

Ringtest for identifikation og resistensbestemmelse af mastitispatogener. Evalueringsrapport – den første ringtest.

ISBN: 978-87-92158-54-3

Danmarks Fødevarerforsknin (DFVF) har i samarbejde med DDD sektion for kvæg udbudt en ringtest for identifikation og resistensbestemmelse af mastitispatogener til de praktiserende dyrlæger. Formålet er, at give dyrlægerne lejlighed til at teste, hvor pålidelige deres ”hjemmediagnostik” er, samt udarbejde redskaber til fremtidig støtte heraf. Der blev bragt en artikel omhandlende testen i Dansk Veterinærtidsskrift 2005, 88,3, 1/2. Det fremgik heri at testen bestod i testning af 15 mælkeprøver og rapportering via Internettet. Efter tilmeldingsfristens udløb d.15 februar 2005 var der 40 tilmeldte dyrlægepraksis.

D.1 marts 2005 blev der udsendt individuelle pakker til alle tilmeldte praksis. Pakkerne indeholdt 15 mælkeprøver tilsat de forskellige patogener samt et følgebrev angivende individuelle login og password. Det var valgfrit for praksis i hvilken udstrækning de ville deltage i testen, men der var mulighed for at identificere alle 15 patogener, samt deres resistens overfor tre antibiotika (penicillin, tetracyclin og makrolider).

Undersøgelsens resultater er baseret på 38 besvarelser og opgjort d.29 april. Vi har måttet konstatere at to praksis ikke havde indtastet deres resultater ved opgørelsens af resultaterne.

Identifikation:

Beklageligvis blev pakkerne udsendt, uden at praksis blev adviseret, og uden at disse fik oplyst, hvilke substrater der skulle danne grundlag for undersøgelsen.

Dette er naturligvis taget ad notum, således, at der ved næste ringtest udsendes en varslin om pakkernes ankomst samt hvilke materialer der er påkrævet. Det forventes yderligere at udsendelsen sker således, at prøverne ikke skal undersøges i forbindelse med weekender. Efterfølgende blev der til tre praksis udsendt erstatningspakker.

Der var i forbindelse med indtastning af resultaterne på Internettet nogle uoverensstemmelse i anvendelse af navne for de forskellige bakterier. Det forårsagede, at nogle deltagere uretmæssigt fik fejl i deres identifikation. Dette er efterfølgende og undervejs blevet tilrettet således, at alle fejl som skønnes relateret til problemer med nomenklaturen, ikke fremgår af de endelige rapporter. De individuelle rapporter er derfor vedlagt i bilag 1, da det ikke har været muligt at underrette alle deltager omkring ændringerne i deres besvarelse.

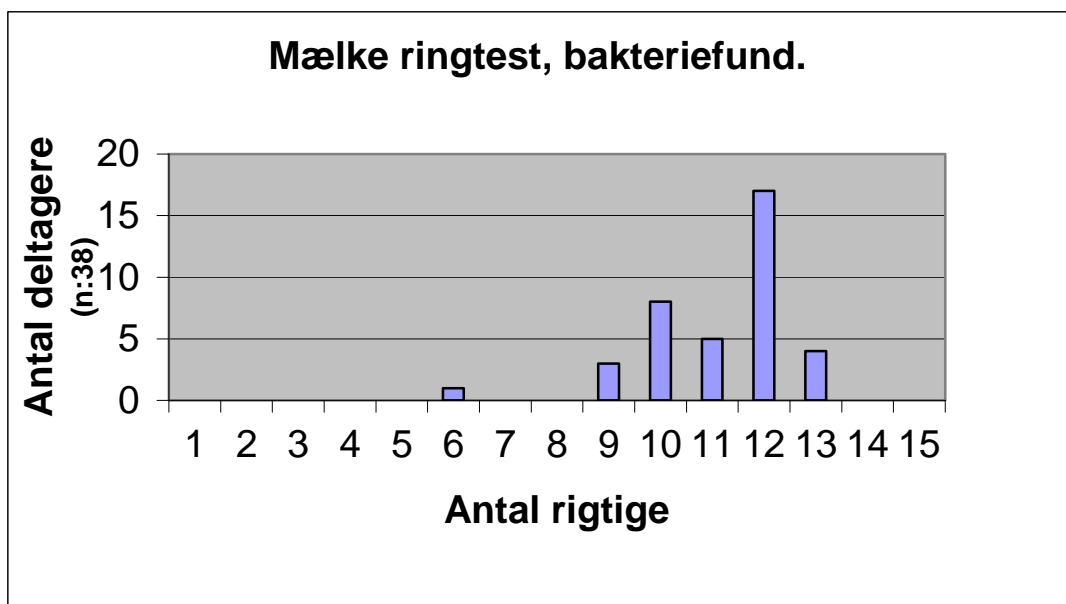
DFVF var forud for testen ikke klar over, hvilke redskaber de enkelte praksis havde til rådighed her under identifikationsskemaet fra Mejeriforeningen. Nomenklaturproblemerne var primært afgrænset til enkelte species såsom:

| Korrekt navn: | Forældet / forkert navn: | Bemærkninger: |
|--|---|--|
| Koagulasenegative Staphylokokker (CNS) | Mikrokokker | Mikrokokker er en selvstændig gruppe, som ikke må forveksles med CNS. Kan adskilles på kolonimorfologi samt på resistensmønstret overfor furazolidone og bacitracin. Mikrokokker vokser desuden langsommere. |
| Enterokokker: | Fækale streptokokker <i>Streptococcus lactis</i> / <i>faecalis</i> | Det er mere end 20 år siden, at fækale Streptokokker ændrede navn til Enterokokker, hvoraf <i>faecalis</i> er en ud af 23 species. <i>Streptococcus lactis</i> er ikke en af dem. |

Der opstod mindre problemer ved indtastning af forventede fund på Internettet i relation til ”pick listen”. DFVF var for ud for testen ikke informeret om, hvor stor en detaljeringsgrad, der kunne forventes til identifikationen af prøverne. Derfor blev ”pick listen” suppleret med valg indenfor både genus og species. Det har senere vist sig, at valgene indenfor *Staphylococcus spp.* og *Enterococcus spp.* var overflødige, og derfor bortfalder for fremtidig ringtest. Enkelte valg vil for fremtiden blive tilføjet listen såsom: Steril prøve, Hæm. Strep., Grp.G. Strep. og Grp.C Strep. Yderligere er der fremsat ønske om, at der ud for de forskellige prøver er mulighed for at tilkendegive, at man har til hensigt at indsende prøveorganismen til verifikation. Dette vil vi selvfølgelig imødekomme.

På figur 1 over forholdet imellem antal deltagere og antal rigtige fremgår det, at størstedelen af deltagerne har 12 rigtige med yderpunkterne ved henholdsvis 6 og 13 rigtige. Det var muligt maksimalt at få 15 rigtige. Årsagen til at ingen deltager scorede alle 15 rigtige skal nok findes i, at ikke alle kunne genfinde *Micrococcus spp.* i prøve 10 samt at der var store problemer med at identificere *Streptococcus agalactiae* og *Streptococcus canis* i prøverne 13 og 14. Desuden voldte prøve 6 (*Staphylococcus cohnii*) nogle problemer.

Figur 1:



I tabel 2 vises den procentvise fordeling imellem rigtige / forkerte identifikationer for de 15 prøver. Her kan det yderligere ses, hvor store problemerne var og hvilke organismer, der lå til grund her for.

Tabel 2:

| Prøve: | Forventet fund: | Rigtige % | Forkerte % | Blank % | Rigtige n: | Forkerte n: | Blank n: | Total n: | Afvigelse: |
|--------|---------------------------|-----------|------------|---------|------------|-------------|----------|----------|---|
| 1 | <i>Staph aureus</i> | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 38 | 0 | 0 | 38 | |
| 2 | <i>Staph aureus</i> | 89,5 | 7,9 | 2,6 | 34 | 3 | 1 | 38 | 3*CNS, |
| 3 | <i>Staph aureus</i> | 94,7 | 5,3 | 0,0 | 36 | 2 | 0 | 38 | 2*CNS |
| 4 | <i>Staph epidermidis</i> | 84,2 | 15,8 | 0,0 | 32 | 6 | 0 | 38 | S.a, S.dys, 2*E.coli, 2*Gær |
| 5 | <i>Staph epidermidis</i> | 81,6 | 18,4 | 0,0 | 31 | 7 | 0 | 38 | Mikrokok, 5*S.aureus, Gær |
| 6 | <i>Staph cohnii</i> | 50,0 | 50,0 | 0,0 | 19 | 19 | 0 | 38 | 8*Ent, 8*S..uberis, Mikrokok, 2*E.coli |
| 7 | <i>Strep dysgalactiae</i> | 89,5 | 10,5 | 0,0 | 34 | 4 | 0 | 38 | Grp.A Strep, A..pyogenes, CNS, Grp. B Strep. |
| 8 | <i>Strep dysgalactiae</i> | 92,1 | 5,3 | 2,6 | 35 | 2 | 1 | 38 | mikrokok, S.agalactiae |
| 9 | <i>Strep uberis</i> | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 38 | 0 | 0 | 38 | |
| 10 | <i>Mikrokokkus luteus</i> | 15,8 | 21,1 | 63,2 | 6 | 8 | 24 | 38 | 5*CNS, Cor.bovis, E.coli, S.uberis |
| 11 | <i>E.coli</i> | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 38 | 0 | 0 | 38 | |
| 12 | <i>Ent. Faecium</i> | 97,4 | 2,6 | 0,0 | 37 | 1 | 0 | 38 | Mikrokok |
| 13 | <i>Strep agalactiae</i> | 21,1 | 76,3 | 2,6 | 8 | 29 | 1 | 38 | 3*CNS, 2*S.bovis, 6*Grp.A Strep, S.pyrogenes, S.canis, 10*S.dysgalactiae., A.pyogenes, gær, Enterokok |
| 14 | <i>Strep canis</i> | 2,6 | 94,7 | 2,6 | 1 | 36 | 1 | 38 | 17*Grp.B Strep, 11*S.agalactiae, 3*Grp. A Strep, E.coli, 2*CNS, Corr., S.bovis |
| 15 | <i>Strep dysgalactiae</i> | 97,4 | 2,6 | 0,0 | 37 | 1 | 0 | 38 | S.bovis |

Der var henholdsvis tre og to deltager som identificere CNS i prøverne 2 og 3, der indeholdt *Staphylococcus aureus*. Det er ikke en stor fejlprocent (7,9%, 5,3%), men det er dog vigtigt at kunne skelne imellem disse. Der ses for tiden er opblomstring af humane tilfælde af Methicillin resistente *S. aureus* (MRSA) i vores nabolande. Det var før i tiden associeret med rejseaktivitet eller hospitalsophold. Vi skal dog være meget opmærksomme på dette problem, da MRSA er meget smitsomt, og der for tiden ikke eksistere en direkte overvågning på området.

I prøverne 4 og 5 er der seks og syv deltagere for hver prøve svarende til 15,8% og 18,4% som har valgt en anden organisme end den rigtige (CNS). I fem ud af seks tilfælde for prøve 4 ville fejlen være opdaget ved korrekt brug af katalase og mikroskopi. *Streptococcus dysgalactiae* kan udelades på baggrund af en negativ reaktion i katalase testen, mens *E. coli* og gær ved en makroskopisk vurdering vil kunne udelades. *E. coli* er en Gram negativ stav, mens gær har forholdsvis store celler sammenlignet med både Staflykokker og Streptokokker. Ved prøve 5 havde fem deltagere angivet *S. aureus*, mens en anden havde *Micrococcus spp.* og gær. *Micrococcus spp.* var ikke blevet rettet jf. problemer med nomenklaturen, da der ikke var konsensus i besvarelsen overfor de andre CNS. *Micrococcus spp.* kan adskilles på kolonimorfologi samt på resistensmønstret overfor furazolidone og bacitracin. Mikrokokker vokser desuden langsommere end CNS. *S. aureus* kan skelnes fra CNS ud fra en koagulasetest, hvor kun meget få Stafylokokker og *S. aureus* er positive. Yderligere kan der foretages en hyaluronidasetest ved brug af en kapseldannende *Pasturella*

multocida, hvor kun *S. aureus* og *Staphylococcus hyicus* er positive. Disse kan differenceres på baggrund af hæmolysen, idet *S. hyicus* aldrig udviser hæmolyse.

Der var som tidligere nævnt flere deltagere, som havde problemer med prøve 6, *S. cohnii*. Der var 50.0% som havde denne prøve forkert, hvilket synes højt når det drejer sig om en almindelig CNS, som kan skelnes fra Streptokokkerne / Enterokokkerne på katalasetesten. Otte deltagere havde fundet Enterokokker i prøven og andre otte havde fundet *Streptococcus uberis*. Årsagen til at så mange har haft fejl i denne prøve skal nok findes i, at *S. cohnii* kan grønfarve mediet rundt om kolonierne på en almindelig blodagar plade på lige fod med for eksempelvis Enterokokker. En deltager havde fundet Mikrokokker, som må betegnes som en mindre fejl modsat to andre, som har fundet *E. coli*. En simpel mikroskopi skulle gerne kunne udelade den Gram-negative stav *E. coli* fra de Gram-positive kokker.

Prøverne 7-9, 12 samt 15 indeholdt henholdsvis *S. dysgalactiae*, *Enterococcus faecium* og *S. uberis*. Der synes ikke, at være de store vanskeligheder med at identificere disse patogener. Der er som tidligere nævnt ændret i flere besvarelser for prøve 12, da der tydeligvis var problemer med nomenklaturen. Vi har skønnet, at det ikke var et krav at identificere denne prøve længere end til genus niveau. For prøverne 7 og 8 indeholdende *S. dysgalactiae* var der kun sammenlagt seks deltagere, som havde fundet en anden organisme. Der var tale om Grp.A/B Streptokok, *Arcanobacterium pyogenes*, CNS, *S. agalactiae* og *Micrococcus spp.* *Micrococcus spp* kan udelades på baggrund af en positiv reaktion i katalase testen og Grp.A Streptokokken og *A. pyogenes* ved en makroskopisk vurdering, idet begge er hæmolytiske. Sammenblandingen med *S. agalactiae* er lidt kritisk, og vil senere i teksten bliver gennemgået i forbindelse med prøve 13.

100% af deltagerne havde prøve 9 rigtig. I prøverne 12 og 15 var der i hver prøve kun en enkelt deltager, som havde en fejl. I prøve 12 skyldtes fejlen på lignende vis, som i prøve 8, *Micrococcus spp.* og i prøve 15 var fejlen *Streptococcus bovis*. *S. bovis* er aesculin positiv, hvorimod *S. dysgalactiae* er negativ.

Mikrokokken i prøve 10 var der 63,2% af deltagerne, som ikke kunne få til at gro. Dog havde 15,8% en korrekt diagnose. Prøven var tilsået med få kim, og yderligere er Mikrokokker langsomvoksende. Dette er nok årsagen til, at så mange havde prøven steril eller forkert. Dog var der mange bud på, hvad prøven kunne indeholde, såsom *Corynebacterium bovis*, *E. coli*, *S. uberis* eller CNS. Som tidligere nævnt, er der ved brug af simple test mulighed for at udelukke disse.

Prøve 11 var den eneste, som indeholdt en Gram-negativ bakterie, nemlig *E. coli*. Der var 100% korrekt besvarelse fra deltagerne side.

Det ser ud til, at der var store problemer med at identificere *S. agalactiae* i prøve 13, hvor kun 21,1% havde den rigtig. Dette er et alvorligt problem, idet *S. agalactiae* er indberetningspligtig og 29 af deltagerne havde overset denne, og derved ikke fået det indberettet til myndighederne. Stammen er sekventeret og identificeret på baggrund af 16S før tilsætning i prøven og efterfølgende precipiteret B-Streptokok gruppen. Årsagen kan ligge i, at de identifikationsskemaer som er til rådighed i praksis har beskrevet *S. agalactiae* som hæmolytisk. Det er dog en sandhed med modifikationer, idet *S. agalactiae* lige så vel kan være an-hæmolytisk eller svagt hæmolyserende. (publikation vedlagt som bilag 2). Ti deltagere havde set prøve 13 som indeholdende *S. dysgalactiae* og otte deltagere havde valgt en form for hæmolytisk Streptokok, såsom *S. canis*, *Streptococcus pyogenes* eller Grp. A Streptokok. Ud over dette var der valgt følgende genus eller species: 3 * CNS, 2* *S. bovis*, *A. pyogenes*, gær og Enterokok. Ved generelt fremtidig brug af CAMP test overfor Streptokokker kunne problemet med an-hæmolytiske *S. agalactiae* løses, idet alle både hæmolytiske og an-hæmolytiske *S. agalactiae* producerer CAMP faktor overfor en beta-hæmolytisk *S. aureus*. Dette er beskrevet i bilag 2.

På samme måde som prøve 13 voldte prøve 14 lige så store problemer, da kun 2.6% af deltagerne havde denne prøve rigtig. Prøven var tilsat den hæmolytiske *S. canis*. 28 deltagere havde fejlagtigt betegnet denne som enten Grp.B Streptokok eller *S. agalactiae*. Dog regner vi med, at det er praksis at lade præsumptive *S. agalactiae* verificeres før indberetningen til myndighederne. Yderligere havde tre deltagere identificeret bakterien til at være en Grp A. Streptokok og forslag såsom *E. coli*, 2*CNS, *S. bovis* og *Corynebacterium spp.* var ligeledes nævnt. *S. canis* er muligvis ikke den mest almindelige mastitis patogen, om end den fra tid til anden ses i nogle besætninger. Den gængse opfattelse er, at hunde overfører bakterien til kvæget (publikation vedlagt som bilag 3). Ved brug af CAMP testen ville fejlen i testen være opdaget, idet *S. canis* ikke er CAMP producerende.

I bilag 4 vil der være forslag til simple tests til inddeling af de almindeligste mastitis patogener.

Resistensbestemmelse:

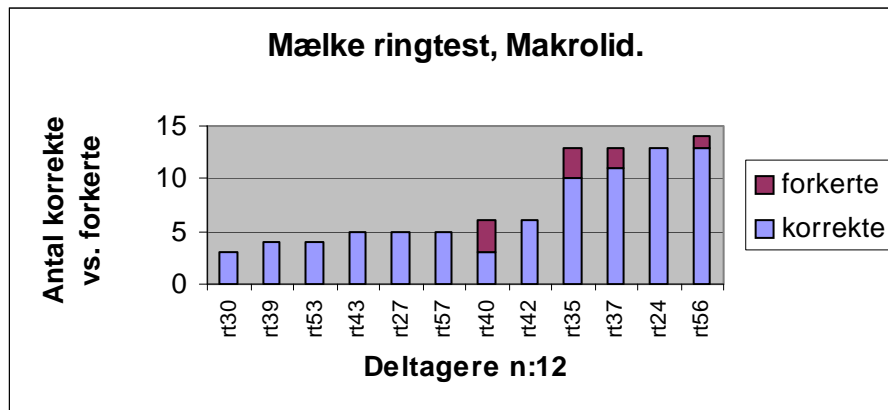
Ringtesten bestod foruden identifikationen af patogener, ligeledes af en resistensbestemmelsesdel overfor antibiotika penicillin, tetracyclin og makrolid gruppen. Vi havde fra begyndelsen i testmaterialet bekendtgjort, at vi foruden penicillin og tetracyclin gjorde det muligt at bestemme resistensforholdet til erythromycin, da det normalt er dette antibiotika, der henføres til i internationale standarder for resistens overfor makrolider (NCCLS, M2-A7/M100-S13). Vi skønnede derfor, at det var hensigtsmæssigt, at lade dette stof repræsentere makrolid gruppen. Vi ændrede dog hurtigt erythromycin til at omhandle hele gruppen, da det blev påpeget at der ikke bliver benyttet erythromycin til behandling af kvæg i Danmark. Dette er selvfølgelig helt korrekt og for ikke at minimere mulighederne for deltagelse i resistensbestemmelsen overfor dette antibiotikum, lod vi det være åbent, hvilket antibiotika indenfor gruppen af makrolider man benyttede. Det var derfor ligeledes muligt foruden erythromycin at benytte tylosin eller spiramycin, da det kun er disse, som er godkendte stoffer af makrolid gruppen i DK til behandling af eksempelvis mastitis. Alle tre stoffer udviser krydsresistens, hvorfor man gerne skulle få samme resultat, uanset hvilket antibiotika man benytter.

Vi mente, det var mest hensigtsmæssigt helt at udelade muligheden for at resistensbestemme prøve 11, *E. coli*, da denne er naturlig resistent overfor penicillin og makrolider. Ved helt at udelade muligheden, så vi størst chance for ikke at forvirre deltagerne med hensyn til resistensbestemmelsen overfor de to øvrige antibiotika.

Vi observerede efter de første få indrapporterede besvarelser, at der muligvis var en forkert forventede fortolkning i prøve 1. Vi bestemte efterfølgende den *S. aureus*, som udgjorde prøve 1 ved brug af minimal inhibitory concentration (MIC), hvilket viste sig at have tabt resistensgenet. Stammen er en velkarakteriserede *S. aureus* fra Holland, som før har indgået i en EU antibiotika ringtest (ARBAO II) med over 19 deltagende Europæiske reference laboratorier. Vi var dog på baggrund af resultatet, nødsaget til at ændre den forventede fortolkning af prøve 1 fra R, resistent til S, sensitiv.

Der var 12 deltagere, som har testet prøverne overfor makrolid gruppen. Dog er der stor forskel på antallet af testede prøver blandt deltagerne. I figur 3 kan man se at antallet af de undersøgte prøver imellem deltagerne varierer fra 3 til 14 prøver, hvoraf 4 deltager næsten har bestemt alle prøverne. Otte deltagere havde alle testet prøverne korrekt, hvoraf den ene havde hele 13 rigtige.

Figur 3:



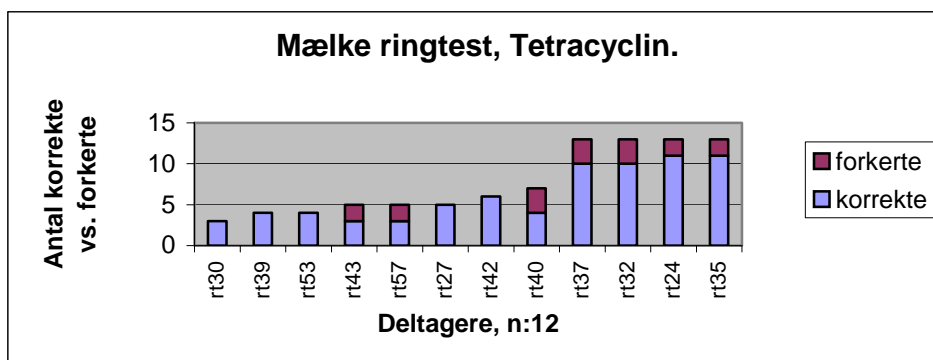
På baggrund af det lave antal udførte bestemmelser, er det svært se nogle generelle tendenser på Tabel 4. Man kan yderligere se på Tabel 4, hvilke prøver der er testet og hvor mange rigtige der er opnået. Endvidere er der ikke i bestemmelsen mulighed for, at man kan indtastes en værdi, hvilket gør det svært at se om de enkelte deltagere, som har de forskellige prøver forkert, er langt fra den korrekte følsomhedskategori. Følsomhedskategorien i prøve nummer 4-6 er for fire deltagere bestemt til at være I, intermediær, hvilket i mange andre sammenhæng kun vurderes som små fejl. Generelt kan man sige, at det ville være naturligt at forvente prøve 1-6 værende sensitive, da resistens overfor makrolider i Stafylokokker kun sjældent ses. Derimod er det ikke usædvanligt, at se Streptokokker og Enterokokker resistente overfor for eksempelvis erythromycin. Der synes ikke at være en speciel prøve, som giver anledning til problemer. Dog ligger det procentvise korrekte niveau noget lavt i prøverne 4, 5, 6, 9 og 14. Dette skyldes primært det lave antal udførte tests, samt at der i prøverne 4, 5 og 6 er fundet fire intermediære værdier. Hvis det samtlige antal udførte tests (88x) sammenholdes med det totale antal fejl (10x) vil den totale fejlprocent være 11.4%, hvilket umiddelbart må siges at være lavt taget de fire intermediære fejl i betragtning.

Tabel 4:

| Prøve: | Forventet Ery res: | Rigtige % | Forkerte % | Blank % | Rigtige n: | Forkerte n: | Blank n: | Total n: | Afvigelserne: |
|--------|--------------------|-----------|------------|---------|------------|-------------|----------|----------|---------------|
| 1 | S | 91,7 | 8,3 | 0,0 | 11 | 1 | 0 | 12 | |
| 2 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 4 | 0 | 0 | 4 | |
| 3 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 12 | 0 | 0 | 12 | |
| 4 | S | 85,7 | 14,3 | 0,0 | 6 | 1 | 0 | 7 | (I) |
| 5 | S | 75,0 | 25,0 | 0,0 | 9 | 3 | 0 | 12 | 2*(I) |
| 6 | S | 77,8 | 22,2 | 0,0 | 7 | 2 | 0 | 9 | (I) |
| 7 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 4 | 0 | 0 | 4 | |
| 8 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 4 | 0 | 0 | 4 | |
| 9 | R | 75,0 | 25,0 | 0,0 | 3 | 1 | 0 | 4 | |
| 10 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 1 | 0 | 0 | 1 | |
| 12 | R | 90,0 | 10,0 | 0,0 | 9 | 1 | 0 | 10 | |
| 13 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 4 | 0 | 0 | 4 | |
| 14 | S | 80,0 | 20,0 | 0,0 | 4 | 1 | 0 | 5 | |
| 15 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 4 | 0 | 0 | 4 | |

Tolv deltagere valgte at bestemme prøverne overfor tetracyclin, og ligesom for makroliderne varierede det meget blandt deltagerne, hvor mange prøver de valgte ud af de 14 at bestemme resistens overfor. På Figur 5 kan man se, at det varierer imellem 3 til 13 bestemmelser, hvoraf fem deltagere havde alle prøver rigtige. Fire af deltagere valgte at bestemme alle 14 prøver.

Figur 5:



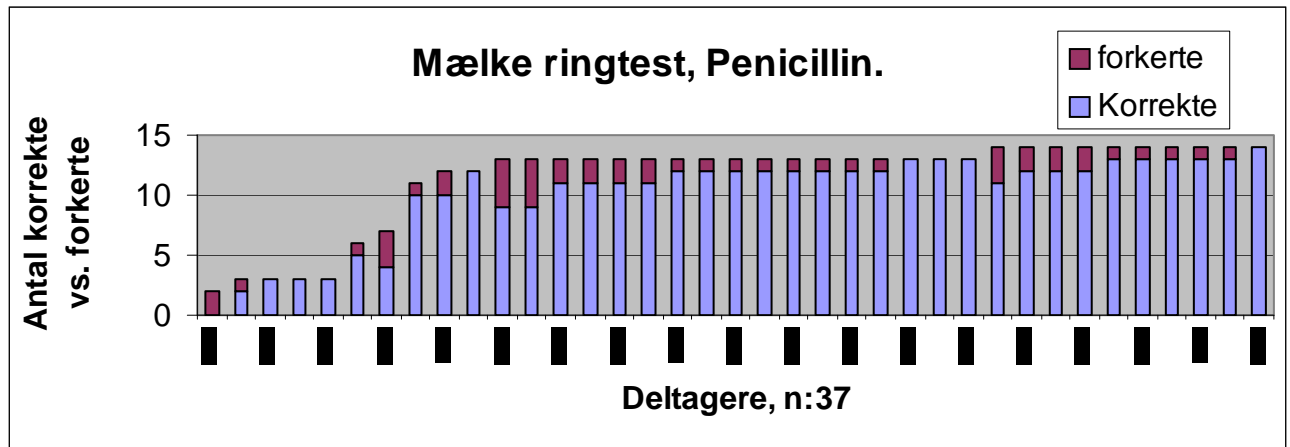
Generelt set er det ligeledes svært at konkludere noget ud fra tabel 6 på så få besvarelser, dog er der udført totalt set 91 tests, hvoraf 17 var forkerte. Det giver en fejlprocent på 18,7%, hvilket synes højt. Det skal dog nævnes at fem ud af de 17 fejl var bestemt som intermediær. På det usikre grundlag er der dog et par prøver der skiller sig ud med et lavt procentvist korrekt niveau. Det drejer sig om prøverne 4, 5, 6, 8, 12 og 13. Ved prøve 4, 8 og 13 synes forklaringen at være det lave antal tests sammenholdt med en enkelt eller to fejl. Prøverne 5, 6, 8 og 12 repræsenterer netop de prøver, hvor der er blevet bestemt et intermediær resultat. Yderligere har netop prøverne 5, 6 og 12 en forventede følsomhedskategori R, resistent. Det vides ikke, om det spiller en rolle i relation til de intermediære bestemmelser. På trods af det lave antal tests i prøve 6, ser det ud til at denne prøve kunne volde lidt problemer, idet 55,6% har valgt den forkerte følsomhedskategori. Bakterien i prøve 6 er Hollandsk, og har ligeledes indgået i den overstående EU-antibiotika ringtest, hvor den er testet til en MIC værdi større end 16ug/ml, hvilket svarer til resistent. Der var ingen deltagere, som testede prøve 10.

Tabel 6:

| Prøve: | Forventet Tet res: | Rigtige % | Forkerte % | Blank % | Rigtige n: | Forkerte n: | Blank n: | Total n: | Afvigelserne: |
|--------|--------------------|-----------|------------|---------|------------|-------------|----------|----------|---------------|
| 1 | S | 91,7 | 8,3 | 0,0 | 11 | 1 | 0 | 12 | |
| 2 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 4 | 0 | 0 | 4 | |
| 3 | S | 91,7 | 8,3 | 0,0 | 11 | 1 | 0 | 12 | |
| 4 | S | 85,7 | 14,3 | 0,0 | 6 | 1 | 0 | 7 | |
| 5 | R | 75,0 | 25,0 | 0,0 | 9 | 3 | 0 | 12 | (I) |
| 6 | R | 44,4 | 55,6 | 0,0 | 4 | 5 | 0 | 9 | (I) |
| 7 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 4 | 0 | 0 | 4 | |
| 8 | S | 50,0 | 50,0 | 0,0 | 2 | 2 | 0 | 4 | (I) |
| 9 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 4 | 0 | 0 | 4 | |
| 10 | S | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0 | 0 | 0 | 1 | |
| 12 | R | 60,0 | 40,0 | 0,0 | 6 | 4 | 0 | 10 | 2*(I) |
| 13 | S | 80,0 | 20,0 | 0,0 | 4 | 1 | 0 | 5 | |
| 14 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 5 | 0 | 0 | 5 | |
| 15 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 4 | 0 | 0 | 4 | |

Helt overraskende er det ikke, at situationen er helt anderledes ved resistensbestemmelse overfor penicillin, hvor det fremgår på figur 7, at 37 deltagere har bestemt mellem 2 og 14 prøver. 30 deltagere ud af de 37 har bestemt mellem 11-14 prøver, hvoraf en deltager har alle 14 korrekte. Totalt set ligger fejlprocenten på 11.3%.

Figur 7:



Det er glædeligt at se, at så mange har bestemt resistensforholdet overfor penicillin. Det ser tilsyneladende også ud til, at diagnostikken i praksis virker efter hensigten. Der er således i prøverne 2, 7, 8, 9, 12, 13 og 15 100% korrekt besvarelse. I prøverne 1, 3 og 5 er der henholdsvis tre, to og to intermediære bestemmelser ud af de fire, tre og fem fejl, hvilket gør at besvarelserne for disse prøver nærmer sig en næsten 100% korrekt bestemmelse. Det ser ud til, at der i prøve 4 er nogle vanskeligheder med at bringe bakterien til overensstemmelse med forventede resultat. Hele 14 deltagere ud af 32 havde fejl ved denne bestemmelse svarende til 43,8%. Stafylokokken i denne prøve er før testet resistent overfor penicillin med en MIC værdi på 1ug/ml. Et forkert benyttet fortolkningsinterval overfor penicillin kan ikke være grunden til fejlen, da der ikke var mange deltagere (se tabel 2) som havde identifikationen forkert i prøver 4. Det kan ikke med sikkerhed siges, hvad der ligger til grund for fejlfortolkningen af prøven. Prøve 6 har i identifikation ligeledes givet problemer, som den gør i resistensbestemmelsen overfor penicillin, hvor der ifølge Tabel 8 er 14 deltagere ud af 33, som har fejlbestemt denne prøve svarende til 42,4%. Prøven indeholder en sensitiv Staphylokok med en MIC værdi på 0.12 ug/ml. Der er ikke noget indlysende grund til, at så mange deltagere har fået fejlbestemt denne prøve.

Den langsomt voksende Mikrokok i prøve 10 var der ikke mange deltagere, som fik lejlighed til at teste, idet den var svær at få til at gro. Dog lykkes det 11 deltagere at resistensbestemme denne, hvoraf to deltagere havde fejl i bestemmelsen af følsomhedskategorien. Da antallet for bestemmelsen er så lav, er det svært at konkludere noget ud fra dette i lighed med bestemmelserne overfor tetracyklin og makroliderne.

Tabel 8:

| Prøve: | Forventet Pen res: | Rigtige % | Forkerte % | Blank % | Rigtige n: | Forkerte n: | Blank n: | Total n: | Afvielserne: |
|--------|--------------------|-----------|------------|---------|------------|-------------|----------|----------|--------------|
| 1 | R | 89,2 | 10,8 | 0,0 | 33 | 4 | 0 | 37 | 3*(I) |
| 2 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 30 | 0 | 0 | 30 | |
| 3 | R | 91,7 | 8,3 | 0,0 | 33 | 3 | 0 | 36 | 2*(I) |
| 4 | R | 56,3 | 43,8 | 0,0 | 18 | 14 | 0 | 32 | 2*(I) |
| 5 | R | 85,7 | 14,3 | 0,0 | 30 | 5 | 0 | 35 | 2*(I) |
| 6 | S | 57,6 | 42,4 | 0,0 | 19 | 14 | 0 | 33 | 2*(I) |
| 7 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 30 | 0 | 0 | 30 | |
| 8 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 29 | 0 | 0 | 29 | |
| 9 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 30 | 0 | 0 | 30 | |
| 10 | S | 81,8 | 18,2 | 0,0 | 9 | 2 | 0 | 11 | |
| 12 | R | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 33 | 0 | 0 | 33 | |
| 13 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 29 | 0 | 0 | 29 | |
| 14 | S | 96,4 | 3,6 | 0,0 | 27 | 1 | 0 | 28 | |
| 15 | S | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 30 | 0 | 0 | 30 | |

Fremtidig aspekt:

Generelt set er resultatet for både identifikationen og resistensbestemmelserne tilfredsstillende ud på nær de tilfælde, som i det ovenstående er uddybet. DFVF har fået en større indsigt i kapaciteterne i praksis og vil i fremtiden forsøge at støtte op om dette projekt samt fortsat have en gunstig dialog med dyrlægeforeningen omkring at højne niveauet i praksis. Der er i skrivende stund tentative forslag til et bakteriologisk kursus for dyrlæge til efteråret 2005. Vi regner med, at der tilgår flere oplysninger om tilbudet på et senere tidspunkt via dyrlægeforeningen.

Der blev på sidste DDD møde i kvægsektionen ydret ønske om, at praksis for en pris af 20 dkr per stamme kunne indsende to månedlige *S. aureus* isolater til PCR undersøgelse overfor det specifikke resistensgen *MecA*. Dette skulle ses som både en kvalitetskontrol af identifikationsproceduren overfor *S. aureus* i de enkelte praksis, men ligeledes som en fælles overvågning af Methicillin resistente problemet i *S. aureus* (MRSA). Der vil senere blive publiceret en mere detaljeret beskrivelse af problemet i tidsskriftet "Kvægposten".

Vi håber, at ringtesten har været givtig og har synliggjort nogle eventuelle problemer i relation til identifikationer ude i praksis. Vi regner med at fortsætte projektet igen til januar 2006 med en ny ringtest, hvor vi vil forsøge at skærpe sværhedsgraden. Hvis der skulle være spørgsmål eller forslag til ovenstående, skal I være velkommen til at rette henvendelse til undertegnede.

Med Venlig Hilsen

Rene Hendriksen, Frank Aarestrup & Kaspar Krogh