbruk. Därför sker identifiering av släkter och arter genom traditionella kriterier såsom utseende, gramfärgning, tillväxtkrav, biokemisk aktivitet, serologi och liknande metoder. (Lassen & Degré 2011, s. 29). Identifiering av bakterier bygger på en jämförelse mellan okända karaktärer och de etablerade enheterna för att kunna namnge bakterier rätt. The International Code of Nomenclature of Bacteria inkluderar regler för namngivning av bakterier i olika taxonomiska ranger. Syftet med nomenklatur är att garantera att en organism är märkt med ett unikt namn som ger värdefull information. (Vandamme 2007, s. 282-284).

3.2.2 Bakterieuppbyggnad

Bakterier består av DNA som är packat inne i cellen till en nukleoid, ribosomer, cytoplasma och cellmembran (Vaara, m.fl. 2010, s. 15-21). De flesta bakterier har en cellvägg utanför cellmembranen som består av peptidoglykan. Många bakterier har ett yttersta lager som består av en polysackaridkapsel. I många bakterier finns även extrakromosomalt DNA, plasmider. (Hirvonen 2013). De flesta bakterier har fimbrier och vissa har flageller, som möjliggör rörelse och vidfästning (Vaara, m.fl. 2010, s. 30-32).

Bakterier kan indelas enligt skillnader i cellväggens uppbyggnad i gramnegativa och grampositiva bakterier (se figur 1). Dessa skillnader i cellväggen fås fram genom gramfärgning. Det finns även bakterier som helt saknar cellvägg, till exempel mykoplasma. Bakterier kan även skiljas åt enligt form, exempelvis i stavar och kocker. (Hirvonen 2013).



Figur 1. Skillnader i uppbyggnad hos gramnegativa och grampositiva bakterier. (modifierad figur från MicrobeWiki u.å.).

3.2.3 Grampositiva bakterier

Cellväggen hos grampositiva bakterier består av ett tjockt lager peptidoglykan. Teikonsyror är typiska för grampositiva bakterier och de binder katjoner, som troligtvis sköter om jonbalansen i cellens mikromiljö. Många grampositiva bakterier har oftast polysackarid-strukturliknande polymerer på utsidan av peptidoglykanlagret. Dessa bakterier kan även ha ett yttre proteinlager. (Vaara, m.fl. 2010, s. 25-26). Cellväggen består av upp till 90 % peptidoglykan (Lassen & Degré 2011, s. 30).

3.2.4 Gramnegativa bakterier

Cellväggen hos gramnegativa bakterier består av ett tunnare peptidoglykanlager än hos grampositiva bakterier. Gramnegativa bakterier har en plasmamembran och dessutom en yttre membran som är uppbyggd som en lipiddubbelmembran på utsidan av cellväggen. I yttre membranen finns specifika transportmolekyler som garanterar tillgång av järn samt B12-vitamin och i yttre membranens inre del finns fosfolipider och proteiner. Den yttre membranen består också av lipopolysackarider (LPS), som kallas endotoxiner. LPS är en av den gramnegativa bakteriens viktigaste antigenstruktur och den är en del av bakteriens skyddsskal. Mellan plasmamembranen och den yttre membranen finns även ett utrymme som kallas periplasmiskt utrymme, där det finns många periplasmiska proteiner. Hos alla gramnegativa bakterier finns även rikligt med olika proteiner i yttre membranen. (Vaara, m.fl. 2010, s. 25-29). Cellväggen består av upp till 10 % peptidoglykan (Lassen & Degré 2011, s. 30).

De bakterier som hör till HACEK-gruppen är taxonomiskt sett olika, men gemensamma egenskaper gör att de hör till samma grupp. De är gramnegativa stavar som är fakultativt anaeroba, vilket gör att de kan leva både aerobt och anaerobt. Till HACEK-gruppen hör *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus aphrophilus*, *Actinobacillus actinomycetem-comitans*, *Cardiobacterium*, *Eikenella* och *Kingella spp.* (von Graevenitz, m.fl. 2007, s. 621).

3.2.5 Gramfärgning

Den analys som ofta används inom mikrobiologi för att karakterisera en okänd bakterie är gramfärgning följt av ljusmikroskopi, vilket upptäcktes redan år 1884. Analysen ger information om uppbyggnad av cellvägg, bakterieform och om bakterien lever ensam eller tillsammans i rader eller klungor. Vid färgningen fixeras bakterierna på ett objektglas och färgas med kristallviolett och jod-jodkalium, varefter de avfärgas snabbt med alkohol eller aceton och färgas slutligen med saffranin. För gramfärgning bör en färsk cellkultur användas, eftersom grampositiva bakterier annars kan avfärgas och uppträda som falskt gramnegativa. (Carlson & Linder 2012, s. 35). Gramfärgningsprocessen separerar nästan alla kliniskt betydelsefulla bakterier till två huvudtyper (Forbes, m.fl. 2007, s. 22). Grampositiva bakterier har cellväggar med tjocka lager peptidoglykan och färgas därmed blålila. Gramnegativa bakterier har cellväggar med tunna lager peptidoglykan och högt lipidinnehåll. De färgas därmed ljusröda. (Smith & Hussey 2005).

3.2.6 Mikrobiota

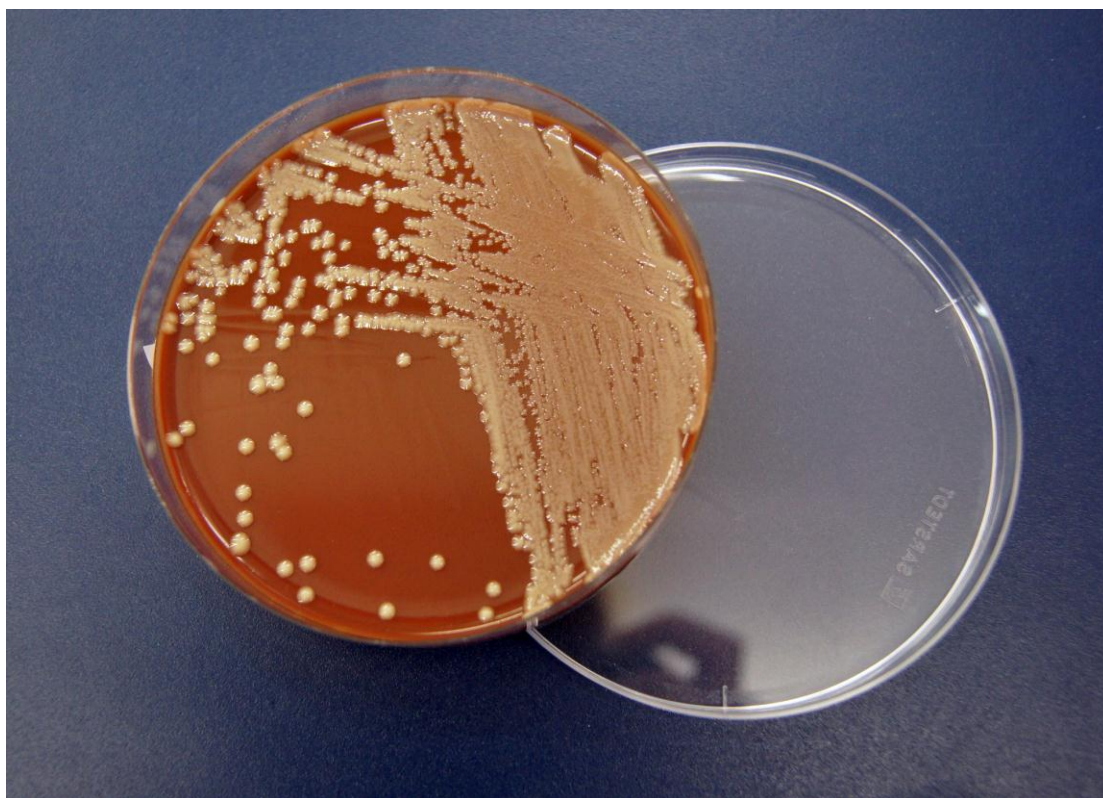
Människan är i konstant interaktion med bakterier i omgivningen. Nyttiga och ofarliga bakterier som lever på hud och slemhinnor kallas mikrobiota eller normalflora. Endast en liten del av de bakterier som finns är patogena och övriga bakterier hör till mikrobiotan. Mikrobiotan börjar bildas genast efter födseln och består huvudsakligen av bakterier, men även av jäst och urdjur. Mikrobiotans bakterier är viktiga för människan eftersom de skyddar mot patogena bakterier och svampar. Tarmens mikrobiota producerar också viktiga vitaminer. Mikrobiotan kan delas in i fyra huvudgrupper, vilka är munnens och övre luftvägarnas mikrobiota, matsmältningskanalens mikrobiota, hudens mikrobiota och genitalområdets mikrobiota. (Hirvonen 2013).

3.2.7 Odling av bakterier

I mikrobiologiska laboratorium används näringsmedium som innehåller olika näringsämnen. På eller i dessa näringsmedium odlas bakterier för att växa. Om näringsmediumet är lämpligt för bakteriernas tillväxtbehov, börjar bakterierna föröka sig i så pass stora mängder att de blir synliga för ögat. Många näringsmedium har utvecklats eftersom patogena bakterier har olika näringsbehov. Näringsmedium kan användas på två sätt, i vätskeform (buljong) eller fast form (agar). (Forbes, m.fl. 2007, s. 93).

Bakterieodlingsprocessen involverar användning av optimala näringsmedium och inkubationsförhållanden för att isolera och identifiera bakterieetiologin av en infektion så fort och korrekt som möjligt (Forbes, m.fl. 2007, s. 103).

Odling av bakterier från infektioner på olika ställen i kroppen görs genom att inokulera prov direkt på näringsmedium (Forbes, m.fl. 2007, s. 103). Vid bakterieodling sprids provinokulatet över agarytan enligt ett standardiserat mönster (se figur 2) så att individuella bakteriekolonier bildas och vidareundersökningar kan göras (Forbes, m.fl. 2007, s. 103).



Figur 2. Rätt spridningsteknik av provinokulatet vid bakterieodling.

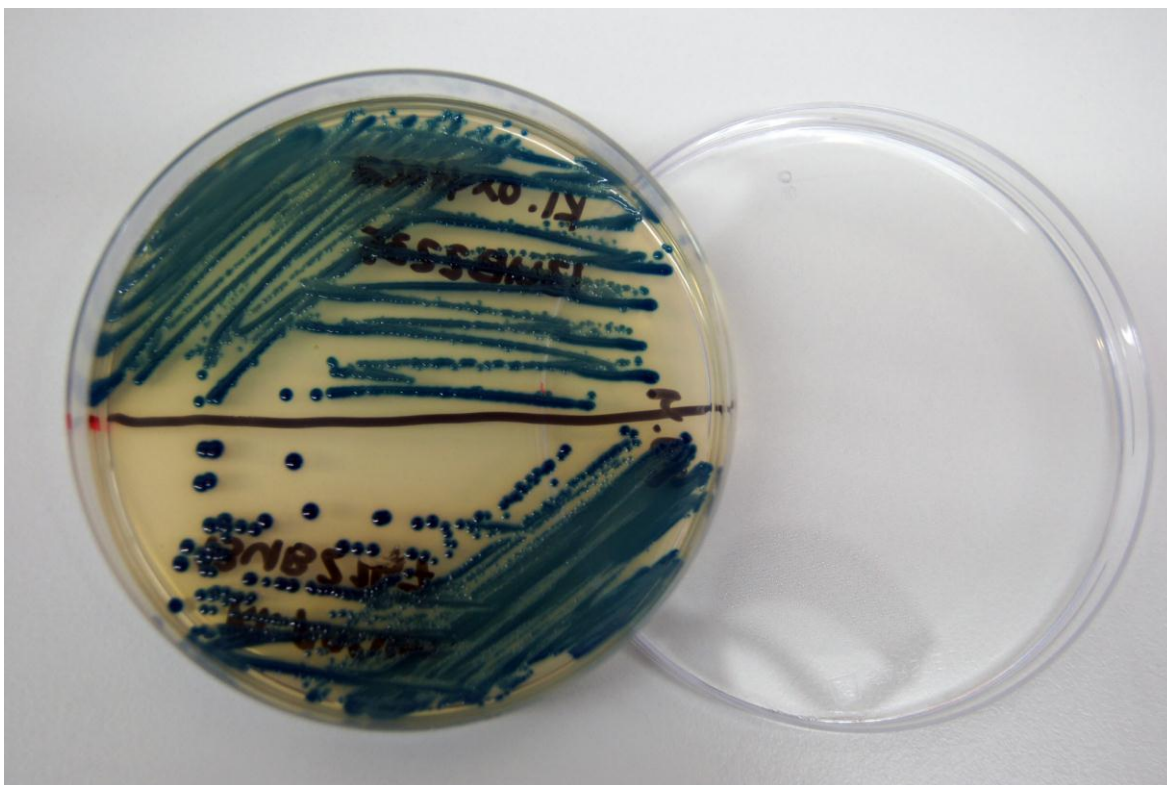
3.3 Gramnegativa och grampositiva stavar i undersökningen

I detta kapitel beskrivs de gramnegativa och grampositiva stavar som undersökts i examensarbetets praktiska del.

3.3.1. Klebsiella-arter

Klebsiella är ett släkte som hör till familjen Enterobacteriaceae. Enterobakterier är bakterier som trivs i tarmen och hör till dess mikrobiota, men utanför tarmen kan de orsaka infektion. Enterobakterierna är lågvirulenta och kan fästa sig med fimbrier till slemhinnor. (Ericson & Ericson 2009, s. 41-42).

Klebsiella-arter är gramnegativa, orörliga stavar som är fermentativa, vilket betyder att de kräver specifika tillväxtförhållanden. Klebsiella-arter förekommer ofta vid lunginflammation, urinvägsinfektion och kirurgiska sårinfektioner. Bakterierna har en utmärkt förmåga att bilda en polysackaridkapsel som kan ses som slemmiga kolonier på näringsmedium. På grund av polysackaridkapseln kan klebsiella-arterna klassificeras i K-antigentyper, som har betydelse för bakteriens virulens. Klebsiella-arterna är naturligt resistenta mot ampicilliner eftersom de producerar betalaktamas, men är vanligtvis känsliga för bland annat kombination av amoxicillin och klavulansyra, andra och tredje generationens cefalosporiner, aminoglykosider, fluorokinoloner och karbapenemer. (Tissari & Anttila 2010a, s. 196-197). Vissa klebsiellastammar har dock nyligen utvecklat resistens mot bakterieläkemedel av typen karbapenemer (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2010). I laboratoriet kan det vara utmanande att identifiera stammar som producerar karbapenemas med klassiska metoder och de kräver säkerställning med molekylärbiologiska metoder. (Tissari & Anttila 2010a, s. 196-197). Klebsiella-arter är de vanligaste ESBL-bildarna (Richter & Ferraro 2007, s. 250). De vanligaste arterna inom släktet är *Klebsiella pneumoniae* och *Klebsiella oxytoca* (se figur 3).



Figur 3. *Klebsiella oxytoca* (övre delen av skålen) och *Klebsiella pneumoniae* (nedre delen av skålen) på CHROMagar™-skål.

3.3.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa är en aerob, rörlig och smal gramnegativ stav som är nonfermativ, det vill säga att den inte kräver mycket för att växa. Bakterien kan använda många olika organiska föreningar för att växa, men trivs i fuktiga förhållanden. Bakterien koloniserar ofta perineum, armhålor och öron hos människan. *P. aeruginosa* är en opportunistbakterie vilket innebär att den trots sina virulenta egenskaper inte kan orsaka infektion hos friska människor. Bakterien är naturligt resistent mot många bakterie-läkemedel. (Tissari & Anttila 2010b, s. 200-202). Dess kolonier är oftast platta med en sågtandad kant och metallglans. Det finns även andra typer av kolonier som kan vara släta, slemmiga och förkrympta. (Blondel-Hill, Henry & Speert 2007, s. 737).

3.3.3 *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii är en orörlig, gramnegativ, nonfermentativ stav som är vanligt förekommande i naturen men hör även till människans hud- och tarmmikrobiota. Acinetobakterieinfektion kan hittas i luftvägar, urinvägar, centrala nervsystemet och kan i vissa fall orsaka bakteremi. *A. baumannii*, som är den vanligaste akinetobakterien vid svåra infektioner, är ytterst resistent. (Tissari & Anttila 2010b, s. 204-205). *A. baumannii* är en opportunistbakterie och dess kolonier är ofta släta och ogenomskinliga (Schreckenberger, Daneshvar & Hollis 2007, s. 771).

3.3.4 *Ochrobactrum anthropi*

Ochrobactrum anthropi är en rörlig, nonfermentativ gramnegativ stav (Kettaneh, m.fl. 2003, s. 1340). *O. anthropi* är en naturbakterie som trivs speciellt i vatten och orsakar främst infektioner i närheten av främmande föremål. Bakterien är resistent mot cefalosporiner. (Tissari & Anttila 2003, s. 202). Bakterien förekommer som medellånga stavar med flageller och dess kolonier är runda, lite utstående, släta, skinande och hela. Oftast är bakterien resistent mot betalaktamer. (Schreckenberger, Daneshvar & Hollis 2007, s. 784). *O. anthropi* är en opportunistisk människopatogen (Lindquist, Chu & Probert 2007, s. 824).

3.3.5 *Haemophilus influenzae*

Haemophilus influenzae är en gramnegativ stav som är mångfaldig till formen. Bakterien är i huvudsak patogen för människan, men hör också till övre luftvägarnas mikrobiota. Bakterien kan vara med eller utan kapsel. Bakterier med kapsel kan tränga sig in i kroppen och orsaka betydligt farligare sjukdomar än bakterier utan kapsel, som för det mesta orsakar lokala infektioner, såsom infektion i mellanörat. De vanligaste allvarliga sjukdomarna är hjärnhinneinflammation, struplocksinfektion och lunginflammation. I Finland är *H. influenzae* inte särskilt resistent. (Käyhty & Peltola 2010, s. 166-168). Haemophilusarter är nonhemolytiska på blodagar, vilket betyder att de inte löser upp

erythrocyterna i näringsmediumet. På chokladagar är kolonierna gråaktiga, halvt ogenomskinliga, släta och en aning utåtstående (Kilian 2007, s. 641).

3.3.6 *Eikenella corrodens*

Eikenella corrodens är en liten, orörlig, fakultativt anaerob (von Graevenitz, Zbinden & Mutters 2007, s. 625), rak, fermentativ, gramnegativ stav som hör till övre luftvägarnas mikrobiota. Typiska infektioner är infekterade människobett samt abscesser i huvud- och halsområdet. *E. corrodens* kan även vara delaktig vid gynekologiska infektioner. I rena eikenellainfektioner kan sjukdomens framskridande vara långsamt. Bakterien är känslig för många bakterieläkemedel. På näringsmedium ser bakteriekolonin ut att borra sig in i agarn. (Vuento 2010, s. 207-208). Kolonierna har en tydlig mittpunkt och en lägre tillväxt runtom. Efter några dygns inkubation blir kolonierna gulaktiga (von Graevenitz, Zbinden & Mutters 2007, s. 625).

3.3.7 *Neisseria gonorrhoeae* och *Neisseria lactamica*

De flesta neisseria-arterna finns normalt i människans övre luftvägar och ses inte som patogena. *Neisseria gonorrhoeae* anses dock alltid vara patogen oberoende var den finns. (Janda & Gaydos 2007, s. 602). Neisseriasläktet är fakultativt aeroba, orörliga, gramnegativa kocker som aldrig förekommer i kedjor men kan uppträda som diplokokker i en typisk kaffebönsform (Lassen & Blystad 2011b, s. 204).

N. gonorrhoeae är en gonokock som orsakar gonorréinfektion. Den infekterar huvudsakligen könsorganens slemhinnor, ibland även ändtarmens, svalgets och ögats slemhinnor. *N. gonorrhoeae* kan inte skiljas från andra *Neisseria*-arter med gramfärgning. Gonokocken är ytterst känslig för yttre faktorer såsom uttorkning och sänkt temperatur. Gonokocken blir allt mer resistent. (Vuento & Seppälä 2010, s. 156-158). Kolonierna är ofta små, glittrande och utåtstående (Janda & Gaydos 2007, s. 607).

Neisseria lactamica kan ibland orsaka invasiva infektioner och kan växa på selektiv gonokockskål som innehåller bakterieläkemedel (Vuento 2010, s. 208). Bakterien hör till svalgets mikrobiota (Käyhty & Peltola 2010, s. 161). Kolonierna är lite utåtstående och har en slät-fuktig hel kant, glittrande yta, beige-gråbrun färg, är genomskinliga och kan vara slemmiga. *N. lactamica* isoleras mer från barn än från vuxna. (Janda & Gaydos 2007, s. 610-616).

3.3.8 *Enterobacter hormaechei* och *Enterobacter aerogenes*

Enterobacter hormaechei och *Enterobacter aerogenes* är rörliga (Lassen, Blystad & Degré 2011b, s. 169), ickesporbildande, fakultativt aeroba gramnegativa stavar. Bakterien bildar en kapsel som gör att kolonin kan vara slemmig. (Lassen & Blystad 2011c, s. 194). De är opportunister och hör till människans tarmmikrobiota. De vanligaste infektionerna är urinvägsinfektion, lunginflammation och bakteremi. Den vanligaste bakterien i släkten *Enterobacter* i kliniska prov är *Enterobacter cloacae* och den nästvanligaste är *E. aerogenes*. Dessa arter hittas vanligen i infekterade bensår, brännsår och kirurgiska sår. Bakterierna är relativt resistenta. (Tissari & Anttila 2010a, s. 196-198). *E. hormaechei* hör till *E. cloacae*-komplexet (Townsend, Hurrell, Caubilla-Barron, Loc-Carrillo & Forsythe 2008, s. 3659).

3.3.9 *Elizabethkingia meningoseptica*

Elizabethkingia meningoseptica är en obligat aerob, orörlig, ickesporbildande och nonfermentativ gramnegativ stav som det finns rikligt av i naturen. Bakterien förekommer främst hos patienter med nedsatt immunförsvar och är oftast sjukhusassocierad. (Sarma, Kumar, Jha, Baveja & Sharma 2011, s. 62-63). Ofta är *E. meningoseptica* även associerad med signifikant sjukdom i människan som orsakar neonatal meningit och mer sällan pneumoni och blodförgiftning hos vuxna. Bakterien är relativt resistent mot många bakterieläkemedel (Schreckenberger, m.fl. 2007, s. 791-794). Kolonierna är släta, runda, stora, blänkande och ofta färglösa men kan ibland ha lite gult pigment (Forbes, m.fl. 2007, s. 360).

3.3.10 *Proteus vulgaris*

Proteus vulgaris är en gramnegativ, stavformad, aerob (Public Health Agency of Canada 2011) och rörlig opportunistisk patogen som producerar endotoxiner. Eftersom den är rörlig bildar den en sorts tunn film på agarytan av näringsmediumet, vilket kallas svärmning. (Forbes, m.fl. 2007, s. 323-327). Bakterien koloniserar ofta tarmen och orsakar ofta urin-vägsinfektioner och sårinfektioner. *P. vulgaris* är relativt resistent och det finns även stammar som är ytterst resistent. (Tissari & Anttila 2010a, s. 198).

3.3.11 *Shigella sonnei*

Shigella sonnei är en orörlig (Nataro, m.fl. 2007, s. 677) gramnegativ stav (Siitonen & Vaara 2010, s. 177). Eftersom den inte hör till tarmens mikrobiota är den tarmpatogen och kan orsaka shigellos (tarminfektion). Bakterien har ingen kapsel och inga flageller men den har typ 1-fimbrier. Bakterien har virulensplasmider och är naturligt resistent mot flera bakterieläkemedel. Största delen av shigellainfektionerna är orsakade av *S. sonnei*. (Siitonen & Vaara 2010, s. 190-192). Kolonierna varierar från släta till ojämna (Farmer III, Boatwright & Janda 2007, s. 664), de är platta och är utspridda på näringsmediumets agar (Nataro, Bopp, Fields, Kaper & Strockbine 2007, s. 678).

3.3.12 *Stenotrophomonas maltophilia*

Stenotrophomonas maltophilia är en gramnegativ stav (Forbes, m.fl. 2007, s. 334-335) som är nonfermentativ och vanligt förekommande i naturen. Den är en opportunistbakterie som är naturligt resistent mot många bakterieläkemedel, bland annat betalaktamer, karbapenemer och aminoglykosider. *S. maltophilia* orsakar lunginflammation, bakteremi, hudinfektion och urinvägsinfektion. (Tissari & Anttila 2010b, s. 202). Bakterien hör vanligen inte till mikrobiotan (Forbes, m.fl. 2007, s. 334). På blodskål bildar bakterien stora, släta, glittrande kolonier med ojämna kanter, lavendelgrönt till ljuslila pigment och har en grönaktig färg under bakterietillväxten (Forbes, m.fl. 2007, s. 336).

3.3.13 *Aggregatibacter aphrophilus*

Aggregatibacter aphrophilus (tidigare *Haemophilus aphrophilus*) är en gramnegativ kockliknande, fermentativ stav (Vuopio-Varkila, Syrjänen & Kotilainen 2010, s. 108) som är orörlig, fakultativt anaerob och förekommer ensam, i par eller ibland i korta kedjor (Graevenitz, m.fl. 2007, s. 622). Den behöver växa två dygn för att ge tydlig tillväxt. Den är resistent mot vancomycin, clindamycin och erythromycin. (Vuopio-Varkila, Syrjänen & Kotilainen 2010, s. 108). Bakterien är en del av munhållans mikrobiota och förekommer överlägset på tandytor i tandplack. *A. aphrophilus* förekommer vid måttligt allvarlig endokardit, hjärnabscess, bihåleinflammation, artrit och osteomyelit. Kolonierna är grova, upphöjda och små. (Kilian 2007, s. 637-641).

3.3.14 *Oligella urethralis*

Oligella urethralis är en orörlig (Schreckenberger, m.fl. 2007, s. 775), kockliknande aerob gramnegativ stav som normalt hittas i genitalområdet och urinvägarna, men är inte särskilt patogen (Mammeri, Poirel, Mangeney & Nordmann 2003, s. 1536). Bakterien är vanligen känslig för de flesta bakterieläkemedel, även penicillin. Kolonierna är ogenomskinliga. (Schreckenberger, m.fl. 2007, s. 775).

3.3.15 *Paenibacillus polymyxa*

Paenibacillus polymyxa är en fakultativt anaerob, grampositiv (Raza, Yang & Shen 2008, s. 419) och rörlig stav som kan bilda endosporer (Logan, Popovic & Hoffmaster 2007, s. 463-467). Bakterien är en viktig del i jord- och växtecosystem och en av de mest signifikanta bakterierna inom industrin (Kim, m.fl. 2010, s. 6103). Kolonierna är ojämna och bakterien producerar ingen särskilt utmärkande tillväxt (Logan, Popovic & Hoffmaster 2007, s. 463-467).

3.4 Grampositiva kocker i undersökningen

I detta kapitel beskrivs de grampositiva kocker som undersökts i examensarbetets praktiska del. Majoriteten av aeroba eller fakultativt aeroba grampositiva kocker isolerade från kliniska prov består av stafylokker, streptokocker och enterokocker (Ruoff 2011, s. 304).

3.4.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus är en typisk grampositiv kockbakterie och den vanligaste varbakterien hos människan. Den är en viktig patogen som orsakar infektioner hos både helt friska människor och människor med nedsatt immunförsvar. Största delen av barn och vuxna har emellanåt *S. aureus* i näsan, nässvalget, ibland på huden och mer sällan i vagina, ändtarm eller perineum. *S. aureus* skiljs åt från andra stafylokker genom koagulastest, eftersom *S. aureus* är den enda koagulaspositiva stafylokockarten hos människan medan alla andra stafylokker är koagulasnegativa. *S. aureus* förekommer vid mikroskopering som enskilda kockbakterier i par eller i små klasar. Största delen av *S. aureus*-stammarna har en kapsel. De viktigaste kliniska infektionerna orsakade av *S. aureus* är variga hud- och mjukdelsvävnadsinfektioner, operationssårsinfektioner, beninfektioner och ledinfektioner samt allvarliga allmänna infektioner såsom sepsis och endokardit. *S. aureus* har utvecklat resistens praktiskt taget mot alla bakterieläkemedelsgrupper i kliniskt bruk. En del av *S. aureus*-stammarna är nuförtiden resistent även mot stafylokockpenicilliner. Dessa så kallade meticillinresistenta *S. aureus* (MRSA) är alltid resistent även mot alla andra betalaktambakterieläkemedel inklusive cefalosporiner och karbapenemer. Kolonierna är ofta gula, men kan vara ofärgade. (Vupio-Varkila, Kuusela & Kotilainen 2010, s. 83-90).

3.4.2 *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus hominis* och *Staphylococcus haemolyticus*

Koagulasnegativa stafylokocker är de viktigaste bakterierna som hör till människans mikrobiota. Bakterierna är fakultativt aeroba, orörliga grampositiva kocker. (Lassen & Blystad 2011a, s. 120). Nuförtiden är över hälften av sjukhusinfektionerna orsakade av meticillinresistenta koagulasnegativa stafylokocker. Stafylokocker som orsakar infektioner på sjukhus är även resistenta mot många andra bakterieläkemedel än meticillin. Koagulasnegativa stafylokocker är de vanligaste bakterierna i olika infektioner med främmande föremål. Kolonierna är oftast små och vita. (Lyytikäinen, Vuopio-Varkila & Kotilainen 2010, s. 98-101).

Staphylococcus saprophyticus skiljer sig från de andra koagulasnegativa stafylokockerna på grund av deras förmåga att orsaka sjukdom. Den orsakar urinvägsinfektioner hos unga kvinnor och akuta urinvägsinfektioner i öppen vård, men nästan inga andra infektioner. Bakterien är lätt att skilja från andra stafylokocker eftersom den är resistent mot novobiocin. *S. saprophyticus* är ofta känslig för vanliga bakterieläkemedel som används för urinvägsinfektioner, förutom mecillinam. (Lyytikäinen, Vuopio-Varkila & Kotilainen 2010, s. 98-101). På blodskål är kolonierna stora, blanka, släta, ogenomskinliga, utåtstående med smörlik konsistens och är vita till färgen men kan även vara gula eller orangea (Forbes, m.fl. 2007, s. 257).

Staphylococcus epidermidis är en opportunistbakterie som utgör 65-95 % av alla stafylokocker som finns i hudens och slemhinnornas mikrobiota (Lyytikäinen, Vuopio-Varkila & Kotilainen 2010, s. 98-101). Bakterien finns även i genitalier, luftvägar och tarm. Den är relativt apatogen men orsakar över hälften av de infektioner som är associerade med katetrar. (Lassen & Blystad 2011a, s. 120-121). Kolonierna är små till medelstora, genomskinliga, gråvita och oftast nonhemolytiska. Slemproducerande stammar är extremt kladdiga och fäster vid näringsmediumets agaryta. (Forbes, m.fl. 2007, s. 257).

Staphylococcus sciuri är utbredd i naturen och även om den oftast associeras med djur så kan den kolonisera människan. Bakterien kan finnas vid allvarliga infektioner såsom endokardit, septisk chock, urinvägsinfektion och främst sårinfektioner. (Stepanovic, m.fl. 2005, s. 956). På blodskål är kolonierna medelstora till stora, upphöjda, släta, glittrande,

runda och ogenomskinliga. De flesta stammarna har även ett gult pigment i mitten av kolonin. (Forbes, m.fl. 2007, s. 257).

Staphylococcus haemolyticus finns normalt på hud och slemhinnor och är brett utspridd över kroppsytan. Infektioner uppstår vid implantat av medicinska apparater. Bakterien är vanligen noninvasiv (Forbes, m.fl. 2007, s. 255-257), men kan orsaka meningit (Bannerman & Peacock 2007, s. 393). Kolonierna är medelstora, släta, smöraktiga, ogenomskinliga och β -hemolytiska (Forbes, m.fl. 2007, s. 255-257). β -hemolys innebär att bakterien löser upp erythrocyter i näringsmediumet fullständigt, vilket resulterar i en genomskinlig och klar agar runt bakteriekolonin. α -hemolys innebär att bakterien löser upp erythrocyter i näringsmediumet ofullständigt, vilket resulterar i en grönaktig agar runt bakteriekolonin.

Staphylococcus hominis är en bakterie som kan orsaka bakteremi (Bannerman & Peacock 2007, s. 393). Kolonierna är medelstora till stora, släta, smöraktiga, ogenomskinliga och kan vara opigmenterade eller gräddgul-orangea (Forbes, m.fl. 2007, s. 257).

Staphylococcus warneri kan orsaka endokardit, bakteremi, osteomyelit och kateterrelaterade infektioner (Bannerman & Peacock 2007, s. 393). Kolonierna är medelstora till stora, släta, glänsande, jämnkantiga och lite utåstående i mitten. Till färgen är de opigmenterade eller gräddgul-orangea. (Forbes, m.fl. 2007, s. 257).

3.4.3 *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus casseliflavus* och *Enterococcus saccharolyticus*

Enterokocker är grampositiva, katalasnegativa kocker som förekommer ensamma, i par eller som korta kedjor (Teixeira, da Glória Siqueira Carvalho, Shewmaker & Facklam 2011, s. 350). Enterokocker är opportunisterna och flexibla gällande tillväxtmiljö. De är fakultativt anaeroba och kan även växa i mycket salt omgivning, ytterst brett temperaturområde och i höga pH-värden. Enterokocker växer oftast som nonhemolytiska kolonier men kan också förekomma som α - och β -hemolytiska stammar. Enterokocker utgör en viktig del i människans tarmmikrobiota och förekommer i urogenitalområdet, speciellt i perineum, och i små mängder i munnen. Urinvägsinfektion är den vanligaste enterokockinfektionen men enterokocker förekommer ofta även i

bukhåle- och höftområdets infektioner, operationssår, brännsår och kroniska sår. Enterokockinfektioner associeras ofta även med katetrar och kanyler. Bakterierna kan orsaka bakteremi och endokardit. Infektionen börjar oftast från människans egna enterokocker i mikrobiotan. Över 95 % av de enterokocker som tas upp i klinisk mikrobiologi är *Enterococcus faecalis* och *Enterococcus faecium*. Enterokocker är naturligt resistenta mot flera bakterieläkemedel. (Rantakokko-Jalava & Anttila 2010, s. 126-127). Kolonierna på blodagar är små, gräddfärgade eller vita, släta och hela (Forbes, m.fl. 2007, s. 273).

E. faecalis är nonhemolytisk eller β -hemolytisk på blodskål. *Enterococcus casseliflavus* är rörlig och pigmenterad. (Teixeira, m.fl. 2011, s. 350-351).

3.4.4 *Kocuria kristinae*

Kocuria kristinae hör till gruppen mikrokokker, tidigare *Micrococcus kristinae* (Bannerman & Peacock 2007, s. 390). *K. kristinae* är en aerob grampositiv kock och de flesta stammarna är apatogena. Bakterien är vanlig i naturen och förekommer ofta i hudens mikrobiota. (Ma, m.fl. 2005). Bakterien associeras sällan med infektioner. Kolonierna är små till medelstora, ogenomskinliga, utåtstående, nonhemolytiska och har stor variation i pigment. De är känsliga för de flesta betalaktambakterieläkemedel. (Forbes, m.fl. 2007, s. 256-262).

3.4.5 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes är en grampositiv, fakultativt anaerob stav som kan föröka sig i olika temperaturer (0-45°C). *L. monocytogenes* är den enda bakterien i listeriasläktet som betydelsefullt orsakar infektioner hos människan. Bakterien förekommer allmänt i omgivningen och den kan även påträffas i olika livsmedel. Den finns i avföringens mikrobiota hos 1-5 % av befolkningen. Listeriastammar som producerar listeriolys förstör erythrocyter och växer som hemolytiska kolonier på blodskål. Nonhemolytiska mutanter anses vara ickevirulenta. Listerios som orsakas av *L. monocytogenes* är klassificerad som anmälningspliktig smittsam sjukdom. Bakterien orsakar matförgiftningsliknande symptom

som diarré, feber, huvudvärk, magknip, illamående och uppkastningar. Viktigt vid behandling med bakterieläkemedel är att listeria-arter är resistent mot cefalosporiner. (Lyytikäinen & Siitonen 2010, s. 136-138). På blodskål är kolonierna små, vita, släta, genomskinliga och β -hemolytiska (Forbes, m.fl. 2007, s. 292).

3.4.6 *Streptococcus equi*, *Streptococcus pneumoniae* och *Streptococcus thermophilus*

Streptokocker är grampositiva kocker som förekommer i kedjor eller par. De är fakultativt anaeroba. Det kan finnas α -, β - och nonhemolytiska varianter varav de β -hemolytiska i regel är mer patogena. Många arter finns normalt på slemhinnor. (Lassen, Blystad & Degré 2011a, s. 143).

Streptococcus equi är en streptokock som kan orsaka infektioner hos människan och kan finnas i opastöriserad mjölk. Bakterien finns i luftvägarnas, matspjälkningskanalens och urogenitalområdets mikrobiota. Den kan ändå orsaka svalginfektion och hudinfektion. Bakterien är resistent mot bacitracin. (Rantakokko-Jalava & Anttila 2010, s. 122-123). Bakterien är β -hemolytisk och har stora kolonier (Spellerberg & Brandt 2007, s. 412-413).

Streptococcus pneumoniae är vanligt förekommande och en viktig sjukdomsalstrande bakterie. Den är inte särskilt resistent eftersom det finns effektiva bakterieläkemedel mot den. Pneumokocken orsakar lunginflammation (pneumoni), akut mellanörsinfektion, sepsis och meningit. Bakterien har en kapsel. (Kauma & Virolainen-Julkunen 2010, s. 112-119). Kolonierna är små, grå, glittrande, nedsjunkna i mitten och kan vara α -hemolytiska (Spellerberg & Brandt 2007, s. 422).

Streptococcus thermophilus är vanligen α - eller nonhemolytisk på blodagar. Bakterien finns i mjölkprodukter men har inte isolerats från kliniska prov. (Spellerberg & Brandt 2007, s. 422).

3.5 Anaeroba bakterier i undersökningen

I detta kapitel beskrivs de anaeroba bakterier som undersökts i examensarbetets praktiska del.

Ickesporbildande anaeroba grampositiva stavar orsakar sällan infektioner i sig själva, men de orsakar tillsammans med andra bakterier infektioner, speciellt på slemhinnor. Till gruppen hör bakteriesläkten, där många arter är fakultativa eller mikroaerofila och inte nödvändigtvis anaeroba. (Rautio 2010, s. 239).

Anaeroba gramnegativa stavar hör till mikrobiotan på slemhinnor och de finns rikligt i munnen och tarmen och är nödvändiga och nyttiga hos människan. Gramnegativa stavar är de mest vanliga anaeroba bakterierna i kliniska infektioner. (Rautio & Vuento 2010, s. 243).

3.5.1 *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides vulgatus* och *Parabacteroides distasonis*

Bacteroidesarter är de mest påträffade anaeroba bakterierna i kliniska prov. De anaeroba gramnegativa bakterierna särskiljs från fakultativt anaeroba bakterier på grund av sin oförmåga att växa i syremiljö och sin känslighet för metronidazol. Vanligen börjar infektionen endogent (av inre orsak) av en skada, sjukdom (cancer) eller under kirurgiska ingrepp. (Citron, Poxton & Baron 2007, s. 911-912).

Bacteroides ovatus är en gramnegativ, oval stav med runda ändor som påträffas ensam eller i par. På anaerob blodagar är kolonierna blekt brungula, runda, hela, utåtstående, genomskinliga, ofta slemmiga och nonhemolytiska. (Forbes, m.fl. 2007, s. 464).

Bacteroides vulgatus är en gramnegativ stav med varierande storlek och form samt runda ändor. Bakterien kan påträffas ensam, i par eller i korta kedjor. Vakuoler kan förekomma. På anaerob blodagar är kolonierna grå, runda, hela, utåtstående, genomskinliga och nonhemolytiska. (Forbes, m.fl. 2007, s. 464).

Parabacteroides distasonis är en gramnegativ rak stav med runda ändor som påträffas ensam eller i par. På anaerob BBA-skål är kolonierna gråvita, runda, hela, utåtstående, släta, halvgenomskinliga till ogenomskinliga och nonhemolytiska. (Forbes, m.fl. 2007, s. 464).

3.5.2 *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum* och *Clostridium sordellii*

Clostridiumarter är mikroaerofiler som kan växa i omgivning av syre, men växer bäst i anaeroba förhållanden (Forbes, m.fl. 2007, s. 455). Clostridiumarter är huvudsakligen anaeroba stavar med grampositiv cellvägg. Klostridier förekommer i människans tarmmikrobiota och de finns även rikligt i naturen. Klostridier påträffas i olika infektioner, varav många kan vara dödliga. (Rautio 2010, s. 233).

Clostridium perfringens är en gramnegativ eller grampositiv rak stav med trubbiga ändor som förekommer ensam eller i par. Bakterien bildar sällan sporer men om den gör det är de stora och ovala. *C. perfringens* orsakar matförgiftning eftersom den efter intag bildar toxiner i människan. (Forbes, m.fl. 2007, s. 879). På anaerob blodskål är kolonierna grå till grågula, runda, glänsande, upphöjda, hela, genomskinliga och β -hemolytiska (Forbes, m.fl. 2007, s. 465).

Clostridium septicum är grampositiv i färska odlingar men blir gramnegativ med tiden. Den är en rak eller böjd stav som påträffas ensam eller i par och färgas ojämnt vid gramfärgning. (Forbes, m.fl. 2007, s. 465). Bakterien finns sällan i avföring hos en frisk människa men kan finnas i anaeroba blododlingar, ofta hos patienter som har en sjukdom som skadar tarmslemhinnan (Rautio 2010, s. 234). Kolonierna är grå, runda, glänsande, genomskinliga, β -hemolytiska och svärmar över hela näringsmediumets agaryta på mindre än 24 timmar (Forbes, m.fl. 2007, s. 465).

Clostridium sordellii är en anaerob grampositiv sporbildande stav med flageller. Bakterien finns ofta i jordmån och i tarmen hos djur och människor. Många stammar är apatogena, men virulenta stammar kan orsaka gasbrand och kallbrand. Infektioner som orsakas av bakterien skapar svåra kliniska utmaningar och är oftast fatala. Infektionerna inträffar ofta efter trauma, förlossning, rutinmässiga gynekologiska procedurer och har även nyligen associerats med medicinsk abort och injektionsdroger.

Kolonierna är genom-skinliga till ogenomskinliga, med små β -hemolyszoner på blodagar. (Aldape, Bryans & Stevens 2006, s. 1436). Dessutom är kolonierna ojämna (Johnson, Summanen & Finegold 2007, s. 903).

3.5.3 *Corynebacterium striatum*

Corynebacterium striatum är en mellanstor till stor, orörlig grampositiv stav som hör till hudens mikrobiota (Forbes, m.fl. 2007, s. 289-295). Den är en fermentativ och opportunistisk bakterie som orsakar sårinfektion (Funke & Bernard 2007, s. 489-494), bakteremi, pneumoni och lungabscess. På blodagar är kolonierna små till medelstora, vita, fuktiga och släta. (Forbes, m.fl. 2007, s. 289-295). Corynebakterier är mikroaerofila bakterier (Burkovski 2013, s. 1).

3.6 Rutinmetod API® 20 E™ för bakterieidentifiering

API 20 E™ är ett identifieringssystem för gramnegativa stavar. I testet finns 21 biokemiska miniatyrtest och till systemet hör även en databas. I databasen finns en fullständig lista med organismer som kan identifieras med testet. (BioMérieux u.å.a).

I API 20 E™ -testet kan inte direkta patientprov användas. Provet måste först isoleras på ett näringsmedium, lämpligt för gramnegativa stavar. Testets inkubationsbox förbereds genom att tillsätta en liten mängd destillerat vatten till håligheterna i boxens platta för att hålla testremsan som placeras i boxen fuktig. Från det isolerade patientprovet tas en enskild bakteriekoloni och blandas ordentligt i 5 ml steril natriumkloridlösning till en bakteriesuspension. En pipett används för att enligt anvisningar fylla testremsans brunnar med bakteriesuspensionen. (BioMérieux u.å.a).

Brunnarna i testremsan innehåller dehydrerade substrat. Medan inkubationen pågår (vanligen över natten) framkallar bakteriens metabolism färgförändringar som kan uppträda spontant eller som framkallas efter att reagenser tillsätts, se figur 4. (BioMérieux u.å.a).

Efter inkubationen avläses reaktionerna enligt avläsningstabellen i databasen. Identifieringen görs med den numeriska profilen, som fås vid avläsning. Via databasen fås möjliga förslag på bakterier. I vissa fall fås ett säkert svar, men vid osäkerhet kan kompletterande tester bli nödvändiga att utföra. (BioMérieux u.å.a).



Figur 4. Färgförändringar i API 20 E™ testremsa efter inkubation.

3.7 Bakterieläkemedel och resistens

Bakterieläkemedel, även kallade antibiotika, är läkemedel som har effekt mot bakterier (Ericson & Ericson 2009, s. 291). De första egentliga bakterieläkemedlen, sulfonamider, togs i bruk år 1935 och efter dessa kom penicillinerna år 1942 (Huovinen 2009). I kampen mot infektionssjukdomar är bakterieläkemedel viktiga. Mikrobiotan på hud och slemhinnor påverkas av bakterieläkemedel vilket kan leda till att andra infektioner kan uppstå. (Jenssen 2009, s. 120). Grundtanken bakom bakterieläkemedel är att de skall vara selektivt toxiska. Bakterieläkemedel bör förstöra bakterierna eller förhindra deras förökning, samtidigt som de inte får orsaka skada hos människan. Selektiviteten hos de flesta bakterieläkemedel beror på skillnader i uppbyggnad hos prokaryota och eukaryota celler. Eukaryota celler är till exempel människans celler. Läkemedlen påverkar därför ofta strukturer som finns i prokaryota celler och som fattas i eukaryota celler. (Huovinen, Vaara, Liippo & Viljanen 2003, s. 82-83). Uppbyggnaden av bakteriecellväggen är synnerligen karakteristisk och detta är grunden till verkningsmekanismen för bakterieläkemedel (Vaara, m.fl. 2010, s. 21).

Bakterieläkemedel som dödar målbakterierna kallas baktericida läkemedel, medan bakterieläkemedel som hindrar målbakteriernas tillväxt och förökning kallas bakteriostatiska läkemedel. De flesta bakterieläkemedel kan delas in i fyra grupper på grund av sin verkningsmekanism och dessa är ämnen som förhindrar bakteriens syntes av cellväggens peptidoglykan, bakterieproteinsyntesens translationsskede, bakteriens syntes av nukleinsyror och ämnen som förstör plasmamembranen. (Huovinen, m.fl. 2003, s. 82-83).

Bakterieläkemedel används vid behandling av många infektioner. De används även profylaktiskt, speciellt vid kirurgiska ingrepp samt i förebyggande syfte vid malaria och endokardit. (Koskinen & Turunen 2012, s. 388). Före vård med bakterieläkemedel inleds, bör en grundlig klinisk undersökning genomföras för att klarlägga att det är bakterier som orsakat patientens tillstånd (Jenssen 2009, s. 121).

Bakterier har funnits på jorden miljarder år före människan. Deras anpassning till omgivningens förhållanden och dess förändringar är utomordentlig. Bakterier kan leva genom att dra nytta av varandra eller bekämpa varandra på grund av näring och konkurrens av livsmiljö. Bakteriernas naturliga resistens mot olika bakterieläkemedel varierar och hos vissa bakteriearter förekommer speciella egenskaper som gör att bakterieläkemedel saknar effekt. Dessutom är många bakterieläkemedel tillverkade av föreningar som också produceras av vissa mikrobgrupper, vilket leder till att bakterieläkemedel saknar effekt. (Hirvonen 2013).

Resistensen kan vara naturligt förekommande eller förvärvad. Vid förvärvad resistens förändras en naturligt känslig bakterie till resistent endera genom genförändring eller genöverföring. (Järvinen, m.fl. 2011, s. 122). Detta sker genom förändring i bakterieläkemedlets verkningsställe, metabolt omlopp, överproduktion av enzymet som läkemedlet angriper, yttre membran eller vaxlager, läkemedlets avlägsnande från cellen via pumpar, enzymer som förändrar eller förstör bakterieläkemedlet samt bildandet av biofilm (Hirvonen 2013). Vissa bakterier har även en mekanism för att reparera DNA-skador, vilket hjälper bakterierna att överleva (Huovinen 2009, s. 1106-1107). En resistensmekanism som bildats i en bakterieart kan förflyttas till andra arter, vilket kan ske genom plasmider och/eller transposoner, bakterievirus eller DNA som frisläppts från döda celler (Hirvonen 2013). Genernas muteringsförmåga har även hjälpt bakterierna att

utveckla egna resistensgener. En bakterie kan vara resistent mot flera bakterieläkemedel, och benämns då som multiresistent. (Huovinen 2009, s. 1106-1107).

Bakterier kan förändras under kraftigt selektionstryck till mer resistenta på grund av riklig och oförnuftig användning av bakterieläkemedel. I Finland uppföljs bakteriernas resistenstillstånd aktivt. På finländska sjukhus är problemet inte brist på allmän hygien utan att virulenta och resistenta bakteriestammar överlever i omgivningen. (Hirvonen 2013).

Av de läkemedel som utvecklades år 2011 utgjorde bakterieläkemedel endast 1,6 % och nya, effektivare bakterieläkemedel är svåra att uppfinna. Problemen är, att om bakterieläkemedel isoleras från naturen, så finns det redan en naturlig resistens hos bakterier. Om syntetiska bakterieläkemedel tillverkas, så blir de kvar i naturen eftersom inga nedbrytande enzymer existerar. (Carlson & Linder 2012, s. 211).

3.8 Resistensbestämning av bakterier

Tanken med resistensbestämning är att från ett kliniskt prov bestämma de patogena bakteriernas känslighet för bakterieläkemedel som används i vården. Med hjälp av läkemedelshalter som har mätts i vävnader och i bakteriepopulationernas resistensundersökningar har en känslighetsklassificering för kliniskt bruk skapats. Det finns tre resistensklassificeringar som är S, I och R. S, känslig, betyder att bakterien är känslig för läkemedlet och läkemedlet kan användas för behandling. I, intermediär, betyder att bakteriens känslighet för läkemedlet har minskat eller är oklar. R, resistent, betyder att läkemedlet inte har någon effekt mot den aktuella bakterien. (Carlson & Linder 2012, s. 188; Hirvonen 2013).

Som mått på bakterieläkemedlens effekt används även Minimal Inhibitory Concentration (MIC). I utspädningstest används agarplattor eller brunnar med näringsmedium som innehåller utspädningsserier av bakterieläkemedel, där bakteriernas förmåga att producera synlig bakterietillväxt testas. Den lägsta koncentrationen bakterieläkemedel som inhiberar synlig tillväxt kallas MIC. (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2000, s. 509; Järvenpää & Rekiranta 2012, s. 16). Detta innebär att MIC är omvänt jämförbar med bakteriens resistens, alltså ju mindre MIC desto känsligare

bakterie (Timoharju, u.å.a). På basen av MIC-värdet bestäms den bakterieläkemedelsstyrka som behövs för att behandla patientens bakterieinfektion (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 2000, s. 509; Järvenpää & Rekiranta 2012, s. 16).

3.9 Rutinmetoderna lappdiffusionsmetod och E-test® för resistensbestämning

Lappdiffusionsmetoden är den äldsta och i dagsläget mest använda metoden för resistensbestämning. Den är billig och enkel att utföra men ger endast ett semikvantitativt resultat, vilket betyder att den inte ger några exakta siffervärden, till skillnad från MIC-resistensbestämning. (Hirvonen 2013). Lappdiffusionsmetoden lämpar sig för resistensbestämning av majoriteten av de patogena bakterierna. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) har kalibrerat zondiameter-gränserna som används vid resistensbestämning i Europa. (EUCAST 2012).

E-test® är en plastremsa med en stabil skala som består av bakterieläkemedel i 15 olika koncentrationer. E-test® används för att bestämma MIC-värdet för bakteriens bakterieläkemedelsresistens. För varje resistensundersökning används en skild plastremsa, som innehåller ett specifikt bakterieläkemedel. (BioMérieux 2013).

3.9.1 Drejning

Från det isolerade patientprovet som odlats på näringsmedium flyttas bakteriekolonier till ett provrör som innehåller steril natriumkloridlösning och omblandas för att göra en bakteriesuspension med koncentrationen 0,5 McFarland (EUCAST 2012).

Bakteriesuspensionen bör drejas inom 15 minuter. En steril bomullssticka doppas i bakteriesuspensionen och överflödigt vätska avlägsnas genom att rulla stickan längs med kanten på insidan av röret. Med bomullsstickan sprids bakteriesuspensionen jämnt över hela ytan på ett nytt, lämpligt näringsmedium genom att använda en agarskålrotator. (EUCAST 2012).

3.9.2 Lappstämpling eller E-test®

Diffusionslapparna som innehåller olika bakterieläkemedel stämplas på agarytan av näringsmediumet inom 15 minuter. Förlängd tid kan göra att bakterien börjar växa, vilket resulterar i felaktiga och förminskade avläsningszoner. Antalet lappar på ett näringsmedium bör begränsas så att överlappning av zonerna undviks. (EUCAST 2012).

E-testen som innehåller olika bakterieläkemedel appliceras inom 15 minuter med pincett på näringsmediumets agaryta så att remsans MIC-skala är uppåt. På ett näringsmedium kan en eller två E-testremсор placeras. (ASM Press u.å., s. 5.8.3).

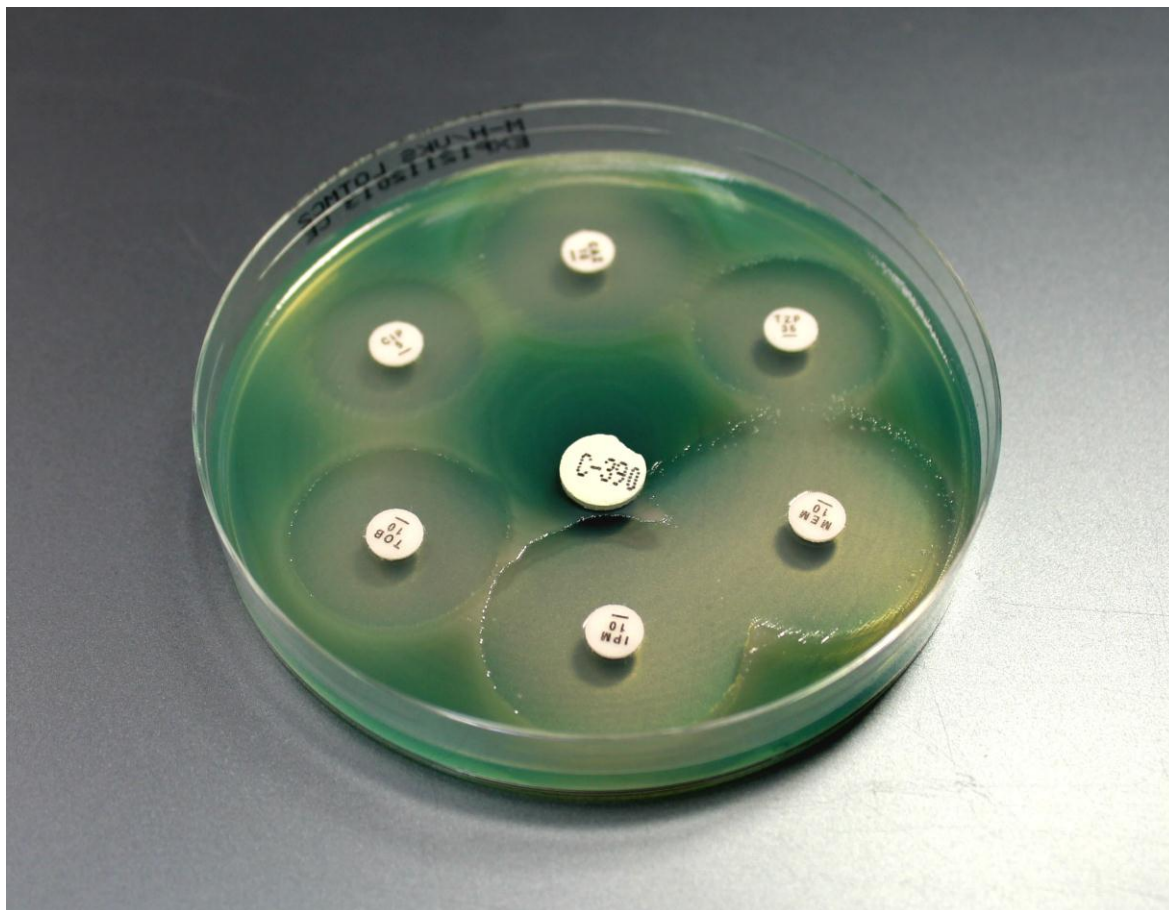
3.9.3 Inkubation

Efter lappstämpling eller applicering av E-test® bör agarskålarna placeras i ett lämpligt inkubationsskåp så fort som möjligt, annars kan det uppstå felaktiga och förstörade avläsningszoner. Näringsmediumet inkuberas över natten så att synliga bakteriekolonier bildas på dem. Inkubationstemperaturen bör vara mellan 35-37° C. (EUCAST 2012).

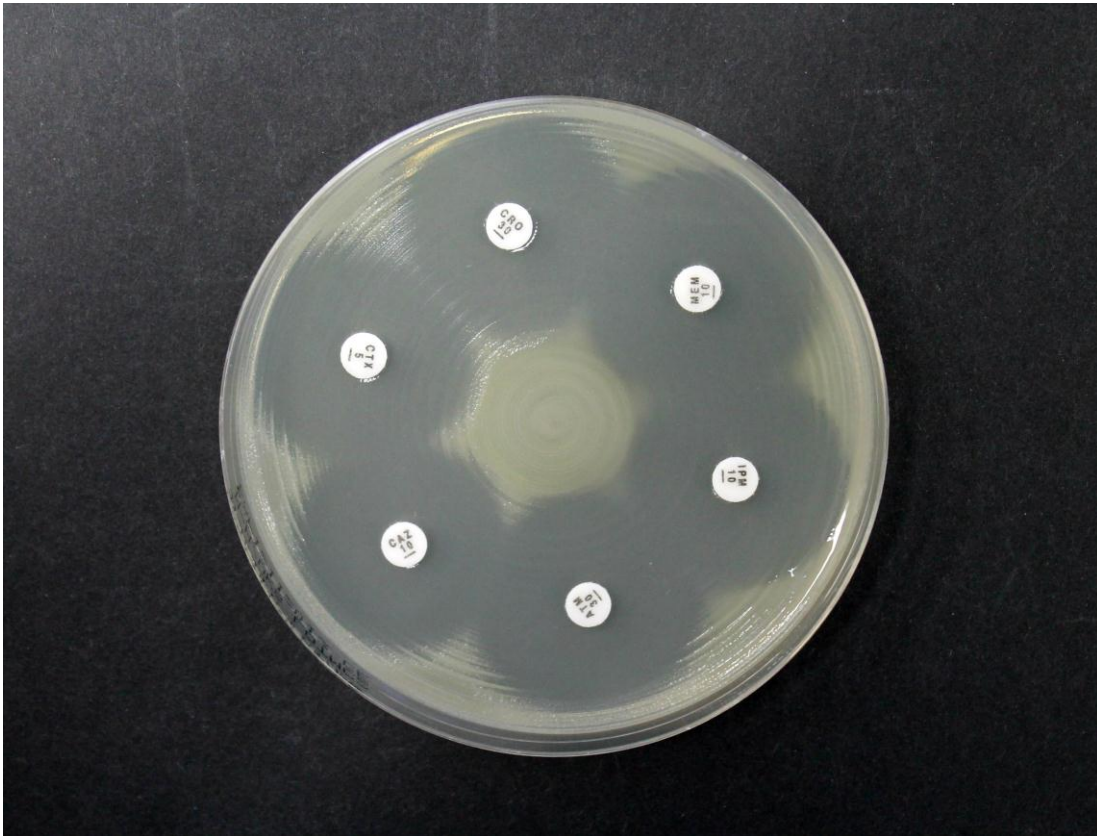
3.9.4 Avläsning av resultat

Avläsning av zondiametrarna runt diffusionslapparna (se figur 5 och 6) sker efter 16-20 timmars inkubation och möjlig resistens rapporteras (EUCAST 2012). Avläsning av E-test[®] sker från den punkt där bakterietillväxt möter E-testremsan, se figur 7 (ASM Press u.å., s. 5.8.4).

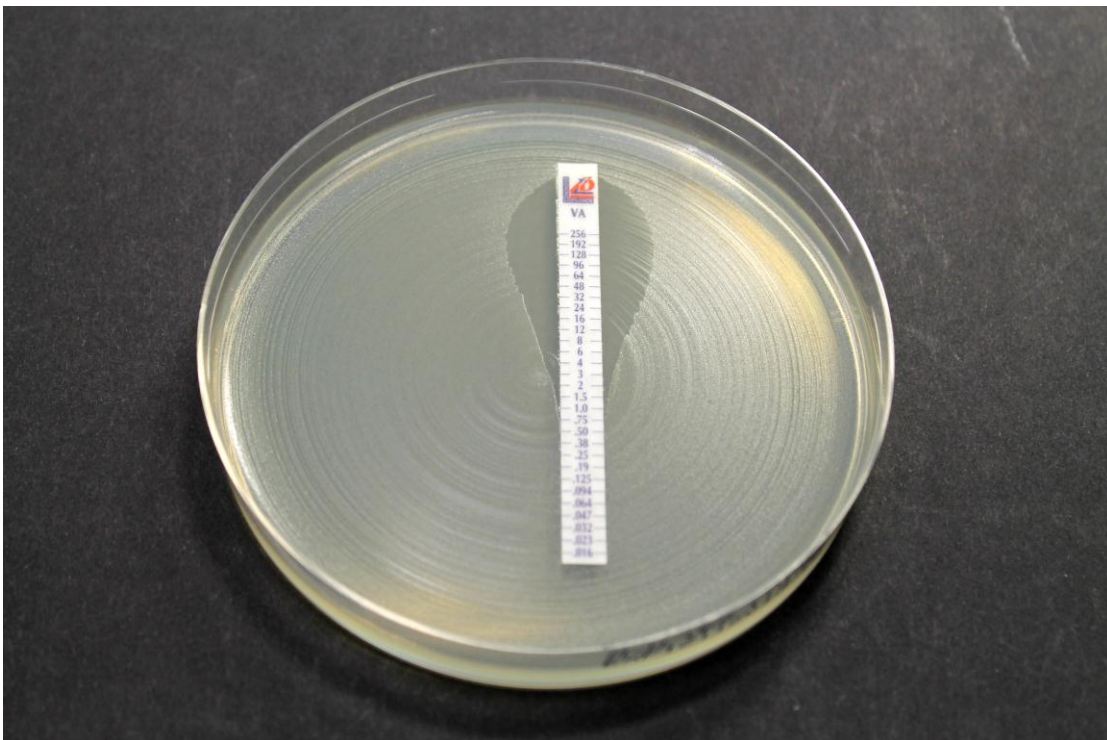
Tillförlitligt utförd drejning, lappstämpling eller applicering av E-test[®] och inkubation ska resultera i en jämn bakterietillväxt på näringsmediumet för att ge ett korrekt resultat. Om enstaka kolonier syns, betyder det att bakteriesuspensionens koncentration i drejningsläget var under 0,5 McFarland och resistensbestämningen måste göras om från början. (EUCAST 2012; ASM Press u.å., s. 5.8.4).



Figur 5. Resistensbestämning av *Pseudomonas aeruginosa* på Müller-Hinton -skål med hjälp av zondiameteravläsning vid lappdiffusionsmetoden.



Figur 6. Resistensbestämning av *Klebsiella oxytoca* på Müller-Hinton -skål med hjälp av zondiameteravläsning vid lappdiffusionsmetoden.



Figur 7. Bestämning av vancomycinkänslighet med hjälp av E-test® på Müller-Hinton -skål.

3.10 Det mikrobiella identifierings- och resistensbestämningssystemet Vitek® 2

Identifierings- och resistensbestämningssystemet Vitek® 2 (se figur 8) är framställt av företaget BioMérieux. Analysatorn används för snabb bakterieidentifiering och resistensbestämning samtidigt som den minskar mängden manuellt utfört arbete. Systemet inkluderar en enkelt använd databas, Advanced Expert System (AES), som analyserar MIC-värdet och identifierar bakterier. (BioMérieux 2009). Databasen baserar sig på internationella undersökningar och publikationer samt interna och externa bedömningar (Timoharju u.å.c). Den tolkar bakteriers identifikations- och bakterieläkemedels-resistensresultat och är sammanställd med hjälp av ca 100 000 vetenskapliga forskningsarbeten och rapporter. Arbetsstationens komponenter är en fristående dator, avläsare/inkubator och en Smart Carrier™ -station. (BioMérieux 2009). Stationen används för att samla information om reagenskort och prover samt för att överföra informationen till Vitek® 2 -analysatorn (BioMérieux 2008, s. 2-6). Systemet använder kolorimetriska reagenskort som inkuberas och tolkas automatiskt (Pincus u.å., s. 1).

Vitek® 2 -analysatorn fokuserar på det kliniskt mikrobiologiska laboratoriet och erbjuder mer automation och kapacitet för större laboratorier. Analysatorn erbjuder också möjlighet till automatisk pipettering och utspädning för resistensbestämning. (Pincus u.å., s. 2).

Vitek® 2 -analysatorer används globalt. År 2010 fanns det 11 316 installerade Vitek® 2 -identifieringssystem. Av dessa fanns 4 696 i Europa. (Timoharju 2011, s. 3).



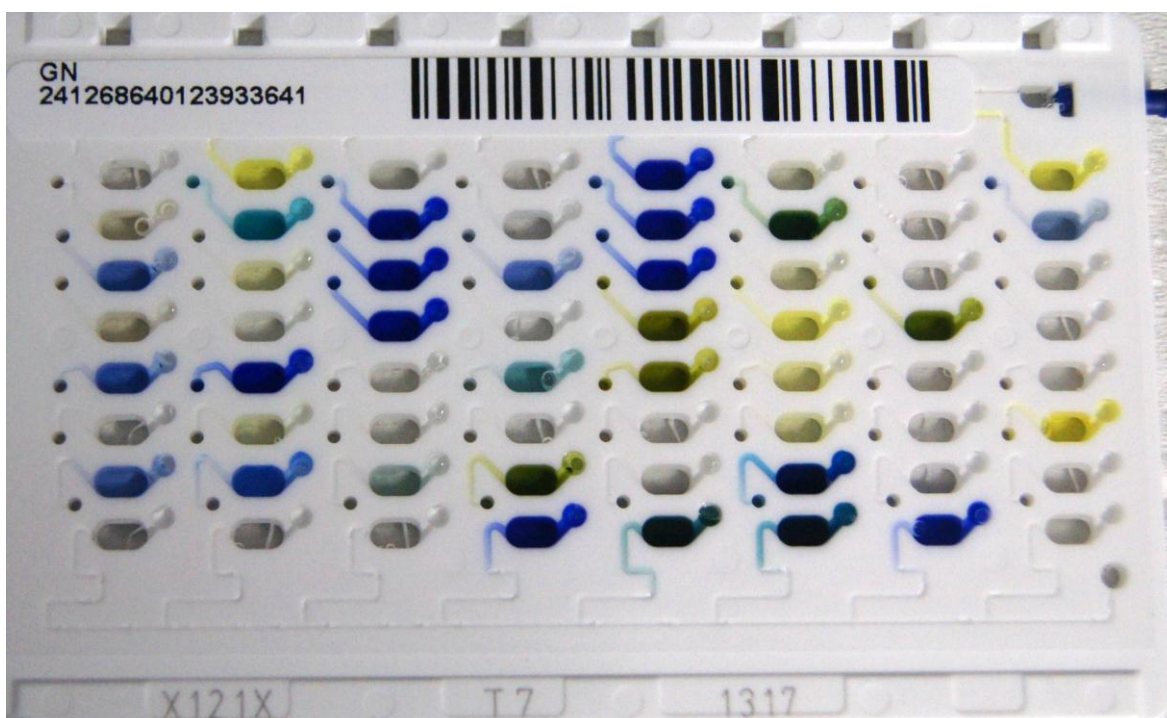
Figur 8. Det mikrobiella identifierings- och resistensbestämningssystemet Vitek® 2. (BioMérieux 2009).

3.10.1 Bakterieidentifiering med Vitek® 2

Bakterieidentifiering med Vitek® 2 -analysatorn görs med en metod som baserar sig på information om bakterier och deras karakteristiska reaktioner. Tillräcklig data har samlats in från kända stammar för att uppskatta de typiska reaktionerna som sker när arterna utsätts för biokemiska tester. (BioMérieux 2010b, s. 4-4). Systemets reagenskort för bakterieidentifiering har 64 brunnar som var och en kan innehålla ett individuellt testsubstrat. Substraten mäter bakteriernas olika metaboliska aktiviteter, såsom försurning, alkalisering och enzymhydrolys samt tillväxt i närvaro av inhibitoriska substanser. En optiskt genomskinlig film som finns på båda sidorna av reagenskortet möjliggör att en lämplig mängd syreöverföring upprätthålls, samtidigt som den slutna behållaren förhindrar kontakt med organismsubstratblandningen. Varje reagenskort har ett inbyggt rör som används för inokulation. Reagenskortet har en streckkod med information om produkttyp, LOT-nummer, utgångsdatum och en unik identifierare som kan sammankopplas med provet endera före eller efter att kortet läggs in i systemet. (Pincus u.å., s. 2-3). Det finns fem reagenskort för identifiering. Dessa är GN (Gram Negative) för identifiering av gramnegativa bakterier, GP (Gram Positive)

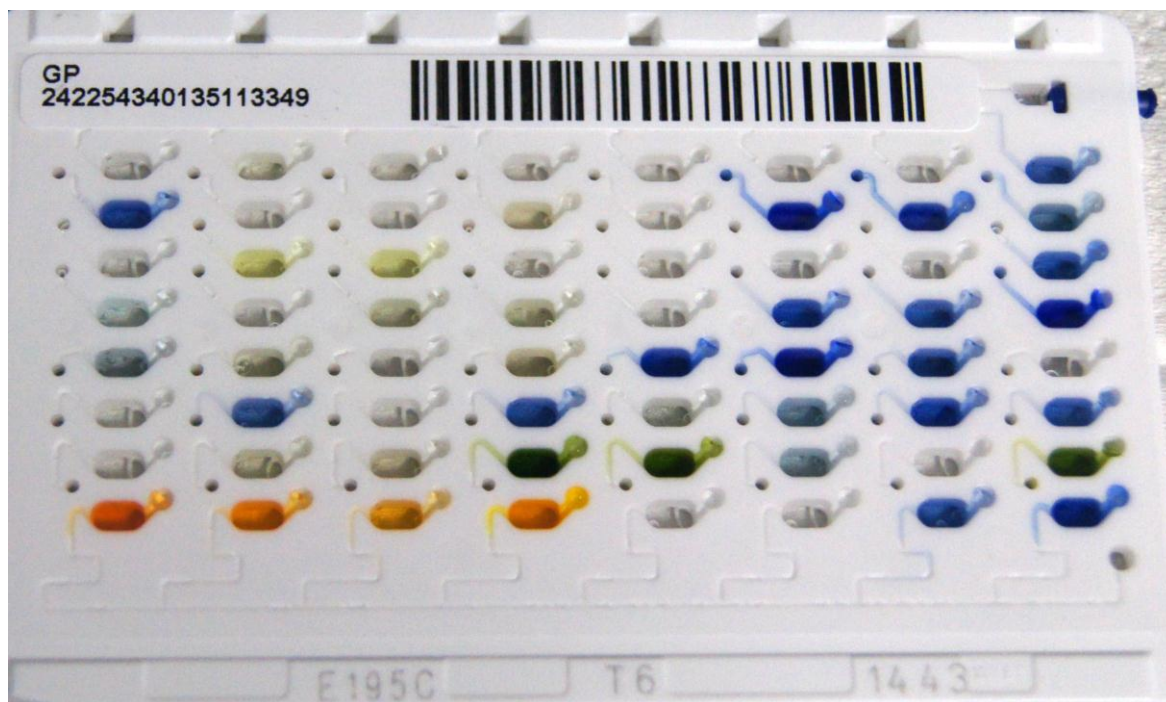
för identifiering av grampositiva bakterier, YST (Yeast) för identifiering av jäst, NH (*Neisseria-Haemophilus*) för identifiering av *Neisseria*, *Haemophilus* och andra krävande gramnegativa bakterier och ANC (Anaerobe and Corynebacterium) för identifiering av anaeroba bakterier och corynebakterier. (BioMérieux 2009).

GN-kortet (se figur 9) används för automatisk identifiering av 142 arter av de mest kliniskt signifikanta fermentativa och nonfermentativa gramnegativa bakterierna. I kortet finns 47 biokemiska tester och en negativ kontrollbrunn. Kortets reaktioner avläses på ungefär 10 timmar eller mindre. (BioMérieux 2010b, s. 4-1, 4-13-4-16).



Figur 9. Vitek® 2 -analysatorns GN-kort för bakterieidentifiering efter avläsning.

GP-kortet (se figur 10) används för automatisk identifiering av 116 arter av de kliniskt mest signifikanta grampositiva bakterierna. I kortet finns 43 biokemiska tester. Kortets reaktioner avläses på ungefär 8 timmar eller mindre. (BioMérieux 2010b, s. 5-1, 5-11-5-14).



Figur 10. Vitek® 2 -analysatorns GP-kort för bakterieidentifiering efter avläsning.

YST-kortet används för automatisk identifiering av 50 arter av de kliniskt mest signifikanta jästarterna och jästliknande organismerna. I kortet finns 46 biokemiska tester. Kortets reaktioner avläses på ungefär 18 timmar. (BioMérieux 2010b, s. 7-1, 7-11-12).

NH-kortet används för automatisk identifiering av 26 arter av de kliniskt mest signifikanta krävande bakterierna. I kortet finns 30 biokemiska tester. Kortets reaktioner avläses på ungefär 6 timmar. (BioMérieux 2010b, s. 6-1, 6-11).

ANC-kortet används för automatisk identifiering av 37 arter av de kliniskt mest signifikanta anaeroba bakterierna och corynebakterierna. I kortet finns 36 biokemiska tester. Kortets reaktioner avläses på ungefär 6 timmar. (BioMérieux 2010b, s. 1-1, 1-11-1-12).

Patientprovet måste först odlas på ett näringsmedium, från vilket en lämplig bakteriesuspension görs. Från ett provrör sugs bakteriesuspensionen upp i reagenskortet. Ett kort används till ett prov och 15 kort ryms i en rack. Detta innebär att 30-60 prov kan analyseras samtidigt. Varje kort inkuberas i 34,5-36,5° C i 15 minuter, transporteras till det optiska systemet för avläsning av reaktioner och returneras därefter till inkubatorn tills nästa avläsning sker. Data insamlas med 15 minuters intervaller under hela

inkubationstiden. Resultatet från reagenskortet jämförs av analysatorn med informationen om bakterierna i databasen (AES) och analysatorn ger därefter förslag på möjliga bakterier. (Pincus u.å., s. 4-7).

Ett transmitterande optiskt system tillåter tolkning av testreaktioner genom att använda olika våglängder i det synliga spektrumet. Under inkubationen avläses varje testreaktion var 15:e minut för att mäta antingen grumlighet eller färgproduktion av substratmetabolism. Dessutom används en specialalgoritm för att eliminera falska avläsningar på grund av små bubblor som kan förekomma. (Pincus u.å., s. 6).

Uträkningar görs av rådata och jämförs med tröskelvärden för att fastställa reaktioner för varje test (Pincus u.å., s. 6). Resultat av testreaktioner förekommer som +, - och *.

Databasen till Vitek® 2 är konstruerad med ett stort antal stammar av välkända mikroorganismer som har testats under olika odlingsförhållanden. Dessa stammar härstammar från olika kliniska och industriella källor liksom från allmänheten (till exempel ATCC) och odlingsinsamlingar från universitet. (Pincus u.å., s. 6). ATCC (American Type Culture Collection) är ett privat, ideellt biologiskt resurscenter som fokuserar på förvärvande, verifiering, produktion, bevarande, utveckling och distribution av standardiserade referenser av mikroorganismer (ATCC 2012).

Testdata från en okänd organism jämförs med databasen (AES) för att fastställa ett kvantitativt värde så nära taxan i databasen som möjligt. Varje sammansatta värde jämförs med de andra för att bestämma om informationen är unik eller i närheten av annan taxa i databasen. Om ett unikt identifikationsmönster inte känns igen, ges en lista på möjliga organismer, eller så finns stammen utanför databasens ramar. (Pincus u.å., s. 6).

Ett okänt reaktionsmönster jämförs med databasen för reaktioner för varje taxon, och en numerisk sannolikhetsberäkning utförs. Varierande kvalitativa nivåer av identifiering som är baserade på numeriska sannolikhetsberäkningar anges. (Pincus u.å., s. 6). Detta inträffar när reaktionsmönstret är representativt för en samlad taxon och genererar en släktnivå, artnivå eller slashline identifiering, som innebär att vidaretester behövs för att kunna identifiera till artnivå. I sällsynta fall kan artnivå -identifiering bestå av en

blandad taxon av två underarter. Kompletterande tester kan då användas för att avgränsa representativa arter eller underarter av dessa samlade taxa. (Pincus u.å., s 7).

Vid bristfällig identifikation listas två eller tre val av bakterier i ordning av deras sannolikhetsuträkningar. All taxa med dålig identifikation är möjliga alternativ och bör endast uteslutas efter vidare tester och/eller observationer. Laboratorierapporten innehåller rekommenderade tilläggstester som möjliggör differentiering av möjligheter med dålig identifiering. Om tilläggstester som listas inte är lämpliga för att fullgöra identifikationen, borde standardiserade mikrobiologiska referenser kontrolleras. (Pincus u.å., s. 7).

När ett reaktionsmönster beräknas för en okänd organism som är endera helt negativ eller består av både negativa tester och tester med reaktioner som ligger för nära testets tröskelvärden ger identifieringen resultatet "Non-reactive biopattern" (ickereaktivt reaktionsmönster). Om ett ickereaktivt reaktionsmönster stöts på, kommer det fram ett meddelande som påstår "organism med dåligt reaktionsmönster, vänligen kontrollera att bakterien är vid liv". (Pincus u.å., s. 8).

3.10.2 Resistensbestämning med Vitek® 2

Vitek® 2 AST (Antimicrobial Susceptibility Test) testkort används för automatisk kvantitativ eller kvalitativ resistensbestämning av isolerade kolonier för de kliniskt mest signifikanta aeroba gramnegativa bakterierna, de grampositiva bakterierna *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *S. pneumoniae* och jäst (BioMérieux 2010b, s. 8-1).

Vitek® 2 -systemets AST-kort är automatiserade testmetoder baserade på MIC-tekniken som är utvecklad av MacLowry, Marsh och Gerlach. AST-kortet är en förminskad och förkortad version av den så kallade Doubling Dilution Technique -metoden (se figur 12). (BioMérieux 2010b, s. 8-4).

Vitek® 2 AST-P580 -resistensbestämningkort (se figur 11) är avsett för resistensbestämning av grampositiva bakterier i kliniska laboratorier (Timoharju 2011). Bakterier som undersöks med kortet är *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.* och

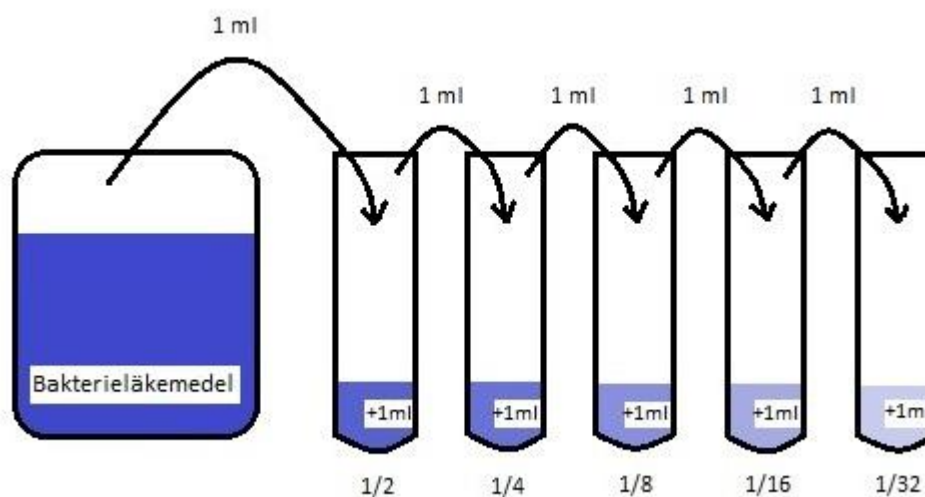
S. agalactiae. Bakterieläkemedel som undersöks med kortet är benzympenicillin, cefoxitin screen, clindamycin, erythromycin, fosfomycin, fusidic acid, gentamicin, inducible clidamycin resistance, levofloxacin, linezolid, moxifloxacin, mupirocin, nitrofurantoin, oxacillin, rifampicin, teicoplanin, tetracycline, tigecycline, tobramycin, trimethoprim/sulfamethoxazole och vancomycin. (BioMérieux u.å.c).



Figur 11. Vitek® 2 -analysatorns AST-P580 -kort för resistensbestämning efter avläsning.

Vitek® 2 AST-P629 -resistensbestämningkort undersöker, liksom AST-P580 -kortet, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.* och *S. agalactiae*. Bakterieläkemedel som undersöks med kortet är benzympenicillin, cefoxitin screen, ciprofloxacin, clindamycin, erythromycin, fusidic acid, gentamicin, inducible clidamycin resistance, linezolid, nitrofurantoin, oxacillin, quinupristin/dalfopristin, rifampicin, teicoplanin, tetracycline, tobramycin, trimethoprim, trimethoprim/sulfamethoxazole och vancomycin. (BioMérieux u.å.d). Det nya resistensbestämningkortet AST-P629 innehåller förbättringar för rifampicin och clindamycin jämfört med AST-P580 -kortet (BioMérieux u.å.b).

Systemets reagenskort för resistensbestämning har 64 brunnar som var och en innehåller olika bakterieläkemedel i varierande koncentrationer. En kontrollbrunn som endast innehåller mikrobiellt näringsmedium finns i alla kort. (BioMérieux 2010b, s. 8-4). Varje reagenskort har ett inbyggt rör som används för inokulation. Reagenskorten har en streckkod med information om produkttyp, LOT-nummer, utgångsdatum och en unik identifierare som kan sammankopplas med provet endera före eller efter kortet läggs in i systemet. (Pincus u.å., s. 2-3) Varje bakterieläkemedelskoncentration halveras i varje efterföljande brunn, så att om läkemedelskoncentrationen i första brunnen är X , så är koncentrationen i andra brunnen $X/2$, i tredje brunnen $X/4$ och så vidare. (Järvenpää & Rekiranta 2012, s. 16-17).



Figur 12. Schematisk figur av Doubling-dilution -tekniken.

För resistensbestämning gör Vitek[®] 2 -analysatorn en ny bakteriesuspension från den bakteriesuspension som i det tidigare skedet använts för bakterieidentifiering, genom att blanda ut den med 0,45 % natriumkloridlösning. Resistensbestämning kan även göras från en redan känd bakterie, vilket innebär att bakterieidentifiering inte krävs, men bakteriens namn måste då anges i analysatorn. I detta fall görs en bakteriesuspension från en renodling. Analysatorn tar även då en del av bakteriesuspensionen och blandar den med 0,45 % natriumkloridlösning. Den nya bakteriesuspensionen sugas automatiskt upp i reagenskortet vilket sedan förs till inkubation. Analysatorn följer med bakterietillväxten i

de olika brunnarna med jämna mellanrum, upp till 24 timmar. (Biomérieux 2010b, s. 8-4; Järvenpää & Rekiranta 2012, s. 16-17).

Vitek[®] 2 -analysatorn utför resistensbestämning genom att kontinuerligt övervaka bakterietillväxt i brunnarna i reagenskorten. Det optiska systemet utför detta skede. Transmittansoptiken använder synligt ljus för att direkt mäta bakterietillväxt. Denna optik baserar sig på en första ljusavläsning av en brunn innan en signifikant tillväxt har påbörjats. Ljustransmittanstester av samma brunn utförs var 15:e minut, där mätningen av bakterietillväxt görs genom hur mycket ljus som förhindras att gå genom brunnen. Optiken använder ljusemitterande dioder (LED) som producerar ljus vid lämpliga våglängder, och silikonfotodetektorer som fångar det transmitterade ljuset. Systemet är självkalibrerande. (BioMérieux 2008, s. 4-16).

För resistensbestämning uppskattar systemet varje bakteries tillväxtmönster tillsammans med olika bakterieläkemedel i jämförelse med tillväxtkontrollbrunnen, där bakterien växer fritt. Systemet använder sig av parametrar som baserar sig på tillväxttegenskaper för att möjliggöra lämplig inmatning för uträkning av MIC-värde. I resultattolkningen används en differentialanalys med hjälp av vilken Vitek[®] 2 skapar en algoritm som bestämmer resistensresultatet för varje bakterieläkemedel. MIC-värdet måste vara sammankopplat med organismens identifiering så att rätt klass kan tolkas. Den slutliga tolkningen som analysatorn ger för läkemedelskänslighet är enligt SIR-systemet, alltså S, I eller R. (BioMérieux 2010b, s. 8-4; Järvenpää & Rekiranta 2012, s. 17-18).

3.10.3 Kvalitetsaspekter

Skötsel av Vitek® 2 i slutet av dagen utförs när analysatorn inte är i bruk. Detta sker automatiskt enligt en inställd timer. Analysatorn startar rensning och sortering av dagens information. (BioMérieux 2010c, s. 15-7). Dagligen kontrolleras provkarusellens temperatur och det optiska systemet (VITEK® 2 u.å, s. 87-89). Till månadsservicen hör utbyte av natriumkloridlösning och pipettspetsar. Provkarusellen, rackerna, optiken, de andra delarna (som på engelska benämns boats, base pan, vacuum seal, vacuum chamber och drip pan) och SmartCarrier™ rengörs, samtidigt som avfallskärlet töms. (BioMérieux 2008, s. 7-10-7-32). Kvalitetskontroll av Vitek® 2 görs regelbundet med kända bakteriestammar (Timoharju u.å.b).

Det finns många felkällor vid analysering med Vitek® 2. För reagenskorten bör expeditionsdatum, kortfilm, kortets inbyggda rör, streckkod och förvaringsmiljö kontrolleras samt regelbundna kvalitetskontroller utförs. Natriumkloridlösningens sterilitet och pH bör kontrolleras regelbundet med odling och pH-mätningar. Bakterierna bör odlas på lämpliga näringsmedium och inkuberas i lämplig tillväxtmiljö och odlingen bör vara färsk före analys. Bakteriesuspensionen bör göras av enskilda kolonier och ha rätt McFarland samt omblandas ordentligt. Dispensette® -pumpen bör vara kalibrerad för att dosera rätt volym natriumkloridlösning. Tillverkning av bakteriesuspension och kortinmatning bör ske inom de angivna tidsramarna. (Timoharju, u.å.d).

4 Tidigare forskning om Vitek® 2

Det finns mycket forskning runt Vitek® 2 -analyser där identifiering och resistensbestämning har undersökts. Databasen PubMed har publicerat 807 vetenskapliga artiklar som behandlar ämnet Vitek® 2. Mängden artiklar som behandlar Vitek® 2 har ökat under det senaste årtiondet, men även äldre artiklar finns. Det finns forskningar som behandlar olika aspekter av Vitek® 2 samt dess identifiering och resistensbestämning med olika bakterier och bakterieläkemedel. Majoriteten av forskningarna resulterar i att Vitek® 2 -systemet ger snabba och tillförlitliga resultat.

I en undersökning av Funke och Funke-Kissling (2004, s. 4067) undersöktes 655 gramnegativa stavar med Vitek® 2 -analysatorn, varav 637 (97,3 %) stammar identifierades korrekt. Av det totala antalet gav 14 stammar (2,1 %) låg identifiering som krävde vidareundersökningar och fyra stammar (0,6 %) gav missvisande identifiering. Ingen stam blev oidentifierad. Av de 655 gramnegativa bakterierna var 36 *K. pneumoniae* och 26 *K. oxytoca* och av dessa identifierades 35 respektive 22 korrekt. I en annan studie där 281 stammar av gramnegativa bakterier undersöktes med Vitek® 2, där API 20 E™ användes som referensmetod, identifierades 237 (95 %) korrekt, sex (2,1 %) stammar felidentifierades och åtta (2,8 %) stammar förblev oidentifierade. (Ling, Tam, Liu & Cheng 2001, s. 2964).

Liknande resultat har fått i en studie av Funke och Funke-Kissling (2005, s. 84) där 364 grampositiva kocker identifierats med Vitek® 2 -analysatorn. 344 (94,5 %) stammar identifierades korrekt, 17 (4,7 %) stammar gav låg identifiering som kräver vidareundersökningar, en (0,3 %) stam identifierades inkorrekt och två (0,5 %) stammar förblev oidentifierade. För resistensbestämning av grampositiva kocker visade resistensbestämningen med Vitek® 2 överensstämmelse på 90-100 % med lappdiffusionsmetoden. (Ligozzi, m.fl. 2002, s. 1681).

En studie om Vitek® 2 NH-identifieringskort visar att av totalt 188 stammar identifierades 171 (91 %) stammar korrekt, en (0,5 %) stam felidentifierades, 11 (5,8 %) gav låg identifiering och fem (2,7 %) stammar kunde inte klassificeras. Resultatet av studien visar att NH-kortet är en bra metod för identifiering av diverse grupper av krävande bakterier. (Valenza, Ruoff, Vogel, Frosch & Abele-Horn 2007, s. 3493). En annan studie undersökte

totalt 105 krävande bakteriestammar, varav 100 (95 %) stammar identifierades korrekt, fyra stammar felidentifierades och en stam förblev oidentifierad (Carrara, m.fl. 2008, s. 771).

I en studie om Vitek® 2 ANC-kort, där 261 anaeroba bakterier undersöktes, identifierades 257 (98,5 %) bakterier korrekt till släktstadiet. Av 251 anaeroba bakterier identifierades 217 (86,5 %) korrekt till artstadiet. Två (0,8 %) stammar förblev oidentifierade, åtta (3,1 %) stammar identifierades inkorrekt och 21 (8,1 %) stammar gav låg identifiering. (Mory, Alauzet, Matuszeswski, Riegel & Lozniewski 2009, s. 1923). I en studie av Lee, Degener, Welling och Veloo (2011, s. 1745) undersöktes Vitek® 2 ANC-identifieringskort, totalt 301 stammar. Av de identifierades 239 (79,4 %) bakterier korrekt till släktstadiet. 181 (60,1 %) bakterier identifierades korrekt till artstadiet.

Ett tidigare examensarbete inom området som kan nämnas är Järvenpää och Rekirantas examensarbete vid Metropolian Ammattikorkeakoulu från 2012. De verifierade resistensbestämningsskort för Vitek® 2 -analysatorn med grampositiva bakterier. Analysatorns resultat jämfördes med lappdiffusions- och E-test®-metoder. Resultatet blev att resistensbestämningssvaren från Vitek® 2 -analysatorn stämmer väl överens med rutinmetoder och är därmed en användbar metod för resistensbestämning av grampositiva bakterier.

En studie gjord i Åbo visar att vid behandling av i medeltal 22 prover per dag, sparar användning av Vitek® 2 -analysatorn 80 minuter per dag av personalens arbetstid jämfört med rutinmetoder. På en 24 timmars intervall skulle, av totalt 327 prov, 258 (71 %) av identifierings- och resistensbestämningssvaren varit tillgängliga åtminstone 16 timmar tidigare med Vitek® 2 jämfört med rutinmetoder. (Rantakokko-Jalava, Elo-Lehtonen & Meurman 2006, s. 43).

5 Undersökningens genomförande och metoder

Examensarbetets praktiska del bestod huvudsakligen av bakterieodling och bakterieridentifiering samt resistensbestämning med Vitek[®] 2 -analysatorn. Behandling av resultat och skapande av tabeller i enlighet med resultaten var även en viktig del i arbetets utförande. Den praktiska delen som utfördes på Nordlab tog sex veckor.

Examensarbetet fokuserade mest på hur väl Vitek[®] 2 -analysatorn klarar av att identifiera grampositiva bakterier, gramnegativa bakterier och HACEK-bakterier från kända kontrollstammar samt stammar av *K. pneumoniae* och *K. oxytoca* från kliniska patientprov. För att göra undersökningen mer omfattande togs även anaeroba bakterier från kända kontrollstammar med i examensarbetets praktiska del.

En del av examensarbetet gick också ut på att jämföra Vitek[®] 2 -analysatorns resistensbestämningsförmåga av stafylokocker mellan de två olika resistensbestämningskorterna AST-P580 och AST-P629 samt med tidigare utförda rutinmetoder. Rutinmetoder som jämfördes med analysatorn var lappdiffusionsmetod och E-test[®]. Resultaten av rutinmetoderna togs från mikrobiologiska laboratoriets Samba-dataprogram.

I examensarbetets praktiska del för bakterieidentifiering användes färdiga kit med kända bakteriestammar. I kiten fanns nio grampositiva bakterieteststammar som var *E. casseliflavus*, *E. saccharolyticus*, *K. kristinae*, *L. monocytogenes*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri*, *S. equi*, *S. pneumoniae*, *S. thermophilus*, tio gramnegativa bakteriestammar som var *A. baumannii*, *E. hormaechei*, *E. meningoseptica*, *K. oxytoca*, *O. anthropi*, *P. vulgaris*, *S. sonnei*, *S. maltophilia*, två olika stammar av *P. aeruginosa* och nio HACEK-bakterier som var *A. aphrophilus*, *E. corrodens*, *E. aerogenes*, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *N. lactamica*, *O. urethralis*, *P. polymyxa* och *S. epidermidis*. De sju anaeroba bakterieteststammarna som användes var *B. ovatus*, *B. vulgatus*, *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. sordellii*, *C. striatum* och *P. distasonis*. Några av de ovanstående bakterierna saknar klinisk betydelse, det vill säga att de är apatogena för människan. Dessa togs ändå med i examensarbetet eftersom de ingick i de färdiga kiten med kända bakteriestammar.

I undersökningen användes 15 bakteriestammar av *K. pneumoniae* och 14 bakteriestammar av *K. oxytoca* från kliniska patientprov. Därtill undersöktes en *K. pneumoniae* -stam för kvalitetskontroll som tidigare gett svaret *K. oxytoca* med Vitek® 2 -analysatorn.

För undersökning av resistens användes två kvalitetskontrollstammar, *S. aureus* ATCC29213 och *E. faecalis* ATCC29212, vilka inte togs med i resultaträkningen av resistensbestämning. Därtill letades det fram kliniska patientprov samt kvalitetskontrollprov (LabQuality + UKNEQAS) som hade innehållit relativt resistentastammar av olika stafylokockarter, sammanlagt 20 prov. Dessa utgjordes av *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticum*, *S. warneri* och *S. hominis*.

De 29 klebsiellastammarna från kliniska patientprov, kvalitetskontrollstammen *Klebsiella pneumoniae*, stafylokockerna och enterokocken hade tidigare lagts i mjölkkrör (som innehåller mjölkglycerolbaserad lösning) och frusits ner av Nordlabs personal för att säkerställa bakteriernas överlevnad så att de kunde användas i ett senare skede.

De kända kontrollstammarna undersöktes med Vitek® 2 -analysatorn och överrensstämningen av resultaten kontrollerades. Klebsiellastammarna undersöktes även med Vitek® 2 och resultaten jämfördes med resultat från rutinmetoden API 20 E™. En del av klebsiellastammarna hade redan undersökts manuellt med API 20 E™, medan vissa endast hade undersökts med Vitek® 2 och måste därför undersökas med API 20 E™.

Alla gramnegativa bakterier, inklusive klebsiella-arterna, undersöktes i Vitek® 2 med GN-kort medan grampositiva bakterier undersöktes med GP-kort. Till HACEK-bakterierna användes NH-kort och till anaeroba bakterier användes ANC-kort för identifiering.

Till resistensbestämningen som gjordes på stafylokocker användes både det gamla resistensbestämningkortet AST-P580 och det nya resistensbestämningkortet AST-P629.

Alla undersökta bakterier togs ur kylskåpet eller frysen i olika skeden, eftersom Vitek® 2 -analysatorn kräver nyodlade bakteriekolonier för identifiering och resistensbestämning och på grund av provernas stora mängd kunde inte alla analyseras samtidigt.

Till Vitek® 2 identifierings- och resistensbestämningskort kan inte direkta kliniska prov eller andra källor som innehåller blandflora användas (BioMérieux 2010b, s. 8-13). Alla bakteriestammar som undersöktes i detta examensarbete borde teoretiskt sett vara rena, alltså innehålla endast en bakteriestam, eftersom bakterier tas från renodlingar vid nedfrysning i mjölkror. Därför behövdes inga renodlingar eller övriga test göras före identifiering med Vitek® 2 -analysatorn. För att vara på säkra sidan, gjordes renodlingar av *P. aeruginosa* ATCC9721, *E. hormaechei* och kvalitetskontrollstammen av *K. oxytoca*, eftersom dessa bildade kolonier som var morfologiskt olika vid första odlingen.

I varje arbetsskede märktes skålarna och rören med provnummer och bakterienamn. Alla prover namngavs med registreringsnumret som fåtts i Samba-datasystemet. Eftersom proven namngavs med dessa registreringsnummer förblev patientuppgifterna skyddade.

5.1 Undersökningens praktiska genomförande

Första dagen introducerades Vitek® 2 -analysatorns analyseringsmetod, användning av Vitek® 2 och SmartCarrier™, tillredning av bakteriesuspension och avläsning av resultat (se figur 13). Att på förhand bekanta sig med material om analysatorn och dess funktion gav en helhetsbild av undersökningsprocessens olika skeden. Detta hjälpte vid undersökningens praktiska del och gjorde att arbetet till stor del kunde utföras självständigt. Skyddskläder såsom engångshandskar och -förkläden användes genom hela undersökningsprocessen.



Figur 13. Användning av SmartCarrier™ och tillverkning av bakteriesuspension.

Alla kända kontrollstammar hör till Biomerieux Quality Control (QC) Set, så inga övriga kvalitetskontrollprover behövdes. Före analys kontrollerades alla reagenskort, så att de tillhörde samma tillverkningsnummer.

Kontrollstammarna togs ur kylskåpet för att sedan kunna odlas på näringsmedium. För grampositiva bakterier användes blodskålar och för gramnegativa bakterier användes kromogena (CHROMagar™) skålar samt chokladskålar, HACEK-bakterier odlades på chokladskålar och anaeroba bakterier odlades på FAA (Fastidious Anaerobe Agar)-skålar samt chokladskålar, eftersom vissa anaeroba bakterier även kan växa aerobt.

De färdiga kiten med kända kontrollstammar bestod av LyfoCults® Plus som är ett allt-i-ett-system som förvarar och löser upp frystorkade mikroorganismer. En droppe bakteriesuspension från LyfoCults® Plus odlades på näringsmedium med en 10 µl odlingsögla. (BioMérieux 2010a).

Mjölkrören som innehöll klebsiellastammarna från patientprov (se figur 14), kvalitetskontrollstammen av *K. pneumoniae* samt stafylokockerna och enterokocken för resistensbestämning togs ur frysen och tinades upp före odling. Klebsiellastammarna odlades på kromogena skålar medan stafylokockerna och enterokocken odlades på endera blod- eller chokladskål.

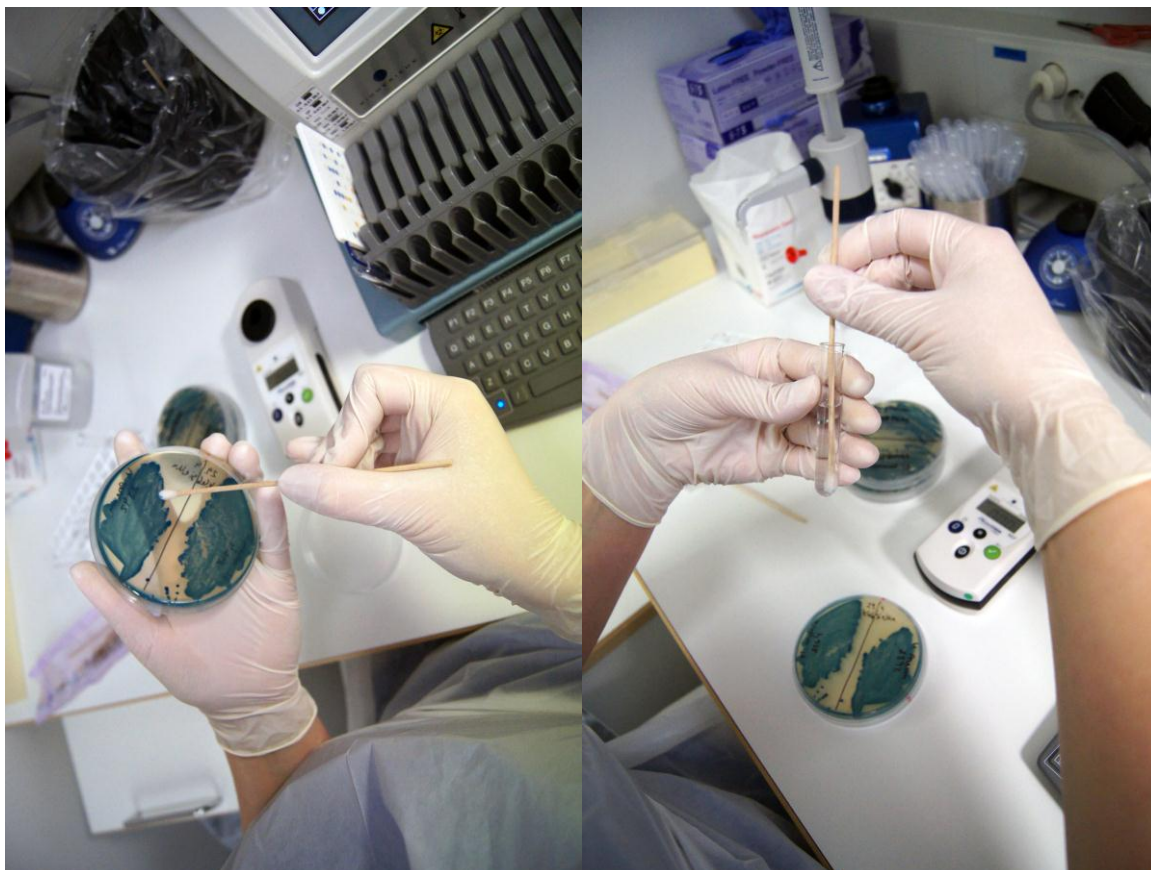


Figur 14. Mjölkrör med frysta bakteriestammar.

Efter odling inkuberas bakterierna i värmeskåp med temperaturen 35°C. Bakterier som odlats på blodskål eller chokladskål inkuberas i 5 % -ig CO₂-miljö och bakterier som odlats på kromogena skålar i vanlig syremiljö. De anaeroba bakterierna inkuberas i en specifik behållare tillsammans med en speciell påse (AnaeroGen™) som åstadkommer anaerob miljö. Bakterierna inkuberas ett dygn. De HACEK-bakterier, som var mer krävande och tillväxte långsamt, inkuberas två dygn.

5.1.1 Förberedelse av bakteriesuspension

En steril bomullssticka användes för att ta en lämplig mängd kolonier från en renodling (se figur 15) och överföra de till ett provrör av plast innehållande 3 ml steril 0,45 % -ig natriumkloridlösning (BioMérieux 2010b, s. 8-7). Bakteriekolonierna som fanns på stickan blandades i natriumkloridlösningen genom att snurra stickan mot väggen av plaströret.



Figur 15. Val av bakteriekolonier för tillverkning av bakteriesuspension.

För att få rätt mängd natriumkloridlösning användes en Dispensette® -pump. Grumligheten justerades och mättes med en grumlighetsmätare, DensiChek™ (se figur 16). (BioMérieux 2010b, s. 8-7). För GP- och GN-kort användes en grumlighet på 0,45-0,62 McFarland och för NH- och ANC-kort användes 2,7-3,3 McFarland. För att kalibrera DensiChek™ mellan mätningarna av grumligheten användes ett så kallat nollprov, det vill säga ett rör som endast innehöll natriumkloridlösning.



Figur 16. Dispensering av natriumkloridlösning med Dispensette® samt kontroll av McFarland med DensiChek™.

5.1.2 Inokulation

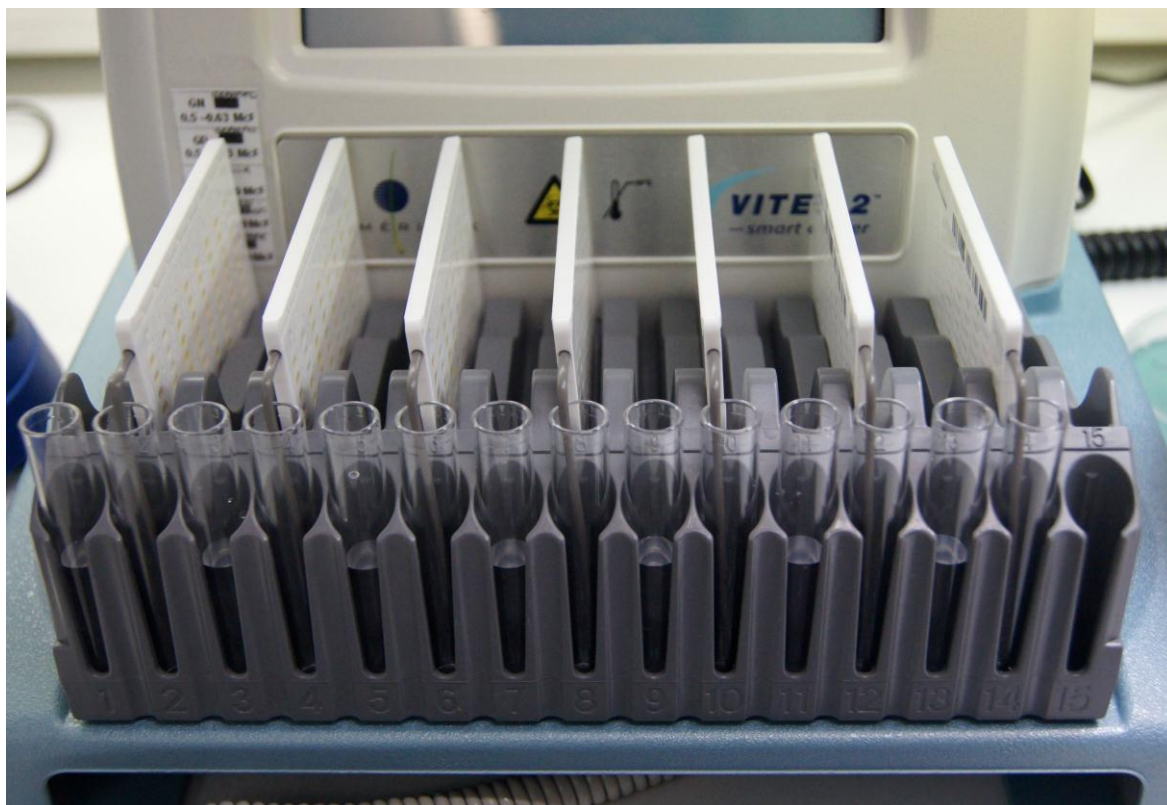
Identifierings- och resistensbestämningskorten som användes i Vitek® 2 -systemet förvarades i kylskåp men togs fram ungefär 15 minuter före användning för att nå rumstemperatur.

Identifieringskorten inokulerades med bakteriesuspension genom att använda integrerad vakuumpappatur. Provröret med bakteriesuspension placerades i en rack och identifieringskortet placerades på tillhörande plats, efter att dess streckkod avlästs (se figur 17). Kortets inbyggda rör måste placeras i provröret med suspensionen (Pincus u.å., s. 3-4).



Figur 17. Avläsning av identifieringskortets streckkod och placering i provrack.

För resistensbestämning placerades provröret med bakteriesuspension i en rack med ett tomt provrör på platsen bredvid. I det tomma provröret placerades resistensbestämningskortets inbyggda rör efter att kortets streckkod avlästs (se figur 18). Bakteriesuspensionerna för resistensbestämning får inte vara äldre än 30 minuter innan de placeras i analysatorn. (BioMérieux 2010b, s. 8-4).



Figur 18. Placering av provrör och resistensbestämningskort vid resistensbestämning av färdigt identifierade bakterier.

Racken kunde placeras manuellt i analysatorn när en grön lampa lyste (se figur 19). Analysatorns lock stängdes och analysatorn kontrollerade att allt var redo för analysering. Därefter började analysatorn automatiskt analysera proven.



Figur 19. Placering av rack i Vitek® 2 -analysatorn.

Analysatorn pipetterar automatiskt natriumklorid i de tomma rören för resistensbestämning. Därefter pipetteras en mängd vätska från röret med bakteriesuspension och blandar den med natriumkloriden.

Bakteriesuspensionen sugs genom det inbyggda röret in i kortets mikrokanaler och fyller alla testbrunnar genom ett vakuumsystem. Inokulerade kort passerar en mekanism som klipper av de inbyggda rören och tillsluter korten innan de flyttas in i karusellinkubatorn. (Pincus u.å., s. 4). Efter analyseringen togs de använda testkorten, provracken och provrören bort från analysatorn.

Nästa dag, då körningen med Vitek® 2 var färdig, kontrollerades identifierings- och resistensbestämningarna från pappersutskriften för att upptäcka eventuella fel och kunna göra om analysen.

Undersökningen tog sammanlagt sex veckor. Den sista veckan tog de nya resistensbestämningarna AST-P629 slut och därför gjordes de sista resistensbestämningarna av personalen på Nordlab när mera reagenskort anlände.

5.2 Behandling av resultat

Vitek® 2 -analysatorn ger identifierings- och resistensbestämningresultat för varje prov både elektroniskt och som pappersutskrift. Resultaten kan även ses på den fristående datorn som hör till Vitek® 2 -analysatorn.

I identifieringspappersutskriften (se bilaga 10 och 11) som fås från Vitek® 2 -analysatorn finns provnummer, bakterienamn, det använda reagenskortets typ samt analyseringstid. Utskriften består av en testreaktionstabell och det slutliga identifieringsresultatet. I testreaktionstabellen finns märkt varje reaktions resultat som positiv eller negativ, och en stjärna (*) när en kontrollstam gett fel reaktion mot det förväntade. Från utskriften fås även Vitek® 2 -analysatorns fastställda bakterienamn och en procent, som bestämmer identifieringens pålitlighet. Denna procent fattas hos de kända kontrollstammarna. Även möjliga vidareundersökningar som rekommenderas av analysatorn syns på utskriften. Inga vidareundersökningar gjordes eftersom behov saknades. När Vitek® 2 -analysatorn inte kunde identifiera en bakterie, gav den utlåtandet "Not claimed", vilket i denna undersökning endast påträffades med kända kontrollstammar undersökta med NH-kort.

I resistensbestämningpappersutskriften (se bilaga 12 och 13) som fås från Vitek® 2 finns provnummer, bakterienamn, det använda reagenskortets typ samt analyseringstid. Utskriften består av en resistenstabell som anger MIC- och S-, I-, och R-värden för olika bakterieläkemedel. Även möjliga vidareundersökningar som rekommenderas av analysatorn syns på utskriften, som till exempel vid MRSA. Inga vidareundersökningar gjordes eftersom behov saknades.

Personalen på Nordlab hade sammanställt en tabell med *K. pneumoniae* och *K. oxytoca* -stammar, som endera redan undersökts med Vitek® 2 eller rutinmetoden API 20 E™. Från de klebsiellastammar där identifiering gjorts med rutinmetod, kontrollerades identifieringsprocenten genom att införa det numeriska resultatet i BioMérieux:s Apiweb® -internetdatabas och analyserades sedan med Vitek® 2. De klebsiellastammar som tidigare identifierats endast med Vitek® 2 analyserades igen med Vitek® 2 och undersöktes även med API 20 E™. Om identifieringen med API 20 E™ och Vitek® 2 gav olika resultat, undersöktes dessa en gång till.

6 Resultat och tolkning

I undersökningen för kända kontrollstammar användes till en del svåridentifierade bakterier, som inte alltid kan identifieras på artnivå med Vitek® 2. Dessa försvårade uppskattningen av resultatet. I identifieringsresultaten togs i beaktande alla kända kontrollstammar som undersöktes med Vitek® 2, inklusive de bakterier som analysatorn inte kunde identifiera.

För klebsiellastammarna jämfördes de resultat som Vitek® 2 gav med resultat från API 20 E™. Dessutom jämfördes de biokemiska reaktioner som undersöktes med de båda metoderna.

Vid resistensbestämningen jämfördes de gamla korten AST-P580 och de nya korten AST-P629 i Vitek® 2, men även med tidigare utförda rutinmetoder, som MIC med E-test® samt lappdiffusionsmetod.

6.1 Identifiering av kända kontrollstammar med Vitek® 2

Undersökningen omfattade sammanlagt 36 kända kontrollstammar. Dessa stammar undersöktes med Vitek® 2 för att se om analysatorn klarar av att identifiera kontrollstammarna korrekt.

Tabell 1 är ett utdrag från bilaga 1 och beskriver resultatet av identifiering av kända kontrollstammar med Vitek® 2. I de två första kolumnerna finns bakterienamn och ATCC- eller provnummer. I den tredje och fjärde kolumnen visas identifieringskorttyp (GN, GP, NH eller ANC) respektive analysid, som varierar mellan 3,5-7 timmar. Den sista kolumnen beskriver identifieringsresultatet med Vitek® 2 tillsammans med analysmeddelanden som eventuellt uppkommit vid identifieringen. Tabellens gröna fält visar kontrollstammar som identifierats korrekt med analysatorn. Gula fält visar kontrollstammar som identifierats bristfälligt och röda fält visar kontrollstammar som inte alls kunnat identifieras av analysatorn.

Tabell 1. Utdrag från bilaga 1. Kända kontrollstammars identifiering med Vitek® 2 - analysatorn enligt färgkoder. Kontrollstammarna är identifierade korrekt (grön), bristfälligt (gul) eller oidentifierade (röd).

Bakterie	ATCC	ID-kort	Analytid	Resultat
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9721	GN	4,75 h	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Shigella sonnei</i>	25931	GN	4,75 h	<i>Shigella sonnei</i> . ID analysis messages: confirm by serological tests
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	49619	GP	5,00 h	<i>Streptococcus pneumoniae</i> . Biochemical details: SAL - (borde vara +)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	NH	6,00 h	Not claimed. Biochemical details: LeuA: + (borde vara -)
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	19424	NH	6,00 h	Low discrimination. Critical pathogen
<i>Clostridium perfringens</i>	13124	ANC	6,00 h	<i>Clostridium perfringens</i>

Efter analysering av de kända kontrollstammarna med Vitek® 2 sammanställdes tabell 2 som visar hur väl analysatorn har identifierat de olika bakteriegrupperna. Bakteriegrupperna delas in i GN, GP, NH och ANC enligt bakteriens egenskaper. Samma resultat innebär att analysatorn identifierade kontrollstammen korrekt, medan inget resultat innebär att analysatorn inte kunde identifiera kontrollstammen. Av de 36 undersökta kända kontrollstammarna identifierade Vitek® 2 -analysatorn 33 (92 %) kontrollstammar korrekt, medan tre (8 %) inte kunde identifieras.

Tabell 2. Förkortad version av bilaga 1. Kända kontrollstammars identifiering med Vitek® 2 -analysatorn enligt ID-kort.

ID-kort	Samma resultat (%)	Inget resultat (%)	Antal sammanlagt
GN	10 (100)	0 (0)	10
GP	9 (100)	0 (0)	9
NH	7 (70)	3 (30)	10
ANC	7 (100)	0 (0)	7
Sammanlagt (%)	33 (92)	3 (8)	36

Tabell 2 kan jämföras med tidigare resultat (se bilaga 2) som framkommit med samma Vitek® 2 -analysator på Nordlab. Studien är gjord av Maaret Suokas år 2013 och undersökte totalt 32 bakteriestammar. Av dessa identifierades 25 (78 %) korrekt, medan sju (22 %) identifierades inkorrekt.

6.2 Identifiering av *Klebsiella pneumoniae* och *Klebsiella oxytoca* med Vitek® 2

Undersökningen omfattade sammanlagt 30 klebsiellastammar, varav 29 var patientprov och en var en känd kontrollstam. Av dessa var 16 prov *K. pneumoniae* och 14 prov *K. oxytoca*.

Klebsiellastammarna identifierades med Vitek® 2 -analysatorns GN-kort och resultatet jämfördes sedan med rutinmetoden API 20 E™. Tabell 3 är ett utdrag från bilaga 3, som visar om Vitek® 2 identifierade klebsiellastammarna likadant som API 20 E™. I den första kolumnen visas bakterieart och provnummer. I andra och tredje kolumnen visas analysdatum respektive analystid med Vitek® 2. Den fjärde och femte kolumnen beskriver resultaten av identifiering med Vitek® 2 respektive API 20 E™ där även identifieringsprocenten visas. Tabellens gröna fält visar klebsiellastammar som identifierats korrekt av Vitek® 2 -analysatorn och tabellens röda fält visar klebsiellastammar som identifierats inkorrekt av Vitek® 2 -analysatorn.

Tabell 3. Utdrag från bilaga 3. Klebsiellastammarnas identifiering med Vitek® 2 - analysatorn jämfört med rutinmetoden API 20 E™. Identifieringen är korrekt (grön) eller inkorrekt (röd).

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Analys-datum	Analystid Vitek® 2	Resultat Vitek® 2	Resultat API 20 E™
T2997	24.4	6,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Excellent identification. 96 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 97,6 %
T2167	30.4	5,50 h	<i>Raoultella planticola</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 97,6 %
T2165	3.5	4,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Very good identification. 95 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 93 %

Klebsiella oxytoca

T5515	25.4	3,75 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Excellent identification. 98 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 99 %
T2164	30.4	8,00 h	<i>Raoultella planticola</i> . Good identification. 91 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 94,8 %
T2235	30.4	4,00 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Very good identification. 95 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 94,8 %

Tabell 4 är en sammanställning av de reaktioner som undersökts både med Vitek® 2 - analysatorn och rutinmetoden API 20 E™ vid identifiering av *K. pneumoniae* och *K. oxytoca*. Tabellen visar om Vitek® 2 ger samma reaktioner som API 20 E™. Sammanlagt gav Vitek® 2 -analysatorn 259 (96 %) korrekta reaktionsresultat och 11 (4 %) felaktiga reaktionsresultat.

Tabell 4. Jämförelse av reaktioner mellan Vitek® 2 -analysatorn och API 20 E™.

Reaktion	Samma resultat (%)	Olika resultat (%)	Antal sammanlagt
LDC	23 (77)	7 (23)	30
ODC	30 (100)	0 (0)	30
CIT	28 (93)	2 (7)	30
H2S	30 (100)	0 (0)	30
UREA	29 (97)	1 (3)	30
D-GLUK	30 (100)	0 (0)	30
MAN	30 (100)	0 (0)	30
SOR	29 (97)	1 (3)	30
SAC	30 (100)	0 (0)	30
Sammanlagt (%)	259 (96)	11 (4)	270

Tabell 5 är en sammanfattning av bilaga 3 och visar det totala identifieringsresultatet av *K. pneumoniae* och *K. oxytoca* med Vitek® 2 -analysatorn jämfört med rutinmetoden API 20 E™. Av de 16 *K. pneumoniae* -stammarna identifierades 15 (94 %) korrekt medan en (6 %) gav resultatet *Raoultella planticola* i Vitek® 2 -analysatorn. Av de 14 *K. oxytoca* -stammarna identifierades 12 (86 %) korrekt medan två (14 %) gav resultatet *R. planticola* i Vitek® 2 -analysatorn.

Tabell 5. Sammanfattning av bilaga 3. Det totala identifieringsresultatet av *Klebsiella pneumoniae* och *Klebsiella oxytoca* mellan Vitek® 2 -analysatorn och API 20 E™.

Bakterie	Samma resultat (%)	Olika resultat (%)	Antal sammanlagt
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15 (94)	1 (6)	16
<i>Klebsiella oxytoca</i>	12 (86)	2 (14)	14
Sammanlagt (%)	27 (90)	3 (10)	30

6.3 Resistensbestämning med Vitek® 2

Undersökningen omfattade sammanlagt 20 stafylokocker från patientprov. Av dessa var elva *S. aureus*, fyra *S. epidermidis*, tre *S. hominis*, en *S. haemolyticus* och en *S. warneri*.

De färdigt identifierade stafylokockerna undersöktes med Vitek® 2 -analysatorns resistensbestämningkort för att bestämma deras resistens. Resistensbestämningkorten som användes i undersökningen var AST-P580 och AST-P629. Resultatet jämfördes med rutinmetoderna E-test® och lappdiffusionsmetod. Resistensresultaten från rutinmetoderna hämtades från laboratoriets Samba-datasystem. Dessutom jämfördes de två resistens-bestämningkorten med varandra. De två rutinmetoderna jämfördes även med varandra för att kontrollera deras överensstämmelse.

Tabell 6 är en sammanställning av bilaga 4, 5, 6 samt 7 och visar resultatet av resistensbestämning med Vitek® 2 jämfört med rutinmetoderna. Första kolumnen visar de bakterieläkemedel som testats både med Vitek® 2 och rutinmetoder. Den andra kolumnen visar om Vitek® 2 har gett samma resultat som rutinmetoderna. Detta innebär att både Vitek® 2 och rutinmetoderna gett endera känsligt (S-S), resistent (R-R) eller osäkert (I-I) resultat enligt resistensklassificeringen. De övriga

kolumnerna visar för vilka bakterieläkemedel det har uppstått fel av olika grad, samt det sammanlagda antalet bakterier för vilka de olika bakterieläkemedlen undersökts.

Avvikelser klassificeras som mycket stort fel (very major error), stort fel (major error) och litet fel (minor error). Det största felet, very major error, innebär att Vitek® 2 -analysatorn anger bakterierna som känsliga (S), medan rutinmetoderna anger bakterierna som resistenta (R). Major error -felet är tvärtom, vilket innebär att Vitek® 2 -analysatorn anger bakterierna som resistenta medan rutinmetoderna anger bakterierna som känsliga. Vid minor error -resultat är resultatet osäkert (I) medan rutinmetoderna anger bakterierna som endera känsliga eller resistenta. Dessutom används en kategori med annat resultat, vilket innebär att Vitek® 2 -analysatorn anger bakterierna som endera känsliga eller resistenta, medan rutinmetoderna ger osäkra resultat.

Av totalt 452 undersökningar av 18 olika bakterieläkemedel gav 392 (86,7 %) samma resultat i Vitek® 2 som med rutinmetoderna. 13 (2,9 %) very major error fel, 12 (2,7 %) major error fel, 23 (5,0 %) minor error fel och 12 (2,7 %) andra resultat uppstod.

Tabell 6. Sammanställning av bilaga 4, 5, 6 och 7. Resistensbestämningresultatet av olika bakterieläkemedel med Vitek® 2 jämfört med rutinmetoderna.

Bakterieläkemedel	Samma resultat (%)	Very major error (%)	Major error (%)	Minor error (%)	Annat resultat (%)	Antal sammanlagt (%)
PEN	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2
OX	45 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	45
CN	14 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	14
TOB	42 (91.3)	2 (4.3)	2 (4.3)	0 (0)	0 (0)	46
CIP	15 (94)	1 (6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
LEV	6 (86)	0 (0)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	7
MXF	6 (86)	0 (0)	0 (0)	1 (14)	0 (0)	7
E	44 (96)	2 (4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	46
DA	39 (86.7)	2 (4.4)	4 (8.9)	0 (0)	0 (0)	45
LZT	43 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	43
TEC	7 (70)	2 (20)	1 (10)	0 (0)	0 (0)	10
VAN	36 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	36
TE	10 (71)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (29)	14
TGC	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
FOS	6 (86)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
FD	16 (10)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
RD	26 (54)	0 (0)	0 (0)	22 (46)	0 (0)	48
SXT	29 (65.9)	3 (6.8)	4 (9.1)	0 (0)	8 (18.2)	44
Sammanlagt (%)	392 (86.7)	13 (2.9)	12 (2.7)	23 (5.0)	12 (2.7)	452

Tabell 7 är en sammanställning av bilaga 8 och jämför resistensbestämning mellan Vitek® 2 -analysatorns resistensbestämningkort AST-P580 och AST-P629. Första kolumnen visar vilka bakterieläkemedel som undersökts med båda resistensbestämningkorterna. Den andra kolumnen visar om resistensbestämningkortens resultat varit samma, vilket innebär att båda resistensbestämningkorterna gett känsligt (S-S), resistent (R-R), osäkert (I-I), positivt (POS-POS) eller negativt (NEG-NEG) resultat. Den tredje kolumnen visar olika resultat. Även det sammanlagda antalet undersökningar av olika bakterieläkemedel visas i tabellen.

Av totalt 280 undersökningar av 14 olika bakterieläkemedel gav 253 (90 %) samma resultat med båda resistensbestämningkorterna. 27 (10 %) gav olika resultat med de två resistensbestämningkorterna.

Tabell 7. Sammanställning av bilaga 8. Resistensbestämningresultatet av olika bakterieläkemedel mellan Vitek® 2 -analysatorns två olika resistensbestämningkort.

Bakterieläkemedel	Samma resultat (%)	Olika resultat (%)	Antal sammanlagt
FOX Sc.	20 (100)	0 (0)	20
PEN	20 (100)	0 (0)	20
OX	19 (95)	1 (5)	20
CN	20 (100)	0 (0)	20
TOB	19 (95)	1 (5)	20
ICR	19 (95)	1 (5)	20
E	20 (100)	0 (0)	20
DA	19 (95)	1 (5)	20
LZT	20 (100)	0 (0)	20
VAN	20 (100)	0 (0)	20
TE	20 (100)	0 (0)	20
FD	19 (95)	1 (5)	20
RD	1 (5)	19 (95)	20
SXT	17 (85)	3 (15)	20
Sammanlagt (%)	253 (90)	27 (10)	280

Tabell 8 är en sammanställning från bilaga 9 och jämför resistensbestämning mellan de två rutinmetoderna lappdiffusion och E-test®. Första kolumnen visar vilka bakterieläkemedel som undersökts med båda metoderna. Andra och tredje kolumnen visar om metoderna gett samma (S-S, R-R eller I-I) eller olika resultat. Sista kolumnen är det sammanlagda antalet bakterieläkemedel som undersökts.

Av totalt 65 undersökningar av 13 olika bakterieläkemedel gav 62 (95 %) samma resultat och 3 (5 %) olika resultat. Av dessa metoder är E-test[®] känsligare och därmed mer pålitlig än lappdiffusionsmetoden.

Tabell 8. Resistensbestämningsresultatet mellan lappdiffusionsmetod och E-test[®].

Bakterieläkemedel	Samma resultat (%)	Olika resultat (%)	Antal sammanlagt
OX	7 (100)	0 (0)	7
TOB	6 (100)	0 (0)	6
E	5 (83)	1 (17)	6
DA	5 (100)	0 (0)	5
LZT	5 (100)	0 (0)	5
VAN	1 (100)	0 (0)	1
RD	7 (100)	0 (0)	7
SXT	4 (67)	2 (33)	6
CLX	4 (100)	0 (0)	4
FOX	6 (100)	0 (0)	6
CXM	4 (100)	0 (0)	4
MEM	4 (100)	0 (0)	4
TZP	4 (100)	0 (0)	4
Sammanlagt (%)	62 (95)	3 (5)	65

Tabell 9 är en sammanställning av bilagorna 4 till 9 och visar det totala resultatet av alla metoder jämfört med varandra. Metod 1 är lappdiffusionsmetod, metod 2 är E-test[®], metod 3 är Vitek[®] 2 -resistensbestämningskort AST-P580 och metod 4 är Vitek[®] 2 -resistensbestämningskort AST-P629. Lappdiffusionsmetod gav 91,0 % överensstämmelse, E-test[®] gav 93,5 % överensstämmelse, Vitek[®] 2 AST-P580 gav 88,2 % överensstämmelse och Vitek[®] 2 AST-P629 gav 93,6 % överensstämmelse jämfört med de ovannämnda metoderna.

Tabell 9. Sammanställning av bilagorna 4 till 9. Jämförelse av de olika metoderna som användes vid resistensbestämning, där metod 1 avser lappdiffusionsmetod, metod 2 E-test®, metod 3 Vitek® 2 AST-P580 och metod 4 Vitek® 2 AST-P629.

	Metod 1	Metod 2	Metod 3	Metod 4
Metod 1	100,0 %	95,4 %	76,6 %	92,0 %
Metod 2	95,4 %	100,0 %	86,0 %	92,5 %
Metod 3	76,6 %	86,0 %	100,0 %	90,0 %
Metod 4	92,0 %	92,5 %	90,0 %	100,0 %
Medeltal	91,0 %	93,5 %	88,2 %	93,6 %

7 Diskussion och kritisk granskning

Avsikten med detta examensarbete var att validera Vitek® 2 -analysatorn genom undersökningar av dess förmåga att identifiera och utföra resistensbestämningar av olika bakterier. Syftet var att undersöka Vitek® 2 -analysatorns pålitlighet vid identifiering av de olika bakterierna, hur bra identifieringen av klebsiellastammar stämde överens mellan Vitek® 2 och rutinmetoden API 20 E™. Syftet var också att jämföra resistensbestämning med Vitek® 2 -analysatorn och med rutinmetoderna lappdiffusionsmetod och E-test® samt att jämföra analysatorns två resistensbestämningkort AST-P580 och AST-P629 för att se om det nya AST-P629 -kortet kunde tas i bruk på laboratoriet.

Examensarbetet behandlade alla tre skeden i laboratorieundersökningsprocessen vid identifiering och resistensbestämning med Vitek® 2 -analysatorn. I den teoretiska bakgrunden ingick förutom bakterieuppbyggnad och information om olika bakterier även provtagning, transport och förvaring av prov, identifiering och resistensbestämning med rutinmetoder och Vitek® 2, samt övrig relevant information inom ämnet. Rubrikerna i den teoretiska bakgrunden kompletterade varandra och texten var strukturerad på ett logiskt sätt.

Undersökningens första skede var att planera tillvägagångssättet och hur den praktiska undersökningen skulle utföras. Det var viktigt att på förhand bekanta sig med Vitek® 2 -analysatorn och dess olika skeden som gäller identifiering och resistensbestämning av bakterier för att kunna utföra undersökningen korrekt. Enligt överenskommelse med personalen på Nordlab, undersöktes en viss mängd prov varje förmiddag med Vitek® 2 -analysatorn. Eftersom antalet prov som kunde undersökas varje dag var begränsat, behövdes inte många timmar per dag på laboratoriet. Resten av arbetsdagen användes till litteratursökning och skrivande av den teoretiska bakgrunden.

Sett från ett professionellt perspektiv är tystnadsplikt en självklarhet vid behandling av patientprov. I stället för användning av långa registreringsnummer diskuterades ett löpande nummersystem för att hålla patientpuppgifterna mer sekretessbelagda. Registreringsnumren valdes att användas eftersom de gjorde resultattolkningen lättare. Dessutom hade då Vitek® 2 -analysatorn och de tidigare utförda rutinmetoderna samma numrering, vilket försnabbade resultatjämförelsen. En annan fördel med användning av registreringsnummer är att samma prov lätt kan hittas och användas i eventuella fortsatta undersökningar.

Resultaten sammanställdes efter den praktiska undersökningen. Tabeller och figurer sammanställdes för att få resultat och text mer lättförståelig. För att få mer ingående statistiska analyser skulle det ha krävts både mer material och tid, men den insamlade informationen gav ändå svar på alla frågeställningar.

För validering av en metod, i detta fall Vitek® 2 -analysatorn, krävs en jämförelse mot en annan referensmetod. Som referensmetod i denna undersökning användes rutinmetoder som dagligen används på Nordlab. Vid sammanställning av resultat har respondenterna utgått från att resultaten från rutinmetoderna har varit korrekta och därför jämfört Vitek® 2 mot dem. Sjukhusmikrobiologen Markku Koskela vid Uleåborg universitetssjukhus menar dock att Vitek® 2 är mycket pålitligare för identifiering av klebsiellastammar än rutinmetoden API 20 E™. Detta innebär, att även om respondenterna i denna undersökning i resultatet angett att Vitek® 2 har gett fel resultat, är det troligen rutinmetoden API 20 E™ som har gett fel resultat. För identifiering av Klebsiella innebär "fel resultat" att API 20 E™ gett resultatet *Klebsiella pneumoniae* eller *Klebsiella oxytoca*, medan Vitek® 2 gett resultatet *Raoultella planticola*. Detta kan bero på att

Raoultella planticola tidigare hette *Klebsiella planticola* och är nära besläktad med *Klebsiella*-arter (Kanki, Yoda, Tsukamoto & Shibata 2002; Castanheira, m.fl. 2009).

Markku Koskela menar även, att rutinmetoden E-test[®] är mycket pålitligare för resistensbestämning än Vitek[®] 2. Skillnader som uppstått i resultatet mellan dessa metoder beror på metodavvikelser, och kan egentligen inte beskrivas som felaktiga. Därför kan resultatet visa små fel i teorin, vilka i praktiken inte skulle vara felaktiga, se bilaga 6 och 7 för exempel.

Eftersom trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT) är en bakterieläkemedelskombination som bildar en bakterietillväxt som påminner om en slöja på näringsmedium (avläsningszonen blir svårtolkad), blir tolkningen av resistens på alla sätt svår i jämförelse med endast ett bakterieläkemedel med vilken metod som helst. Eftersom tolkningen är svår kan det lätt förekomma fel vid jämförelse av metoder för detta bakterieläkemedel.

Överlag har very major, major och minor errors varit få vid jämförelse av Vitek[®] 2 med olika metoder. Vid jämförelse av två olika metoder förekommer det alltid några avvikelser. De kommersiella metoderna är långsamma vid förändring av referensvärden (standarder) och även därför uppkommer skillnader i resultat. Minor errors har heller ingen egentlig praktisk betydelse.

I examensarbetet gjordes totalt 798 undersökningar av bakterier eller bakterieläkemedel med Vitek[®] 2, varav 705 var korrekta och 93 var inkorrekta eller saknade resultat. För Vitek[®] 2 fås ett resultat som var korrekt i 88,3 % av fallen vilket är en relativt hög procent för identifiering och resistensbestämning med Vitek[®] 2. För identifiering av bakterier med Vitek[®] 2 undersöktes totalt 66 bakterier, varav 60 gav korrekt identifiering. Detta gav ett resultat som var korrekt i 90,9 % av fallen. För resistensbestämning och jämförelse av bakterieläkemedel med Vitek[®] 2 gjordes totalt 732 undersökningar, varav 645 stämde överens. Detta gav ett resultat som var korrekt i 88,1 % av fallen och beskrivs i kapitel 6.3 *Resistensbestämning med Vitek[®] 2*.

Undersökningen utfördes i relativt liten skala på grund av både brist på tid och provmaterial. Riktgivande information om identifiering och resistensbestämning med Vitek[®] 2 fås ändå från undersökningen. På basen av resultaten kan det konstateras att Vitek[®] 2 -analysatorn är pålitlig vid identifiering av kända kontrollstammar samt

K. pneumoniae och *K. oxytoca* i jämförelse med rutinmetoder. Vitek® 2 utför resistensbestämning pålitligt i jämförelse med rutinmetoder eftersom förekomsten av very major och major errors är relativt liten. Överensstämmelsen mellan Vitek® 2 - resistensbestämningkort AST-P580 och AST-P629 är 90 %.

I praktiken hade identifierings- och resistensbestämningssvar kunnat fås snabbare, eftersom analyseringstiden för identifiering i undersökningen varierade mellan 3,75-7 timmar och analyseringstiden för resistensbestämning varierade från 8-18 timmar. Eftersom respondenterna inte befann sig på laboratoriet när analysatorn var färdig med svaren, avlästes de först nästa dag. På större mikrobiologiska laboratorier där personal finns på plats dygnet runt skulle svaren kunna avläsas tidigare och således påverka patientens vård i positiv bemärkelse. Examensarbetet krävde inget tillstånd för insamling av patientprov, eftersom sådana inte behövdes. På dessa sätt kunde bioanalytikerns etiska aspekter tas i beaktande i examensarbetet.

Laboratoriet som beställt examensarbetet ville också veta om de kan ta i bruk det nya Vitek® 2 resistensbestämningkortet AST-P629 istället för det nuvarande kortet AST-P580. I jämförelsen mellan AST-P580 och de tre andra metoderna lappdiffusion, E-test® och AST-P629 uppnåddes i medeltal en överensstämmelse på 88,2 %. Nämnvärt är dock, att resistensbestämningresultatet för rifampicin alltid blir intermediärt (I) med kortet AST-P580. Om rifampicin skulle ha uteblivit från undersökningen skulle AST-P580 -kortet gett bättre resistensbestämningprocent i jämförelse med de andra metoderna än vad som angetts i denna undersökning.

I jämförelsen mellan AST-P629 och de tre andra metoderna lappdiffusion, E-test® och AST-P580 uppnåddes i medeltal en överensstämmelse på 93,6 %. Dessutom har några bakterieläkemedel i det nya kortet AST-P629 bytts ut och några bakterieläkemedels referensvärden har ändrats för att motsvara EUCASTs värden. Därför skulle det nya resistensbestämningkortet AST-P629 mycket väl kunna tas i bruk på Nordlab i stället för det nuvarande kortet AST-P580.

Referenser

Aldape, M., Bryant, A. & Stevens, D. (2006). *Clostridium sordellii* Infection: Epidemiology, Clinical Findings, and Current Perspectives on Diagnosis and Treatment. *Clinical Infectious Diseases*, 43, 1436-1446.

Antus, M. (2012). Klinisk laboratorieverksamhet. *Laboratorieundersökningsprocessen*. Föreläsningmaterial vid Yrkeshögskolan Novia. [Opublicerat material]

ASM Press (u.å). *Etest*.

<http://www.asmpress.org/asmpress/files/ccLibraryFiles/FILENAME/00000000254/05.08.pdf> (hämtat: 10.9.2013).

ATCC (2012). http://www.atcc.org/en/About/About_ATCC/Who_We_Are.aspx (hämtat: 25.9.2013).

Bannerman, T. & Peacock, S. (2007). *Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci*. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 390-411. Washington D.C.: ASM Press.

BioMérieux (2008). *Vitek 2 Instrument User Manual*.

BioMérieux (2009).

http://www.biomerieux-usa.com/servlet/srt/bio/usa/dynPage?doc=USA_PRD_LST_G_PRD_USA_4 (hämtat: 19.3.2013).

BioMérieux (2010a). *Lyfocults® Plus Microorganisms*.

BioMérieux (2010b). *Vitek® 2 Systems Product Information*.

BioMérieux (2010c). *Vitek® 2 Software User Manual*.

BioMérieux (2013). http://www.biomerieux-diagnostics.com/servlet/srt/bio/clinical-diagnostics/dynPage?doc=CNL_CLN_PRD_G_PRD_CLN_22 (hämtat: 9.9.2013).

BioMérieux (u.å.a). *API® 20 E™ bruksanvisning*.

<http://www2.fiu.edu/~makemson/MCB3020Lab/API20neInstructions.pdf> (hämtat: 4.4.2013).

BioMérieux (u.å.b). *Vitek 2™ MIC AST cards*.

BioMérieux (u.å.c). *Vitek 2™ –technology AST-P580 bruksanvisning*.

BioMérieux (u.å.d). *Vitek 2™ –technology AST-P629 bruksanvisning*.

Blondel-Hill, E., Henry, D. & Speert, D. (2007). *Pseudomonas*. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 734-748. Washington D.C.: ASM Press.

Burkovski, A. (2013). Cell Envelope of Corynebacteria: Structure and Influence on Pathogenicity. *ISRN Microbiology*, 2013, 1-11.

Carlson, K. & Linder, C. (2012). *Introduktion till mikrobiologi: med inriktning mot naturvetare och farmaceuter*. (2. uppl.) Lund: Studentlitteratur.

Carlson, P. & Koskela, M. (2011). *Bakteriologian tutkimukset*. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3*, 37-53. Helsingfors: Duodecim.

Carrara, L., Mirelis, B., Español, M., Pericas, R., Sánchez, F., Coll, P. & Navarro, F. (2008). Ability of the new VITEK 2 *Neisseria-Haemophilus* card for the identification of fastidious organisms. *Annals of Microbiology*, 58 (4), 771-773.

Castanheira, M., Deshpande L., DiPersio, J., Kang, J., Weinstein, M. & Jones, R. (2009). First Descriptions of *bla*_{KPC} in *Raoultella* spp. (*R. planticola* and *R. ornithinolytica*): Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Journal of Clinical Microbiology*, 47 (12), 4129-4130.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2010). *Klebsiella pneumoniae in Healthcare Settings*. <http://www.cdc.gov/HAI/organisms/klebsiella/klebsiella.html> (hämtat: 17.4.2013).

Citron, D., Poxton, I. & Baron, E. (2007). *Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella, Fusobacterium*, and Other Anaerobic Gram-Negative Rods.. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 911-932. Washington D.C.: ASM Press.

Da Rin, G. (2010). Pre-analytical workstations as a tool for reducing laboratory errors. *Journal of Medical Biochemistry*, 29 (4), 315-324.

Ericson, E. & Ericson, T. (2009). *Klinisk mikrobiologi: infektioner, immunologi, vårdhygien*. (4. uppl.) Stockholm: Liber.

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (2013). *Surveillance of antimicrobial consumption in Europe 2010*. Stockholm: ECDC.

<http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-antibiotic-consumption-ESAC-report-2010-data.pdf> (hämtat: 25.4.2013).

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (2012).

Antimicrobial susceptibility testing: EUCAST disk diffusion method.

[http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Mannual v 2.1 EUCAST Disk Test.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Mannual_v_2.1_EUCAST_Disk_Test.pdf) (hämtat: 19.3.2013).

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (2000). Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution. *Clinical Microbiology and Infection*, 6 (9), 509-515.

Farmer III, J., Boatwright, K. & Janda, J. (2007). *Enterobacteriaceae*: Introduction and Identification. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 649-669. Washington D.C.: ASM Press.

Forbes, B., Sahm, D. & Weissfeld, A. (2007). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. (12. ed.). St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier.

Funke, G. & Bernard, K. (2007). Coryneform Gram-Positive Rods. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 485-514. Washington D.C.: ASM Press.

Funke, G. & Funke-Kissling, P. (2004). Evaluation of the New VITEK 2 Card for Identification of Clinically Relevant Gram-Negative Rods. *Journal of Clinical Microbiology*, 42 (9), 4067–4071.

Funke, G. & Funke-Kissling, P. (2005). Performance of the New VITEK 2 GP Card for Identification of Medically Relevant Gram-Positive Cocci in a Routine Clinical Laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 43 (1), 84-88.

von Graevenitz, A., Zbinden, R. & Mutters, R. (2007). *Actinobacillus, Capnocytophaga, Eikenella, Kingella, Pasteurella*, and Other Fastidious or Rarely Encountered Gram-Negative Rods. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 621-635. Washington D.C.: ASM Press.

Hirvonen, J. (2013). *Bakteerit*. Föreläsningmaterial i kursen BI07 mikrobiologisk bioanalytik 2, våren 2013. [Opublicerat material]

Huovinen, P. (2009). Mikrobilääkkeiden käytön ekologia. *Lääkärin käsikirja*. Duodecim. <http://www.terveysportti.fi/dtk/ltk/koti> (hämtat: 2.4.2013).

Huovinen, P., Vaara, M., Liippo, K. & Viljanen, M. (2003). Bakteerilääkkeet. Teoksessa: P. Huovinen, S. Meri, H. Peltola, M. Vaara, A. Vaheri & V. Valtonen (toim.), *Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja 2*, 81-151. Helsingfors: Duodecim.

Janda, W. & Gaydos, C. (2007). *Neisseria*. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 601-620. Washington D.C.: ASM Press.

Jenssen, T. (2009). Läkemedel vid immunologiska sjukdomar. Ingår i: H. Nordeng & O. Spigset (red.), *Farmakologi och farmakologisk omvårdnad*, 107-117. Lund: Studentlitteratur.

Johnson, E., Summanen, P. & Finegold, S. (2007). *Clostridium*. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 889-910. Washington D.C.: ASM Press.

Järveläinen, M., Roslund, I. & Silander, M. (2006). *Rutiinimenetelmillä ja Vitek2-laitteella saatujen tulosten vertailu bakteerien identifikaatio- ja antibiootteriherkkyytustutkimuksissa*. Lärdomsprov för bioanalytikerexamen. Helsingin Ammattikorkeakoulu Stadia, Sosiaali- ja terveystieteiden osasto, Helsingfors.

- Järvenpää, M. & Rekiranta, A. (2012). *Grampositiivisten bakteerien antibioottiherkkyyshmääritysten verifiointi Vitek®2-analysaattorilla*. Lärdomsprov för bioanalytikerexamen. Metropolia Ammattikorkeakoulu, Terveys- ja hoitoala, Helsingfors.
- Järvinen, A., Vaara, M., Huovinen, P., Liippo, K. & Vasankari, T. (2011). Bakterilääkkeet. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3*, 112-187. Helsingfors: Duodecim.
- Kanki, M., Yoda, T., Tsukamoto, T. & Shibata, T. (2002). *Klebsiella pneumoniae* Produces no Histamine: *Raoultella planticola* and *Raoultella ornithinolytica* Strains are Histamine Producers. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (7), 3462-3466.
- Kauma, H. & Virolainen-Julkunen, A. (2010). Pneumokokki. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*, 112-121. Helsingfors: Duodecim.
- Kettaneh, A., Weill, F-X., Poilane, I., Fain, O., Thomas, M., Herrmann, J-L. & Hocqueloux, L. (2003). Septic Shock Caused by *Ochrobactrum anthropi* in an Otherwise Healthy Host. *Journal of Clinical Microbiology*, 41 (3), 1339-1341.
- Kilian, M. (2007). *Haemophilus*. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 636-648. Washington D.C.: ASM Press.
- Kim, J., Jeong, H., Park, S-Y., Kim, S-B., Park, Y., Choi, S-K., Ryu, C-M., Hur, C-G., Ghim, S-Y., Oh, T., Kim, J., Park, C. & Park, S-H. (2010). Genome Sequence of the Polymyxin-Producing Plant-Probiotic Rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* E681. *Journal of Bacteriology*, 192 (22), 6103-6104.
- Koskinen, T. & Turunen, P. (2012). Infektiot. Teoksessa: T. Koskinen, A. Puirava, J. Salimäki, P. Puirava & R. Ojala (toim.), *Lääketietoa ammattilaisille*, 383-410. Helsingfors: Sanoma Pro Oy.
- Käyhty, H. & Peltola, H. (2010). Hemofilukset. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*, 166-169. Helsingfors: Duodecim.

- Käyhty, H. & Peltola, H. (2010). *Neisseria meningitidis*. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*, 160-165. Helsingfors: Duodecim.
- Lassen, J. & Blystad, H. (2011a). Infektioner i huden och ögat. Ingår i: M. Steen & M. Degré (red.), *Mikrobiologi*, 115-136. Lund: Studentlitteratur.
- Lassen, J. & Blystad, H. (2011b). Infektioner i nervsystemet. Ingår i: M. Steen & M. Degré (red.), *Mikrobiologi*, 115-136. Lund: Studentlitteratur.
- Lassen, J. & Blystad, H. (2011c). Infektioner i urinvägarna. Ingår i: M. Steen & M. Degré (red.), *Mikrobiologi*, 189-197. Lund: Studentlitteratur.
- Lassen, J., Blystad, H. & Degré, M. (2011a). Infektioner i luftvägarna. Ingår i: M. Steen & M. Degré (red.), *Mikrobiologi*, 161-187. Lund: Studentlitteratur.
- Lassen, J., Blystad, H. & Degré, M. (2011b). Infektioner i matsmältningssystemet. Ingår i: M. Steen & M. Degré (red.), *Mikrobiologi*, 161-187. Lund: Studentlitteratur.
- Lassen, J. & Degré, M. (2011). Mikroorganismernas huvudgrupper och deras grundläggande egenskaper. Ingår i: M. Steen & M. Degré (red.), *Mikrobiologi*, 27-59. Lund: Studentlitteratur.
- Lee, E., Degener, J., Welling, G. & Veloo, A. (2011). Evaluation of the Vitek 2 ANC Card for Identification of Clinical Isolates of Anaerobic Bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 49 (5), 1745-1749.
- Ligozzi, M., Bernini, C., Bonora, MG., de Fatima, M., Zuliani, J. & Fontana, R. (2002). Evaluation of the VITEK 2 System for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Medically Relevant Gram-Positive Cocci. *Journal of Clinical Microbiology*, 40 (5), 1681-1686.
- Lindquist, D., Chu, M. & Probert, W. (2007). *Francisella* and *Brucella*. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 815-834. Washington D.C.: ASM Press.

- Ling, T., Tam, P., Liu, Z. & Cheng, A. (2001). Evaluation of VITEK 2 Rapid Identification and Susceptibility Testing System against Gram-Negative Clinical Isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 39 (8), 2964-2966.
- Logan, N., Popovic, T. & Hoffmaster, A. (2007). *Bacillus* and Other Aerobic Endospore-Forming Bacteria. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 455-473. Washington D.C.: ASM Press.
- Lyytikäinen, O. & Siitonen, A. (2010). *Listeria monocytogenes*. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*, 136-139. Helsingfors: Duodecim.
- Lyytikäinen, O., Vuopio-Varkila, J. & Kotilainen, P. (2010). Koagulaasinegatiiviset stafylokokit. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*, 98-101. Helsingfors: Duodecim.
- Ma, E., Wong, C., Lai, K., Chan, E., Yam, WC. & Chan, A. (2005). *Kocuria kristinae* infection associated with acute cholecystitis. *BioMed Central Infectious Diseases*, 5 (60). <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/5/60> (hämtat: 25.4.2013).
- Mammeri, H., Poirel, L., Mangeney, N. & Nordmann, P. (2003). Chromosomal Integration of a Cephalosporinase Gene from *Acinetobacter baumannii* into *Oligella urethralis* as a Source of Acquired Resistance to β -Lactams. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47 (5), 1536-1542.
- Matikainen, A-M., Miettinen, M. & Wasström, K. (2010). *Näytteenottajan käsikirja*. Helsinki: Edita Prima.
- MicrobeWiki* (u.ä.).
http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacterial_Derived_Plastics (hämtat: 2.4.2013).
- Mory, F., Alauzet, C., Matuszeswski, C., Riegel, P. & Lozniewski, A. (2009). Evaluation of the New Vitek 2 ANC Card for Identification of Medically Relevant Anaerobic Bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 47 (6), 1923-1926.

Nataro, J., Bopp, C., Fields, P., Kaper, J. & Strockbine, N. (2007). *Escherichia, Shigella, and Salmonella*. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 670-687. Washington D.C.: ASM Press.

Pincus, D. (u.å). Microbial identification using the BioMérieux Vitek®2 system.

Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods, 1-32.

https://store.pda.org/TableOfContents/ERMM_V2_Ch01.pdf (hämtat: 14.3.2013).

Public Health Agency of Canada (2011). *Proteus spp*: pathogen safety data sheet: infectious substances. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/proteus-eng.php> (hämtat: 23.4).

Rantakokko-Jalava, K. & Anttila, V-J. (2010). Muut streptokokit, enterokokit ja muita grampositiivisia kokkeja. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*, 122-129. Helsingfors: Duodecim.

Rantakokko-Jalava, K., Elo-Lehtonen, E. & Meurman, O. (2006). Comparison of workflow and accuracy of identification and antimicrobial susceptibility testing of clinical isolates of *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and enterococci by Vitek 2 and routine methods. *APMIS*, 114 (1), 43-49.

Raza, W., Yang, W. & Shen, Q-R. (2008). *Paenibacillus polymyxa*: Antibiotics, Hydrolytic Enzymes and Hazard Assessment. *Journal of Plant Pathology*, 90 (3), 419-430.

Rautio, M. (2010). *Clostridium*-lajit. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*, 233-238. Helsingfors: Duodecim.

Rautio, M. (2010). Muita anaerobisia grampositiivisia lajeja. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*, 239-242. Helsingfors: Duodecim

Rautio, M. & Vuento, R. (2010). *Bacteroides fragilis* ja muita anaerobisia gramnegatiivisia bakteereja. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*, 243-246. Helsingfors: Duodecim.

- Richter, S. & Ferraro, M-J. (2007). Susceptibility Testing Instrumentation and Computerized Expert Systems for Data Analysis and Interpretation. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 245-256. Washington D.C.: ASM Press.
- Ruoff, K. (2011). *General Approaches to Identification of Aerobic Gram-Positive Cocci.* In: J. Versalovic, K. Carroll, G. Funke, J. Jorgensen, M-L. Landry & D. Warnock (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (10. ed.) 1, 304-307. Washington D.C.: ASM Press.
- Sarma, S., Kumar, N., Jha, A., Baveja, U. & Sharma, S. (2011). *Elizabethkingia meningosepticum*: An Emerging Cause of Septicemia in Critically Ill Patients. *Journal of Laboratory Physicians*, 3 (1), 62-63.
- Schreckenberger, P., Daneshvar, M. & Hollis, D. (2007). *Acinetobacter, Achromobacter, Chryseobacterium, Moraxella*, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 770-802. Washington D.C.: ASM Press.
- Siitonen, A. & Vaara, M. (2010). *Escherichia, Salmonella, Shigella ja Yersinia*. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*, 177-195. Helsingfors: Duodecim.
- Smith, A. & Hussey, M. (2005). *Gram stain protocols*. American Society for Microbiology MicrobeLibrary.
<http://www.microbelibrary.org/component/resource/gram-stain/2886-gram-stain-protocols> (hämtat: 22.3.2013).
- Spellerberg, B. & Brandt, C. (2007). *Streptococcus*. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 412-429. Washington D.C.: ASM Press.
- Stepanovic, S., Dakic, I., Morrison, D., Hauschild, T., Jezek, P., Petrás, P., Martel, A., Vukovic, D., Shittu, A. & Devriese, L. (2005). Identification and Characterization of Clinical Isolates of Members of the *Staphylococcus sciuri* Group. *Journal of Clinical Microbiology*, 43 (2), 956-958.

- Teixeira, L., da Glória Siqueira Carvalho, M., Shewmaker, P. & Facklam, R. (2011). *Enterococcus*. In: J. Versalovic, K. Carroll, G. Funke, J. Jorgensen, M-L. Landry & D. Warnock (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (10. ed.) 1, 350-364. Washington D.C: ASM Press.
- Thomson, R. (2007). Specimen Collection, Transport, and Processing: Bacteriology. In: P. Murray, E. Baron, J. Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1, 291-333. Washington D.C.: ASM Press.
- Timoharju, T. (u.å.a). *ID- ja AST-tulosten teoria*. BioMérieux.
- Timoharju, T. (u.å.b). *QC Laaduntarkkailu*. BioMérieux.
- Timoharju, T. (u.å.c). *Tulosten tarkastelu AES*. BioMérieux.
- Timoharju, T. (u.å.d.). *Vianmääritys*. BioMérieux.
- Timoharju, T. (2011). *Vitek® 2 60 käyttäjäkoulutus*. OYS. BioMérieux.
- Tissari, P. & Anttila, V-J. (2003). Pseudomonakset, pseudomonaksen kaltaiset sauvat ja akinetobakteerit. Teoksessa: P. Huovinen, S. Meri, H. Peltola, M. Vaara, A. Vaheri & V. Valtonen (toim.), *Mikrobiologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*, 195-202. Helsingfors: Duodecim.
- Tissari, P. & Anttila, V-J. (2010a). Muu *Enterobacteriaceae*-heimo. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*, 196-199. Helsingfors: Duodecim.
- Tissari, P. & Anttila, V-J. (2010b). Pseudomonakset, pseudomonaksen kaltaiset sauvat ja akinetobakteerit. Teoksessa: K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1*, 200-205. Helsingfors: Duodecim.
- Townsend, S., Hurrell, E., Caubilla-Barron, J., Loc-Carrillo, C. & Forsythe, S. (2008). Characterization of an extended-spectrum betalactamase *Enterobacter hormaechei* nosocomial outbreak, and other *Enterobacter hormaechei* misidentified as *Cronobacter (Enterobacter) sakazakii*. *Microbiology*, 154 (12), 3659-3667.

Vaara, M. (2009). *Tauteja aiheuttavien mikrobien evoluutio haasteena lääketieteelle.*

Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim (18/2009, 2001-2006).

Vaara, M., Skurnik, M. & Sarvas, M. (2010). Bakterisolun rakenne ja toiminta. Teoksessa:

K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.),

Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1, 14-40. Helsingfors: Duodecim.

Valenza, G., Ruoff, C., Vogel, U., Frosch, M. & Abele-Horn, M. (2007). Microbiological

Evaluation of the New VITEK 2 *Neisseria-Haemophilus* Identification Card. *Journal of*

Clinical Microbiology, 45 (11), 3493-3497.

Vandamme, P. (2007). Taxonomy and Classification of Bacteria. In: P. Murray, E. Baron, J.

Jorgensen, M-L. Landry & M. Pfaller (eds.), *Manual of Clinical Microbiology*, (9. ed.) 1,

275-290. Washington D.C.: ASM Press.

VITEK® 2 (u.å.). VITEK® 2 Käyttöohje 510731-4.

Vuento, R. (2010). Muita gramnegatiivisia bakteereita. Teoksessa: K. Hedman, T.

Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia,*

immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1, 206-212. Helsingfors: Duodecim.

Vuento, R. & Seppälä, I. (2010). *Neisseria gonorrhoeae*. Teoksessa: K. Hedman, T.

Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.), *Mikrobiologia,*

immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1, 156-159. Helsingfors: Duodecim.

Vuopio-Varkila, J., Kuusela, P. & Kotilainen, P. (2010). *Staphylococcus aureus*. Teoksessa:

K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.),

Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1, 83-97. Helsingfors: Duodecim.

Vuopio-Varkila, J., Syrjänen, J. & Kotilainen, P. (2010). A-ryhmän streptokokki. Teoksessa:

K. Hedman, T. Heikkinen, P. Huovinen, A. Järvinen, S. Meri & M. Vaara (toim.),

Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1, 102-109. Helsingfors: Duodecim.

Identifieringsresultat av kända kontrollstammar med Vitek® 2

Bakterie	ATCC	ID-kort	Analystid	Resultat
<i>Klebsiella oxytoca</i>	700324	GN	3,75 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Biochemical details: IARL - (borde vara +)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9721	GN	4,75 h	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	BAA749	GN	4,75 h	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	17666	GN	5,25 h	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> . Biochemical details: LIP - (borde vara +)
<i>Shigella sonnei</i>	25931	GN	4,75h	<i>Shigella sonnei</i> . ID analysis messages: confirm by serological tests
<i>Enterobacter hormaechei</i>	700323	GN	4,75 h	<i>Enterobacter cloacae</i> complex
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	13253	GN	4,50 h	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>
<i>Proteus vulgaris</i>	6380	GN	3,75 h	Slashline
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	BAA1744	GN	4,75 h	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Excellent identification. 98 % probability
<i>Acinetobacter baumannii</i>	BAA747	GN	6,00 h	<i>Acinetobacter baumannii</i> complex. Excellent identification. 99 % probability
<i>Streptococcus thermophilus</i>	19258	GP	6,00 h	<i>Streptococcus thermophilus</i> . Biochemical details: dGAL + (borde vara -)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	49619	GP	5,00 h	<i>Streptococcus pneumoniae</i> . Biochemical details: SAL - (borde vara +)
<i>Staphylococcus sciuri</i>	29061	GP	3,75 h	<i>Staphylococcus sciuri</i>
<i>Streptococcus equi</i>	43079	GP	3,50 h	<i>Streptococcus equi</i> ssp <i>zooepidemicus</i> . Biochemical details: dRIB - (borde vara +)
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	700327	GP	5,00 h	<i>Enterococcus casseliflavus</i>
<i>Enterococcus saccharolyticus</i>	43076	GP	4,75 h	<i>Enterococcus saccharolyticus</i>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	BAA750	GP	4,75 h	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
<i>Kocuria kristinae</i>	BAA752	GP	3,75 h	<i>Kocuria kristinae</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	BAA751	GP	7,00 h	<i>Listeria monocytogenes</i> . ID analysis messages: critical pathogen, check Camp test and beta-hemolysis
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	NH	6,00 h	Not claimed. Biochemical details: LeuA: + (borde vara -)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	NH	6,00 h	Not claimed
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	7070	NH	6,00 h	Not claimed
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	19424	NH	6,00 h	Low discrimination. Critical pathogen
<i>Oligella urethralis</i>	17960	NH	6,00 h	<i>Oligella urethralis</i>

Tabellens gröna fält visar kända kontrollstammar som identifierats korrekt med Vitek® 2 -analysatorn. Gula fält visar bakterier som identifierats bristfälligt och röda fält visar bakterier som inte identifierats av analysatorn. I tabellen visas de analysmeddelanden som uppkommit vid analysen.

Bakterie	ATCC	ID-kort	Analystid	Resultat
<i>Eikenella corrodens</i>	BAA1152	NH	6,00 h	<i>Eikenella corrodens</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	9007	NH	6,00 h	<i>Haemophilus influenzae</i> . See product information for additional information
<i>Aggregatibacter aphrophilus</i>	33389	NH	6,00 h	<i>Aggregatibacter aphrophilus</i>
<i>Neisseria lactamica</i>	23970	NH	6,00 h	<i>Neisseria lactamica</i>
<i>Neisseria meningitidis</i>	T462	NH	6,00 h	<i>Neisseria meningitidis</i> . Excellent identification
<i>Clostridium septicum</i>	12464	ANC	6,00 h	<i>Clostridium septicum</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	13124	ANC	6,00 h	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Bacteroides vulgatus</i>	8482	ANC	6,00 h	<i>Bacteroides ovatus</i>
<i>Clostridium sordellii</i>	9714	ANC	6,00 h	<i>Clostridium sordellii</i>
<i>Corynebacterium striatum</i>	BAA1293	ANC	6,00 h	<i>Corynebacterium striatum</i>
<i>Parabacteroides distasonis</i>	BAA1295	ANC	6,00 h	<i>Parabacteroides distasonis</i>
<i>Bacteroides ovatus</i>	BAA1296	ANC	6,00 h	<i>Bacteroides ovatus</i>

Tabellens gröna fält visar kända kontrollstammar som identifierats korrekt med Vitek® 2 -analysatorn. Gula fält visar bakterier som identifierats bristfälligt och röda fält visar bakterier som inte identifierats av analysatorn. I tabellen visas de analysmeddelanden som uppkommit vid analysen.

Tidigare undersökning gjord av Maaret Suokas år 2013. Identifiering av kända kontrollstammar med Vitek® 2.

Bakteri	ATCC	ID-kortti	Analyysiaika	Tulos
<i>Aerococcus urinae</i>	CO 70025 (LabQ 4/2011)	GP		Excellent ID 99 %
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	UBC 89 (LabQ 1/2011)	GP		Väärä nimi: <i>Gardenella vaginalis</i> 95 %
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	GP	3,25 h	Excellent ID 99 %
<i>Enterococcus faecium</i>	35667	GP	4,25 h	Excellent ID 98 %
<i>Enterococcus faecium VRE (vanB)</i>	KSKS 2829	GP		Excellent ID 98 %
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	LabQ 2/2011 Kliin. näyte	GP		Excellent ID 97 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	29213	GP	4,00 h	Excellent ID 99 %
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	GP	5,25 h	Excellent ID 99 %
<i>Staphylococcus haemolyticum</i>	29970	GP	8,00 h	Väärä nimi: <i>Staphylococcus warneri</i> , Excellent ID 97 % (URE-, 78 %)
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	CO 10506 (LabQ 1/2010)	GP		Excellent ID 99 %
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	15305	GP	4,75 h	Excellent ID 99 %
<i>Streptococcus agalactiae</i>	13813	GP	4,75 h	Very good ID 94 %
<i>Streptococcus bovis</i>	35034	GP		Low ID, ehdottaa <i>Streptococcus gallolyticus</i> jos D-ryhmä (= ent. <i>Streptococcus bovis</i> I)
<i>Streptococcus C+ (dysgalactiae sp. equisimilis)</i>	35666	GP	5,75 h	Excellent ID 98 %, Vitek 2 ei kerro Lancerfieldin ryhmää
<i>Streptococcus G+ (dysgalactiae sp. equisimilis)</i>	12394	GP	7,00 h	Excellent ID 98 %, Vitek 2 ei kerro Lancerfieldin ryhmää
<i>Streptococcus constellatus (C+VP+)</i>	Oma kliin. näyte	GP	8,00 h	<i>Streptococcus</i> , mutta ei lajinimeä, Low ID
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	49619	GP	4,25 h	OK, 62 reakt. OK mutta, dRAF ja SAL väärä neg (odotettu +)
<i>Streptococcus pyogenes (A)</i>	19615	GP	4,75 h	Excellent ID 99 %
<i>Streptococcus salivarius</i>	13419	GP	5,00 h	Excellent ID 99 %
<i>Listeria monocytogenes</i>	7644	GP		Very good ID 95 %
<i>Haemophilus influenzae</i>	8468	NH		Very good ID 95 %
<i>Neisseria lactamica</i>	23970	NH	6,00 h	ID reaktiot OK
<i>Moraxella catarrhalis</i>	25238	NH	6,00 h	Ei nimeä, Low ID, ehdottaa <i>Moraxella catarrhalis</i> jos G+k (ArgA-, 81 %)
<i>Bacteroides ovatus</i>	1296	ANC		Very good ID 94 %

Tabellens gröna fält visar kända kontrollstammar som identifierats korrekt med Vitek® 2 -analysatorn. Gula fält visar bakterier som identifierats bristfälligt och röda fält visar bakterier som inte identifierats korrekt av analysatorn. I tabellen visas de analysmeddelanden som uppkommit vid analysen.

Bakteri	ATCC	ID-kortti	Analyysiaika	Tulos
<i>Bacteroides vulgatus</i>	8482	ANC		Excellent ID 97 %
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	51799	ANC		Väärä nimi: <i>Corynebacterium minutissimum</i> . Excellent ID 96 %
<i>Clostridium sporogenes</i>	3584	ANC		Excellent ID 99 %
<i>Fingoldia magna</i>	29328	ANC		Low ID, nimivalikkoon tuli <i>Fingoldia magna</i> valittavaksi
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	25586	ANC		Ei anna nimeä, eikä edes ehdota <i>Fusobacterium nucleatum</i> valikossa
<i>Eschericia coli</i>	25922	GN	5,00 h	Excellent ID 97 % (dTAG+, 22 %)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27736	GN	8,00 h	Very good ID 95 % (BXYL-, 99 %=+)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	GN	7,00 h	Excellent ID 96 % (phos+, 5 %)

Tabellen nedan är en sammanställning av ovanstående tabell och visar identifiering enligt grupp (GN, GP, NH och ANC).

ID-kort	Samma resultat	Inget resultat	Antal sammanlagt
	(%)	(%)	
GN	3 (100)	0 (0)	3
GP	17 (85)	3 (15)	20
NH	2 (67)	1 (33)	3
ANC	3 (50)	3 (50)	6
Sammanlagt (%)	25 (78)	7 (22)	32

Tabellens gröna fält visar kända kontrollstammar som identifierats korrekt med Vitek® 2 -analysatorn. Gula fält visar bakterier som identifierats bristfälligt och röda fält visar bakterier som inte identifierats korrekt av analysatorn. I tabellen visas de analysmeddelanden som uppkommit vid analysen.

Stammar av *Klebsiella pneumoniae* och *Klebsiella oxytoca* identifierade med Vitek® 2 och API 20 E™.

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Analys-datum	Analystid Vitek® 2	Resultat Vitek® 2	Resultat API 20 E™
T2997	24.4.2013	6,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Excellent identification. 96 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 97,6 %
T2989	24.4.2013	4,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 97,6 %
T2908	24.4.2013	6,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Excellent identification. 97 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 97,6 %
T2812	25.4.2013	6,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Excellent identification. 96 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 93,8 %
T2761	26.4.2013	4,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 98 %
T2236	26.4.2013	4,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 94,5 %
T2597.2	26.4.2013	4,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 93,8 %
T2331	26.4.2013	4,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 97,6 %
T2167	30.4.2013	5,50 h	<i>Raoultella planticola</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 97,6 %
T2342	30.4.2013	4,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Very good identification. 95 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 97,6 %
T2611	30.4.2013	4,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 93,9 %
T2614	30.4.2013	6,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Excellent identification. 96 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 98 %
T2165	3.5.2013	4,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Very good identification. 95 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 93 %
T2912	3.5.2013	6,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Very good identification. 95 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 98 %
T3040	3.5.2013	4,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 97,6 %
ATCC700605	3.5.2013	4,00 h	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> . 98 %

Tabellens gröna fält visar identifiering som överensstämmer mellan Vitek® 2 och API 20 E™. Tabellens röda fält visar att Vitek® 2 och API 20 E™ har gett olika resultat.

<i>Klebsiella oxytoca</i>	Analys-datum	Analystid Vitek® 2	Resultat Vitek® 2	Resultat API 20 E™
T0650	24.4.2013	3,75 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Excellent identification. 98 % Probability	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 97,4 %
T3444	24.4.2013	4,00 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 97,4 %
T4186	25.4.2013	3,75 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Excellent identification. 98 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 97,4 %
T4369	25.4.2013	4,00 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 97,4 %
T5488.1	25.4.2013	3,75 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Excellent identification. 98 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 97,4 %
T5515	25.4.2013	3,75 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Excellent identification. 98 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 99 %
T4180	25.4.2013	4,25h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 97,7 %
T2154	26.4.2013	3,75 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Excellent identification. 98 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 94,8 %
T2329	26.4.2013	4,75 h	<i>Raoultella planticola</i> . Very good identification. 95 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 94,8 %
T2758	26.4.2013	4,00 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 99 %
T2164	30.4.2013	8,00 h	<i>Raoultella planticola</i> . Good identification. 91 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 94,8 %
T2235	30.4.2013	4,00 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Very good identification. 95 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 94,8 %
T2598	30.4.2013	3,50 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Excellent identification. 99 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 94,8 %
T3825	3.5.2013	3,75 h	<i>Klebsiella oxytoca</i> . Excellent identification. 98 % Probability.	<i>Klebsiella oxytoca</i> . 97,4 %

Tabellens gröna fält visar identifiering som överensstämmer mellan Vitek® 2 och API 20 E™. Tabellens röda fält visar att Vitek® 2 och API 20 E™ har gett olika resultat.

Resistensbestämningresultat med Vitek® 2 resistensbestämningkort AST-P580 jämfört med rutinmetoden lappdiffusion.

Bakterie-läkemedel	Samma resultat (%)	Lappdiff. R AST-P580 S (%)	Lappdiff. R AST-P580 I (%)	Lappdiff. S AST-P580 R (%)	Lappdiff. S AST-P580 I (%)	Lappdiff. I AST-P580 R (%)	Lappdiff. I AST-P580 S (%)	Annat resultat (%)	Antal sammanlagt
OX	13 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	13
TOB	15 (94)	1 (6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
E	16 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
DA	14 (82)	1 (6)	0 (0)	2 (12)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	17
LZT	15 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	15
VAN	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
FD	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
RD	1 (6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16 (94)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	17
SXT	9 (60)	2 (13.3)	0 (0)	2 (13.3)	0 (0)	0 (0)	2 (13.3)	0 (0)	15
Sammanlagt (%)	85 (76.6)	4 (3.6)	0 (0)	4 (3.6)	16 (14.4)	0 (0)	2 (1.8)	0 (0)	111

Bakterie-läkemedel	Samma resultat (%)	Very major error (%)	Major error (%)	Minor error (%)	Annat resultat (%)	Antal sammanlagt
OX	13 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	13
TOB	15 (94)	1 (6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
E	16 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
DA	14 (82)	1 (6)	2 (12)	0 (0)	0 (0)	17
LZT	15 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	15
VAN	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
FD	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
RD	1 (6)	0 (0)	0 (0)	16 (94)	0 (0)	17
SXT	9 (60)	2 (13.3)	2 (13.3)	0 (0)	2 (13.3)	15
Sammanlagt (%)	85 (76.6)	4 (3.6)	4 (3.6)	16 (14.4)	2 (1.8)	111

Kolumnen för samma resultat innebär att resultaten från Vitek® 2 och lappdiffusionsmetoden överensstämmer. Båda metoderna har i detta fall gett känsligt (S-S), resistent (R-R) eller osäkert (I-I) resultat enligt resistensklassificeringen. Kolumnen för annat resultat i andra tabellen innebär att Vitek® 2 -analysatorn angett bakterierna som endera känsliga (S) eller resistenta (R), medan lappdiffusionsmetoden gett osäkert (I) resultat.

Resistensbestämningresultat med Vitek® 2 resistensbestämningkort AST-P629 jämfört med rutinmetoden lappdiffusion.

Bakterie-läkemedel	Samma resultat (%)	Lappdiff. R AST-P629 S (%)	Lappdiff. R AST-P629 I (%)	Lappdiff. S AST-P629 R (%)	Lappdiff. S AST-P629 I (%)	Lappdiff. I AST-P629 R (%)	Lappdiff. I AST-P629 S (%)	Annat resultat (%)	Antal sammanlagt
OX	12 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	12
TOB	14 (88)	1 (6)	0 (0)	1 (6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
CIP	15 (94)	1 (6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
E	16 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
DA	14 (88)	1 (6)	0 (0)	1 (6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
LZT	16 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
VAN	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
FD	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
RD	17 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	17
SXT	10 (67)	1 (7)	0 (0)	2 (13)	0 (0)	2 (13)	0 (0)	0 (0)	15
Sammanlagt (%)	116 (92)	4 (3.2)	0 (0)	4 (3.2)	0 (0)	2 (1.6)	0 (0)	0 (0)	126

Bakterie-läkemedel	Samma resultat (%)	Very major error (%)	Major error (%)	Minor error (%)	Annat resultat (%)	Antal sammanlagt
OX	12 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	12
TOB	14 (88)	1 (6)	1 (6)	0 (0)	0 (0)	16
CIP	15 (94)	1 (6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
E	16 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
DA	14 (88)	1 (6)	1 (6)	0 (0)	0 (0)	16
LZT	16 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	16
VAN	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
FD	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
RD	17 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	17
SXT	10 (67)	1 (7)	2 (13)	0 (0)	2 (13)	15
Sammanlagt (%)	116 (92)	4 (3.2)	4 (3.2)	0 (0)	2 (1.6)	126

Kolumnerna för samma resultat innebär att resultaten från Vitek® 2 och lappdiffusionsmetoden överensstämmer. Båda metoderna har i detta fall gett känsligt (S-S), resistent (R-R) eller osäkert (I-I) resultat enligt resistensklassificeringen. Kolumnen för annat resultat i andra tabellen innebär att Vitek® 2 -analysatorn angett bakterierna som endera känsliga (S) eller resistenta (R), medan lappdiffusionsmetoden gett osäkert (I) resultat.

Resistensbestämningresultat med Vitek® 2 resistensbestämningkort AST-P580 jämfört med rutinmetoden E-test® (MIC).

Bakterie- läkemedel	Samma resultat (%)	MIC R	MIC R	MIC S	MIC S	MIC I	MIC I	Annat resultat (%)	Antal sammanlagt
		AST-P580 S (%)	AST-P580 I (%)	AST-P580 R (%)	AST-P580 I (%)	AST-P580 R (%)	AST-P580 S (%)		
PEN	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
OX	10 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10
CN	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
TOB	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
LEV	6 (86)	0 (0)	0 (0)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
MXF	6 (86)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
E	6 (86)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
DA	5 (83)	0 (0)	0 (0)	1 (17)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
LZT	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
TEC	3 (60)	1 (20)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5
VAN	17 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	17
TE	5 (71.4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (14.3)	1 (14.3)	0 (0)	7
TGC	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
FOS	6 (86)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
FD	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
RD	1 (14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (86)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
SXT	5 (71.4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (14.3)	1 (14.3)	0 (0)	7
Sammanlagt (%)	104 (86)	3 (2.5)	0 (0)	3 (2.5)	7 (5.8)	2 (1.6)	2 (1.6)	0 (0)	121

Kolumnen för samma resultat innebär att resultaten från Vitek® 2 och E-test® överensstämmer. Båda metoderna har i detta fall gett känsligt (S-S), resistent (R-R) eller osäkert (I-I) resultat enligt resistensklassificeringen.

Bakterie-läkemedel	Samma resultat (%)	Very major error (%)	Major error (%)	Minor error (%)	Annat resultat (%)	Antal sammanlagt
PEN	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
OX	10 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10
CN	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
TOB	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
LEV	6 (86)	0 (0)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	7
MXF	6 (86)	0 (0)	0 (0)	1 (14)	0 (0)	7
E	6 (86)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
DA	5 (83)	0 (0)	1 (17)	0 (0)	0 (0)	6
LZT	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
TEC	3 (60)	1 (20)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	5
VAN	17 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	17
TE	5 (71)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (29)	7
TGC	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
FOS	6 (86)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
FD	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
RD	1 (14)	0 (0)	0 (0)	6 (86)	0 (0)	7
SXT	5 (71)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (29)	7
Sammanlagt (%)	104 (85.9)	3 (2.5)	3 (2.5)	7 (5.8)	4 (3.3)	121

Kolumnen för samma resultat innebär att resultaten från Vitek® 2 och E-test® överensstämmer. Båda metoderna har i detta fall gett känsligt (S-S), resistent (R-R) eller osäkert (I-I) resultat enligt resistensklassificeringen. Kolumnen för annat resultat innebär att Vitek® 2 -analysatorn angett bakterierna som endera känsliga (S) eller resistenta (R), medan E-test® gett osäkert (I) resultat.

Resistensbestämningresultat med Vitek® 2 resistensbestämningkort AST-P629 jämfört med rutinmetoden E-test® (MIC).

Bakterie-läkemedel	Samma resultat (%)	MIC R AST-P629 S (%)	MIC R AST-P629 I (%)	MIC S AST-P629 R (%)	MIC S AST-P629 I (%)	MIC I AST-P629 R (%)	MIC I AST-P629 S (%)	Annat resultat (%)	Antal sammanlagt
PEN	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
OX	10 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10
CN	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
TOB	6 (86)	0 (0)	0 (0)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
E	6 (86)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
DA	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
LZT	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
TEC	4 (80)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5
VAN	17 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	17
TE	5 (71.4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (14.3)	1 (14.3)	0 (0)	7
FD	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
RD	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
SXT	5 (71)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (29)	0 (0)	0 (0)	7
Sammanlagt (%)	87 (92.5)	2 (2.1)	0 (0)	1 (1.1)	0 (0)	3 (3.2)	1 (1.1)	0 (0)	94

Bakterie-läkemedel	Samma resultat (%)	Very major error (%)	Major error (%)	Minor error (%)	Annat resultat (%)	Antal sammanlagt
PEN	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
OX	10 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10
CN	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
TOB	6 (86)	0 (0)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	7
E	6 (86)	1 (14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
DA	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
LZT	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
TEC	4 (80)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5
VAN	17 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	17
TE	5 (71)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (29)	7
FD	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
RD	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
SXT	5 (71)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (29)	7
Sammanlagt (%)	87 (92.5)	2 (2.1)	1 (1.1)	0 (0)	4 (4.3)	94

Kolumnerna för samma resultat innebär att resultaten från Vitek® 2 och E-test® överensstämmer. Båda metoderna har i detta fall gett känsligt (S-S), resistent (R-R) eller osäkert (I-I) resultat enligt resistensklassificeringen. Kolumnen för annat resultat i andra tabellen innebär att Vitek® 2 - analysatorn angett bakterierna som endera känsliga (S) eller resistenta (R), medan E-test® gett osäkert (I) resultat.

Resistensbestämningresultat med Vitek® 2 resistensbestämningkort AST-P580 jämfört med Vitek® 2 resistensbestämningkort AST-P629.

Bakterie- läkemedel	Samma resultat (%)	AST-P629 R AST-P580 S (%)	AST-P629 R AST-P580 I (%)	AST-P629 S AST-P580 R (%)	AST-P629 S AST-P580 I (%)	AST-P629 I AST-P580 R (%)	AST-P629 I AST-P580 S (%)	Annat resultat (%)	Antal sammanlagt
FOX Sc.	20 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	20
PEN	20 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	20
OX	19 (95)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5)	20
CN	20 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	20
TOB	19 (95)	1 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	20
ICR	19 (95)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5)	20
E	20 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	20
DA	19 (95)	0 (0)	0 (0)	1 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	20
LZT	20 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	20
VAN	20 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	20
TE	20 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	20
FD	19 (95)	0 (0)	0 (0)	1 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	20
RD	1 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	19 (95)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	20
SXT	17 (85)	3 (15)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	20
Sammanlagt (%)	253 (90)	4 (1)	0 (0)	2 (1)	19 (7)	0 (0)	0 (0)	2 (1)	280

Kolumnen för samma resultat innebär att resultaten från Vitek® 2 båda resistensbestämningkort överensstämmer. Båda metoderna har i detta fall gett känsligt (S-S), resistent (R-R), osäkert (I-I), positivt (POS-POS) eller negativt (NEG-NEG) resultat. Kolumnen för annat resultat innebär att Vitek® 2 -analysatorns resistensbestämningkort inte kunnat ange resistens mot OX eller att resistensbestämningkort AST-P580 gett negativ reaktion och AST-P629 gett positiv reaktion för ICR.

Resistensbestämningresultat med rutinmetoderna lappdiffusion och E-test® (MIC).

Bakterie- läkemedel	Samma resultat (%)	Lappdiff. R MIC S (%)	Lappdiff. R MIC I (%)	Lappdiff. S MIC R (%)	Lappdiff. S MIC I (%)	Lappdiff. I MIC R (%)	Lappdiff. I MIC S (%)	Annat resultat (%)	Antal sammanlagt
OX	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
TOB	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
E	5 (83)	0 (0)	0 (0)	1 (17)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
DA	5 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5
LZT	5 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5
VAN	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
RD	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7
SXT	4 (67)	1 (17)	0 (0)	0 (0)	1 (17)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
CLX	4 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4
FOX	6 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6
CXM	4 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4
MEM	4 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4
TZP	4 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4
Sammanlagt (%)	62 (95.4)	1 (1.5)	0 (0)	1 (1.5)	1 (1.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	65

Kolumnen för samma resultat innebär att resultaten från lappdiffusionsmetoden och E-test® överensstämmer. Båda metoderna har i detta fall gett känsligt (S-S), resistent (R-R) eller osäkert (I-I) resultat enligt resistensklassificeringen.

Pappersutskrift från Vitek® 2 -analysatorn vid identifiering av *Klebsiella pneumoniae*.

NordLab Kokkola

bioMerieux Customer:
System #:

Laboratory Report

Printed Apr 24, 2013 14:48 EEST
Autoprint

Patient Name:
Isolate Group: T2908-1

Patient ID:

Bionumber: 4605735757564010
Selected Organism: *Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumoniae*

Comments:	

Identification Information	Card: GN	Lot Number: 241254640	Expires: Dec 3, 2013 12:00 EET
	Completed: Apr 24, 2013 14:52 EEST	Status: Final	Analysis Time: 6.00 hours
Selected Organism	97% Probability <i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp <i>pneumoniae</i>		
	Bionumber: 4605735757564010	Confidence: Excellent identification	
SRF Organism			
Analysis Organisms and Tests to Separate:			
Analysis Messages:			
Contraindicating Typical Biopattern(s)			
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp <i>pneumoniae</i> ADO(78),5KG(20),			

Biochemical Details																	
2	APPA	-	3	ADO	-	4	PyrA	+	5	IARL	-	7	dCEL	+	9	BGAL	+
10	H2S	-	11	BNAG	-	12	AGLTp	-	13	dGLU	+	14	GGT	-	15	OFF	+
17	BGLU	+	18	dMAL	+	19	dMAN	+	20	dMNE	+	21	BXYL	+	22	BAlap	-
23	ProA	+	26	LIP	-	27	PLE	+	29	TyrA	+	31	URE	+	32	dSOR	+
33	SAC	+	34	dTAG	-	35	dTRE	+	36	CIT	+	37	MNT	+	39	5KG	+
40	ILATk	+	41	AGLU	-	42	SUCT	+	43	NAGA	-	44	AGAL	+	45	PHOS	+
46	GlyA	-	47	ODC	-	48	LDC	+	53	IHISa	-	56	CMT	-	57	BGUR	-
58	O129R	+	59	GGAA	-	61	IMLTa	-	62	ELLM	-	64	ILATa	-			

Installed VITEK 2 Systems Version: 05.04
MIC Interpretation Guideline:
AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:
AES Parameter Last Modified:

Pappersutskrift från Vitek® 2 -analysatorn vid identifiering av den kända kontrollstammen
Pseudomonas aeruginosa.

NordLab Kokkola

bioMérieux Customer:
System #:

QC Laboratory Report

Printed: Apr 18, 2013 14:01 EEST
Autoprint

Actual Organism: *Pseudomonas aeruginosa*
Bionumber: 0003041303500040
QC Reference ID: ATCC9721

Expected Organism: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC9721

Comments

ID Card Information	Card:	GN	Lot #:	241254640	Expires:	Dec 3, 2013
	Completed:	Apr 18, 2013 14:03 EEST		Status:	Final, 4.75 hrs	
Actual Organism:	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			Bionumber:	0003041303500040	
Expected Organism:	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC9721					
ID Analysis Messages						

Biochemical Details											
Well	Code	Actual	Expected	Well	Code	Actual	Expected	Well	Code	Actual	Expected
2	APPA	-	v	21	BXYL	-	v	42	SUCT	+	v
3	ADO	-	v	22	BAlap	+	+	43	NAGA	-	v
4	PyrA	-	v	23	ProA	+	v	44	AGAL	-	v
5	IARL	-	v	26	LIP	-	v	45	PHOS	-	v
7	dCEL	-	v	27	PLE	-	v	46	GlyA	-	v
9	BGAL	-	v	29	TyrA	+	v	47	ODC	-	v
10	H2S	-	v	31	URE	+	v	48	LDC	-	v
11	BNAG	-	v	32	dSOR	-	v	53	IHISa	-	v
12	AGLTp	-	v	33	SAC	-	v	56	CMT	-	v
13	dGLU	+	v	34	dTAG	-	v	57	BGUR	-	v
14	GGT	+	v	35	dTRE	-	v	58	O129R	-	v
15	OFF	-	v	36	CIT	+	v	59	GGAA	-	v
17	BGLU	-	v	37	MNT	+	v	61	IMLTa	+	v
18	dMAL	-	-	39	5KG	-	v	62	ELLM	-	v
19	dMAN	-	v	40	ILATk	+	+	64	ILATa	-	v
20	dMNE	-	v	41	AGLU	-	v				

* Discrepant result + = positive - = negative v = variable

Pappersutskrift från Vitek® 2 -analysatorn vid resistensbestämning av *Staphylococcus aureus* med resistensbestämningskortet AST-P580.

NordLab Kokkola

bioMerieux Customer:
System #:

Laboratory Report

Printed May 22, 2013 17:56 EEST
Autoprint

Patient Name:

*** Alert Applied ***

Patient ID:

Isolate Group: T10297-1

Selected Organism: *Staphylococcus aureus*

Comments:	mahdollinen MRSA, tee MRSA jatkot

Identification Information		
Selected Organism	Staphylococcus aureus	
Analysis Messages:	Entered: May 22, 2013 10:19 EEST	By: labadmin

Susceptibility Information	Card: AST-P580	Lot Number: 360267640	Expires: Apr 12, 2014 13:00 EEST		
	Completed: May 22, 2013 17:56 EEST	Status: Final	Analysis Time: 8.25 hours		
Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Cefoxitin Screen	POS	+	Teicoplanin	<= 0.5	S
Benzylpenicillin	>= 0.5	R	Vancomycin	1	S
Oxacillin	>= 4	R	Tetracycline	<= 1	S
Gentamicin	<= 0.5	S	Tigecycline	<= 0.12	S
Tobramycin	<= 1	S	Fosfomycin	<= 8	S
Levofloxacin	4	R	Nitrofurantoin		
Moxifloxacin	1	I	Fusidic Acid	<= 0.5	S
Inducible Clindamycin Resistance	NEG	-	Mupirocin		
Erythromycin	>= 8	R	Rifampicin	<= 0.5	*I
Clindamycin	<= 0.25	S	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	<= 10	S
Linezolid	2	S			

+= Deduced drug *= AES modified **= User modified

AES Findings:	Last Modified: Jan 31, 2013 15:10 EET	Parameter Set: KPSHP EUCAST+phenotypic-based
Confidence Level:	Consistent	

Installed VITEK 2 Systems Version: 05.04
MIC Interpretation Guideline: Copy of EUCAST
AES Parameter Set Name: KPSHP EUCAST+phenotypic-based

Therapeutic Interpretation Guideline: PHENOTYPIC
AES Parameter Last Modified: Jan 31, 2013 15:10 EET

Pappersutskrift från Vitek® 2 -analysatorn vid resistensbestämning av *Staphylococcus aureus* med resistensbestämningskortet AST-P629.

NordLab Kokkola

bioMerieux Customer:
System #: -

Laboratory Report

Printed May 30, 2013 12:46 EEST
Printed by: labadmin

Patient Name:

*** Alert Applied ***

Patient ID:

Isolate Group: T10297-1

Selected Organism: Staphylococcus aureus

Comments:	mahdollinen MRSA, tee MRSA jatkot

Identification Information	
Selected Organism	Staphylococcus aureus
	Entered: May 30, 2013 12:46 EEST By: labadmin
Analysis Messages:	

Susceptibility Information	Card: AST-P629	Lot Number: 539269520	Expires: May 1, 2014 13:00 EEST		
	Completed: May 30, 2013 00:54 EEST	Status: Final	Analysis Time: 8.50 hours		
Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Cefoxitin Screen	POS	+	Linezolid	2	S
Benzylpenicillin	>= 0.5	R	Teicoplanin	<= 0.5	S
Oxacillin	>= 4	R	Vancomycin	<= 0.5	S
Gentamicin	<= 0.5	S	Tetracycline	<= 1	S
Tobramycin	<= 1	S	Nitrofurantoin		
Ciprofloxacin	>= 8	R	Fusidic Acid	<= 0.5	S
Inducible Clindamycin Resistance	NEG	-	Rifampicin	<= 0.03	S
Erythromycin	>= 8	R	Trimethoprim	<= 0.5	S
Clindamycin	0.25	S	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	<= 10	S
Quinupristin/Dalfopristin	<= 0.25	S			

+ = Deduced drug * = AES modified ** = User modified

AES Findings:	Last Modified: Jan 31, 2013 15:10 EET	Parameter Set: KPSHP EUCAST+phenotypic-based
Confidence Level:	Consistent	

Installed VITEK 2 Systems Version: 05.04
MIC Interpretation Guideline: Copy of EUCAST
AES Parameter Set Name: KPSHP EUCAST+phenotypic-based

Therapeutic Interpretation Guideline: PHENOTYPIC
AES Parameter Last Modified: Jan 31, 2013 15:10 EET