

Κριτική ανάγνωση του αντιβιογράμματος



Κριτική ανάγνωση αντιβιογράμματος

Νοητική άσκηση
για λίγους από εμάς;
ή



Αναγκαιότητα εκ μέρους όλων μας;



Προϋποθέσεις κριτικής ανάγνωσης αντιβιογράμματος

1) Ακριβής ταυτοποίηση του
μικροοργανισμού σε επίπεδο
είδους



Προϋποθέσεις κριτικής ανάγνωσης αντιβιογράμματος

Σε μικρόβια που απομονώνονται από **ENY**
δεν αναφέρουμε στην απάντηση:

Αντιβιοτικά από του στόματος
Κεφαλοσπορίνες 1^{ης}, 2^{ης} γενιάς
Κεφαμυκίνες
Κλινδαμυκίνη
Μακρολίδες
Τετρακυκλίνες
Φλουροκινολόνες

CLSI

Προϋποθέσεις κριτικής ανάγνωσης αντιβιογράμματος

3) Επιλογή αντιβιοτικού-δείκτη

κεφοξιτίνη - σταφυλόκοκοι
(ευαισθησία ή αντοχή στην οξακιλλίνη)

οξακιλλίνη-πνευμονιόκοκοι
(ευαισθησία σε πενικιλίνη)



Παράμετροι κριτικής ανάγνωσης αντιβιογράμματος

Ενδογενής αντοχή

Ασυνήθεις φαινότυποι αντοχής

Κανόνες ερμηνείας



Ενδογενής αντοχή

- ✓ χαρακτηριστική του είδους (wild strain)
- ✓ Δε χρειάζεται έλεγχος ευαισθησίας
- ✓ «Ευαίσθητα» στελέχη δηλώνουν λάθος στην ταυτοποίηση ή στο αντιβιογράμμα



Παραδείγματα Ενδογενούς αντοχής

- Εντερόκοκκοι και φουσιδικό οξύ
- *Klebsiella spp.* και αμπικιλίνη
- *P.mirabilis* και νιτροφουραντοΐνη, κολιστίνη
- *Serratia marcescens* και κολιστίνη



Ασυνήθεις φαινότυποι αντοχής

- ✓ Αντοχή σε είδη στα οποία δεν έχει αναφερθεί ή πολύ σπάνια αναφερθείσα
- ✓ «Ανθεκτικά στελέχη» :
 - λάθος στην ταυτοποίηση ή στο αντιβιόγραμμα
 - σε επιβεβαίωση του ανθεκτικού φαινοτύπου αποστολή σε κέντρο αναφοράς



Παραδείγματα ασυνήθων φαινοτύπων αντοχής

- *S.pyogenes* ανθεκτικός σε πενικιλίνη
- *S.aureus* ανθεκτικός σε βανκομυκίνη
- *E.faecalis* ανθεκτικός σε αμπικιλίνη
- *E.faecium* ευαίσθητος σε αμπικιλίνη



Κανόνες ερμηνείας

- Μπορεί να είναι απλοί...(CLSI)

S.aureus κεφοξιδίνη R : αντοχή σε όλα τα β-λακταμικά

- Ή πιο σύνθετοι...(Eucast)

εντεροβακτηριακό
τομπραμυκίνη I,
γενταμυκίνη R,
αμικασίνη S,



τομπραμυκίνη R



Εντεροβακτηριακά

Ενδογενής αντοχή



Ενδογενής αντοχή (R)

ΣΤΑ ΕΝΤΕΡΟΒΑΚΤΗΡΙΑΚΑ

EUCAST Expert rules in antimicrobial susceptibility testing, version 1, April 2008

Enterobacteriaceae are also intrinsically resistant to penicillin G, glycopeptides, fusidic acid, macrolides (with some exceptions¹), lincosamides, streptogramins, rifampicin, daptomycin and linezolid.

Rule no.	Organisms	Ampicillin	Amoxicillin-clavulanate	Ticarcillin	Piperacillin	Cefazolin	Cefoxitin	Cefamandole	Cefuroxime	Aminoglycosides	Tetracyclines/tigecycline	Polymyxin B/Collistin	Nitrofurantoin
1.1	<i>Citrobacter koseri</i>	R		R	R								
1.2	<i>Citrobacter freundii</i>	R	R			R	R						
1.3	<i>Enterobacter spp.</i>	R	R			R	R						
1.4		R	R			R	R						
1.5	<i>Escherichia hermannii</i>	R		R	R								
1.6	<i>Hafnia alvei</i>	R	R			R	R						
1.7	<i>K.pneumoniae</i>	R		R	R								
1.8	<i>Morganella morganii</i>	R	R			R			R		R	R	R
1.9	<i>Proteus mirabilis</i>										R	R	R
1.10	<i>Proteus vulgaris</i>	R				R		R	R		R	R	R
1.11	<i>Proteus penneri</i>	R				R		R	R		R	R	R
1.12	<i>Providencia rettgeri</i>	R	R			R				R ²		R	R
1.13	<i>Providencia stuartii</i>	R	R			R				R ²		R	R
1.14	<i>Serratia marcescens</i>	R	R			R		R	R	Note		R	
1.15	<i>Yersinia enterocolitica</i>	R	R	R	R	R	R	R					
1.16	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>											R	

¹ Azithromycin is effective in vivo for the treatment of typhoid fever and erythromycin may be used to treat travellers' diarrhoea.

² All *Providencia* spp. produce a chromosomal AAC(2'')-Ia enzyme. *Providencia* spp. should be considered resistant to all aminoglycosides except amikacin and streptomycin. Some isolates express the enzyme poorly and can appear susceptible to netilmicin *in vitro*, but should be reported as resistant as mutation can result in overproduction of this enzyme.

³ All *Serratia marcescens* produce a chromosomal AAC(6'')-Ic enzyme that may affect moderate the activity of all aminoglycosides except streptomycin and gentamicin.

Ασυνήθεις φαινότυποι αντοχής στα Εντεροβακτηριακά

Αντοχή σε καρβαπενέμες*
(σπάνια αλλά αυξανόμενη!!)

*ενδημικού χαρακτήρα σε κάποιες χώρες

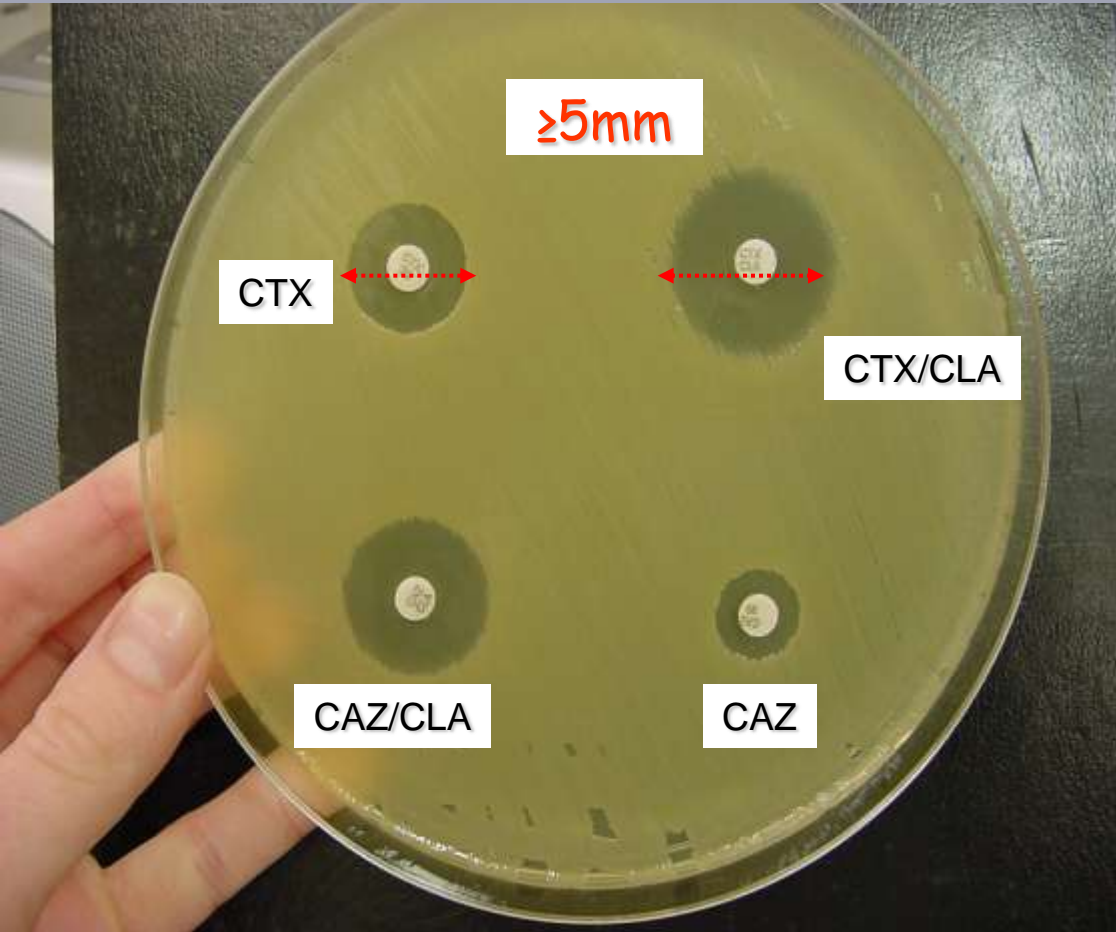


Εντεροβακτηριακά : κύριος μηχανισμός αντοχής

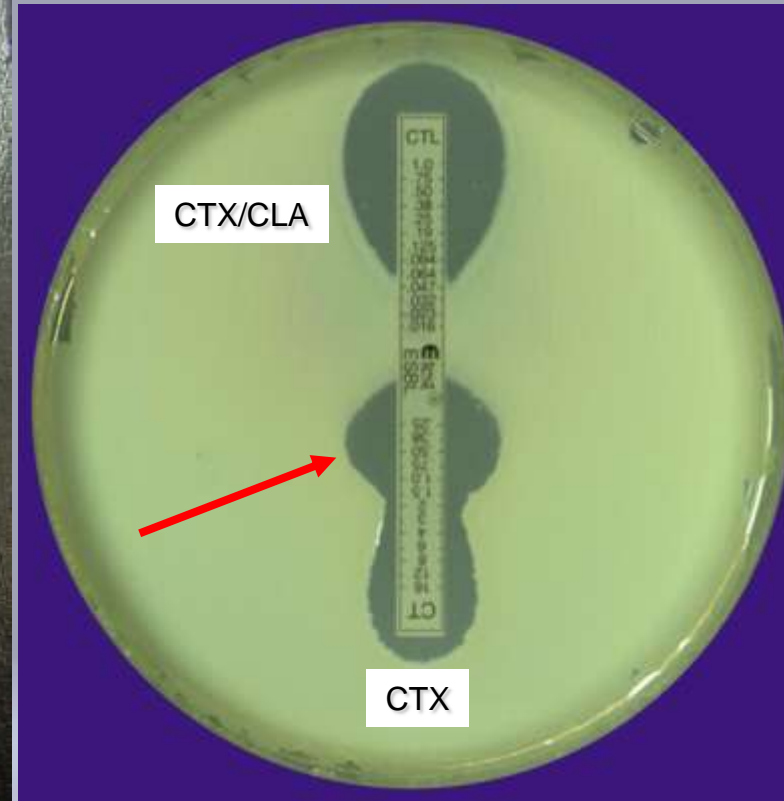
- Ευρέως φάσματος β-λακταμάσες (ESBLs)
TEM, SHV & CTX-M types
- AmpC β-λακταμάσες
Χρωμοσωμικές ή πλασμιδιακές
- Καρβαπενεμάσες
Class A (KPC) ή Class B (MBLs)

Enzyme family ^a	Functional group or subgroup	Number ^{b, c}	
CMY	1, 1e	48	CMY-1 to CMY-48
TEM	2b, 2be, 2br, 2ber	171	
	2b	12	TEM-1, TEM-2, TEM-13
	2be	78	TEM-3, TEM-10, TEM-26
	2br	36	TEM-30 (IRT-2), TEM-31 (IRT-1), TEM-163
	2ber	9	TEM-50 (CMT-1), TEM-158 (CMT-9)
SHV	2b, 2be, 2br	127	
	2b	30	SHV-1, SHV-11, to SHV-89
	2be	37	SHV-2, SHV-3, to SHV-115
	2br	5	SHV-10, SHV-72
CTX-M	2be	90	CTX-M-1, CTX-M-44 (Toho-1) to CTX-M-929
PER	2be	5	PER-1 to PER-5
VEB	2be	7	VEB-1 to VEB-7
GES	2f	15 ^d	GES-2 to GES-7 (IBC-1) to GES-15
KPC	2f	9	KPC-2 to KPC-10
SME	2f	3	SME-1, SME-2, SME-3
OXA	2d, 2de, 2df	158	
	2d	5	OXA-1, OXA-2, OXA-10
	2de	9	OXA-11, OXA-14, OXA-15
	2df	48 ^e	OXA-23 (ARI-1), OXA-51, OXA-58
IMP	3a	26	IMP-1 to IMP-26
VIM	3a	23	VIM-1 to VIM-23
IND	3a	8	IND-1, IND-2, IND-2a, IND-3 to IND-7

Φαινοτυπική ανίχνευση ESBLs



Δοκιμασία σύγκρισης

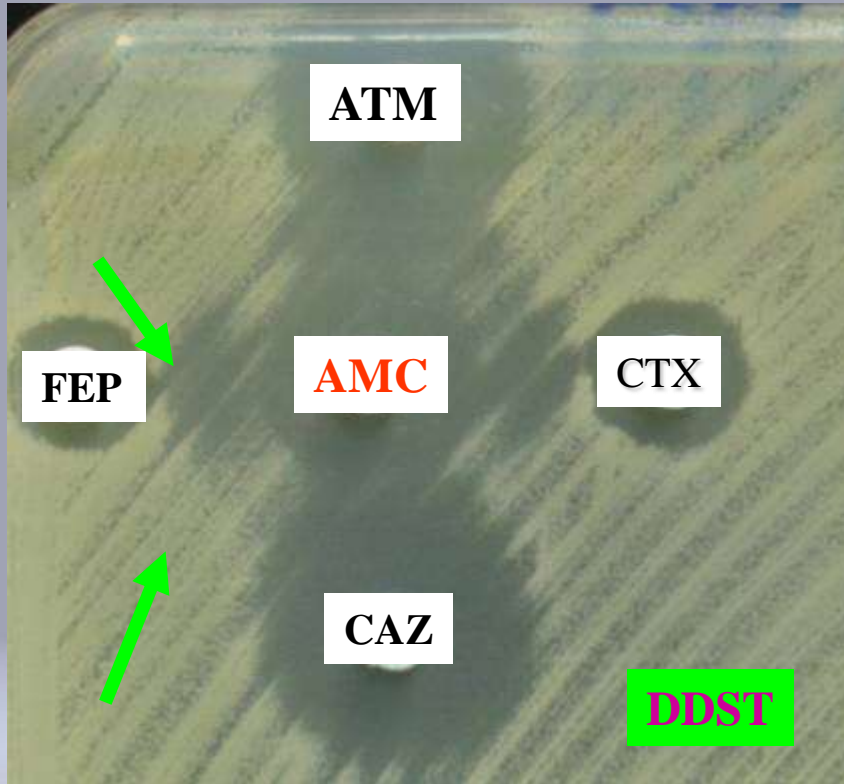


M100-S20 CLSI/ January 2010

26/6/2012

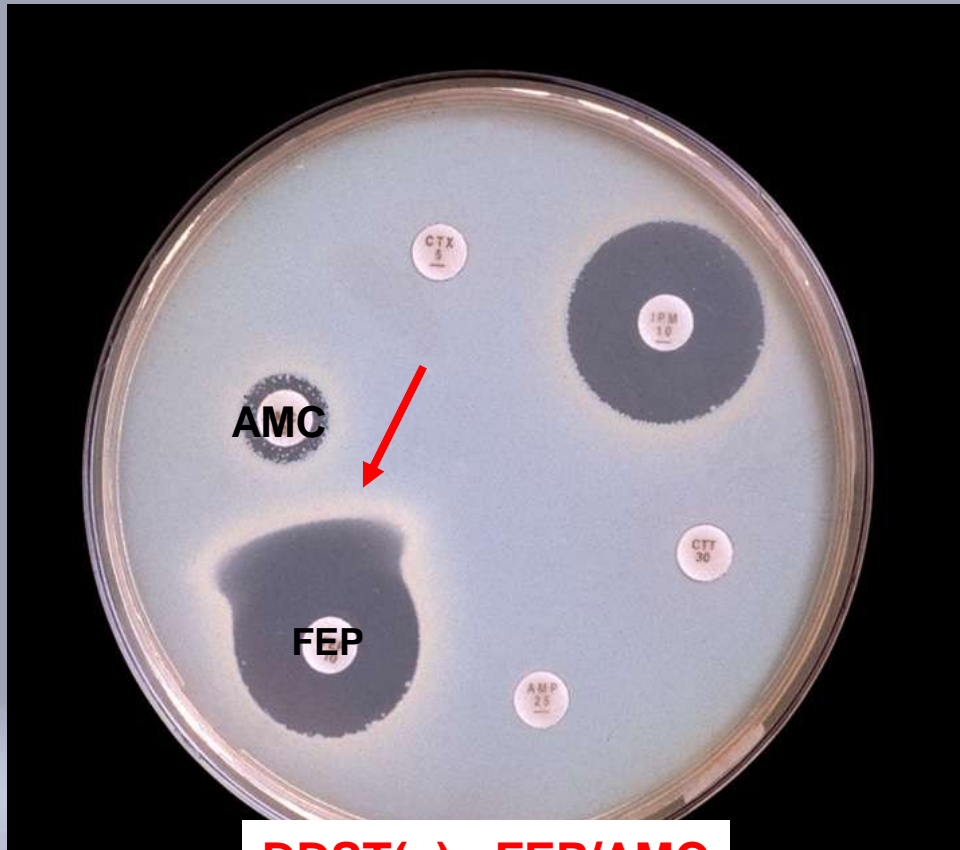
Φαινοτυπική ανίχνευση ESBLs

Δοκιμασία συνέργειας δύο δίσκων



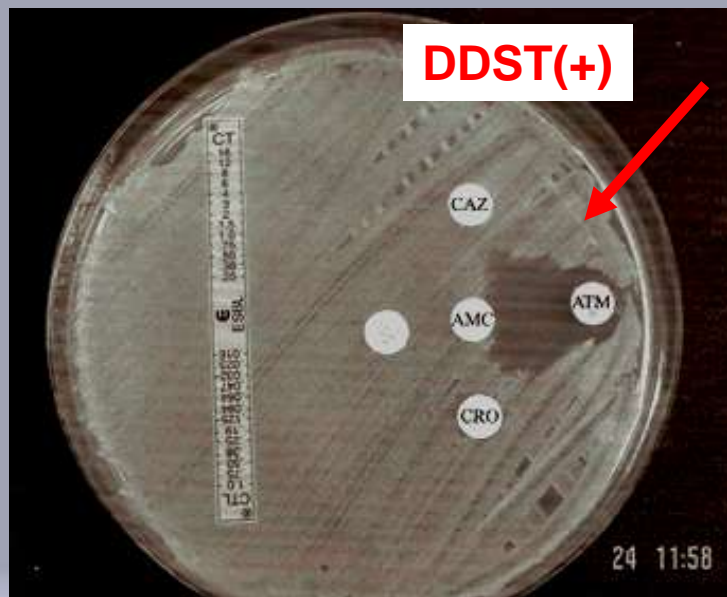
- Μη προτυποποιημένη από CLSI
- Ποικίλλη ευαισθησία, ανάλογα με την απόσταση
- Μπορεί να αναδείξει και άλλες β-λακταμάσες

Ψευδώς αρνητική δοκιμασία ESBLs παρουσία **AmpCs**

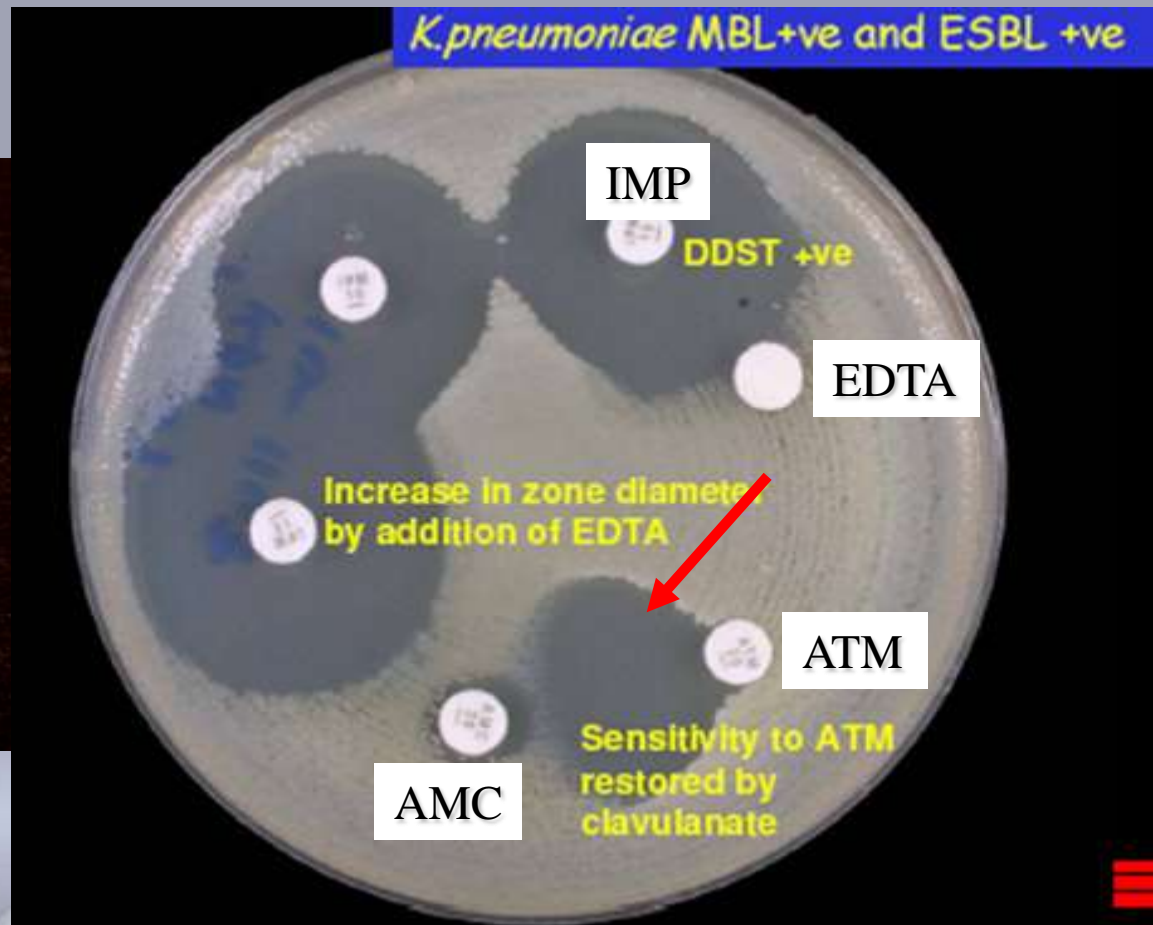


***Enterobacter* spp.: AmpC(+) & ESBL(+)**

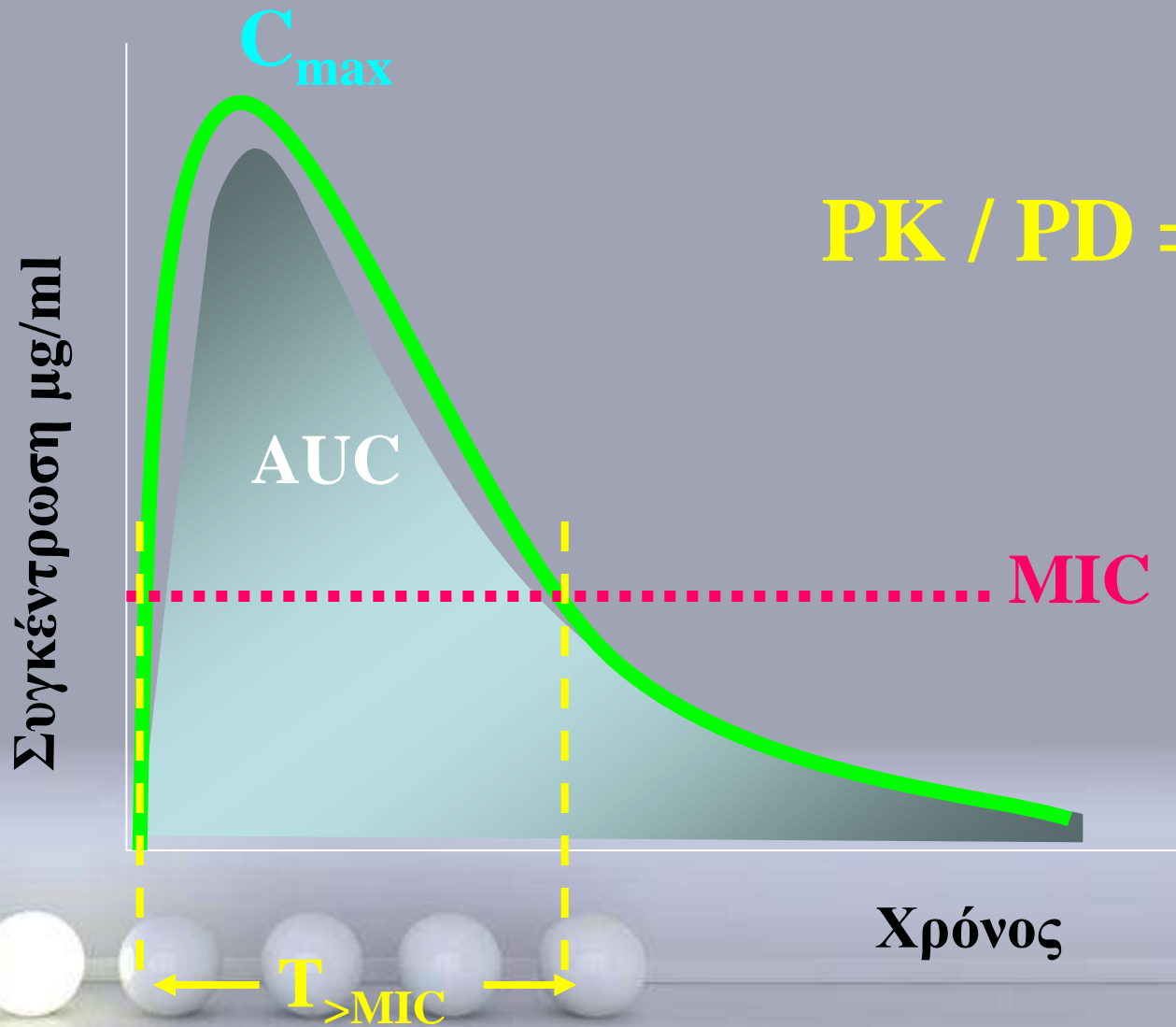
Ψευδώς αρνητική δοκιμασία ESBLs παρουσία **MBLs**.



ESBL(-) confirmatory test

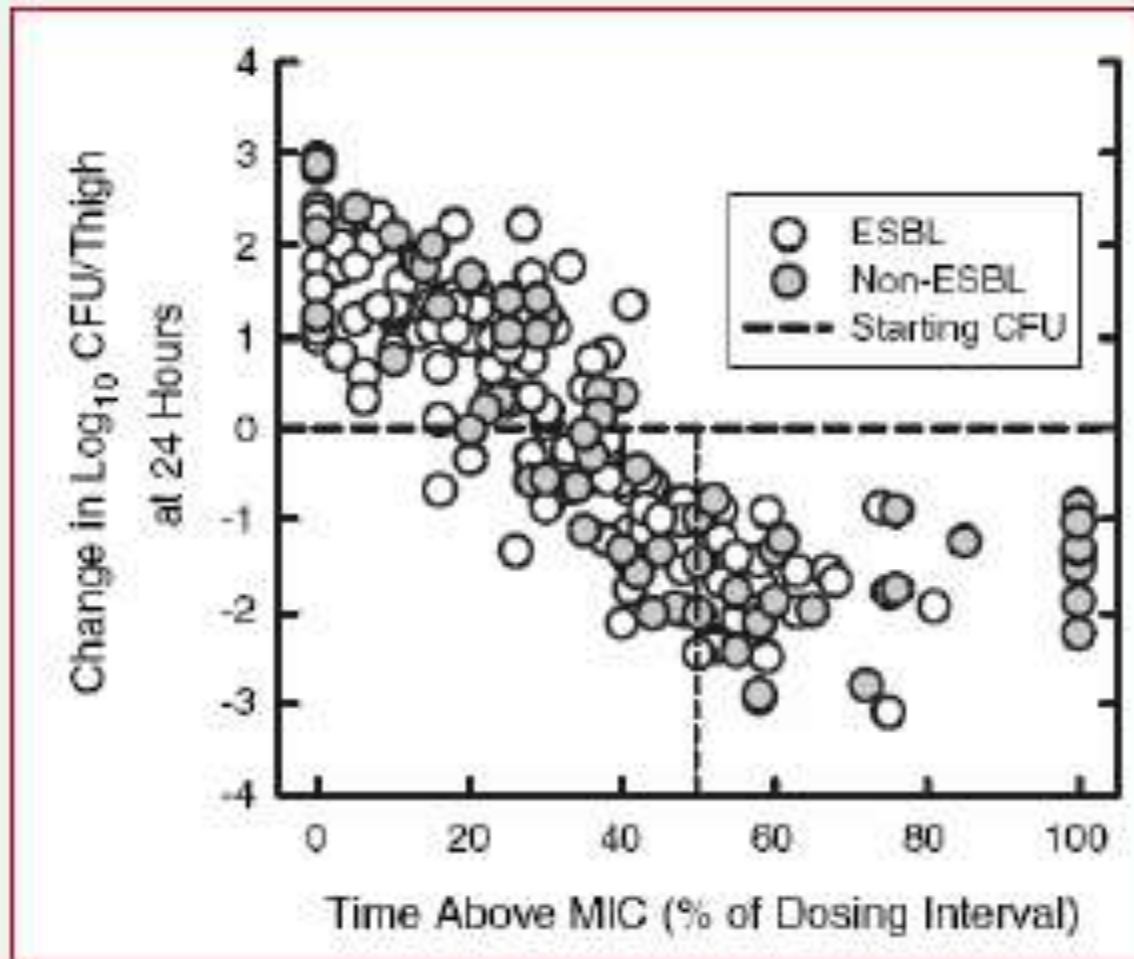


β-λακταμικά : χρονοεξαρτώμενη δράση



$$PK / PD = T_{>MIC}$$

Κλινική έκβαση: ανάλογα τιμής MIC, όχι ανάλογα του μηχανισμού αντοχής



- PK/PD breakpoint is independent of resistance mechanisms
- The β -lactam MIC of an ESBL-producing isolate can be used to predict likely human outcomes from PK/PD models

Όρια ευαισθησίας: PK/PD όρια

MacGowan A. *Clin Microbiol Infect* 2008;14S1:166-168

Table 6. Pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) systemic breakpoints for representative cephalosporins and penicillin against extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria

Agent	PK/PD breakpoint for effective therapy MIC (mg/L)
Cefotaxime	≤ 1
Ceftriaxone	≤ 1
Cefepime	$\leq 4-8$
Piperacillin-tazobactam	≤ 16
Temocillin	$\leq 4-8$

Αναθεωρημένα breakpoints

Agent	CLSI 2009			CLSI 2010		
	S	I	R	S	I	R
Cefazolin	≤ 8	16	≥ 32	≤ 1	2	≥ 4
Cefotaxime	≤ 8	16-32	≥ 64	≤ 1	2	≥ 4
Ceftriaxone	≤ 8	16-32	≥ 64	≤ 1	2	≥ 4
Ceftazidime	≤ 8	16	≥ 32	≤ 4	8	≥ 16
Aztreonam	≤ 8	16	≥ 32	≤ 4	8	≥ 16
Cefepime	≤ 8	16	≥ 32	≤ 8	16	≥ 32

CLSI 2010

- Δεν απαιτείται φαινοτυπική αναζήτηση ESBLs (ταυτόχρονη παρουσία άλλων β-λακταμασών)
- Δεν μετατρέπουμε τα αποτελέσματα σε ανθεκτικά σε κεφαλοσπορίνες και αζτρεονάμη

CLSI 2010 Cephalosporin and Aztreonam
Breakpoint Revisions Fact Sheet

CLSI 2010

- Εστιάζει στις τιμές MIC και στη φαρμακοκινητική του β-λακταμικού και OXI στο μηχανισμό αντοχής
- Η τιμή MIC, με βάση PK/PD μελέτες, είναι ο καλύτερος προγνωστικός δείκτης για τη θεραπευτική έκβαση λοιμώξεων από εντεροβακτηριακά που παράγουν β-λακταμάσες

*CLSI 2010 Cephalosporin and Aztreonam
Breakpoint Revisions Fact Sheet*

Χρωμοσωμικές AmpCs

S

Serratia

- Επαγώγιμη έκφραση μετά από έκθεση στο αντιβιοτικό

P

*Providencia /
P. aeruginosa*

- Μόνιμη Υπερπαραγωγή μετά από μετάλλαξη (Derepressed mutants)

A

Aeromonas

- Οι κεφαλοσπορίνες 3ης γενιάς 'δημιουργούν' το πρόβλημα με τους ανθεκτικούς μεταλλάκτες

C

Citrobacter freundii

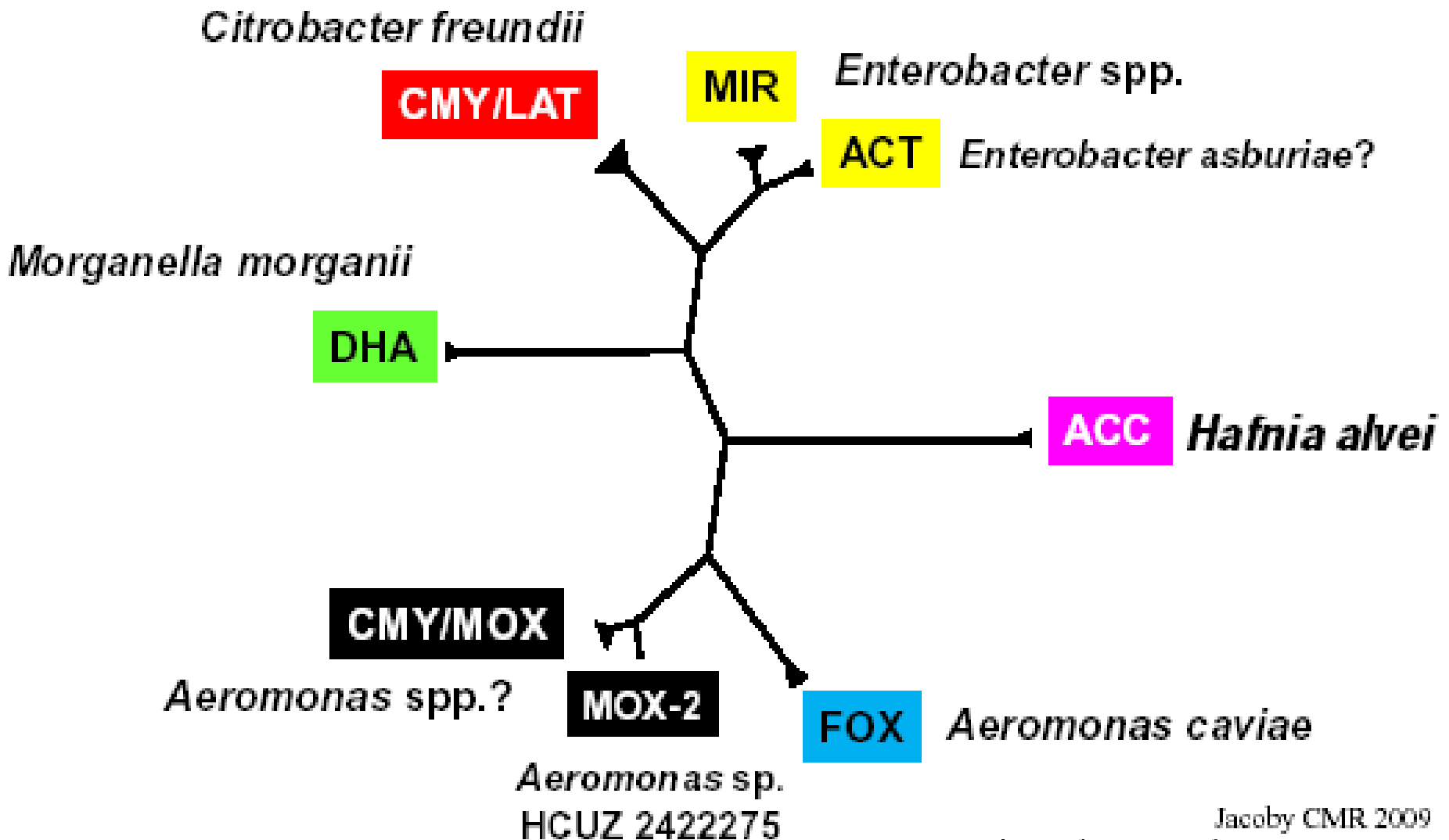
- Φαινότυπος υπερπαραγωγής όπως των πλασμιδιακών

E

Enterobacter, Hafnia



Acquired AmpC-type β -lactamases: sources



Jacoby CMR 2009

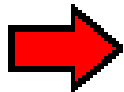
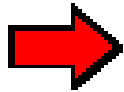
Miro et al – GenBank entry ACA30419

D'Andrea et al – GenBank entry CAJ28994

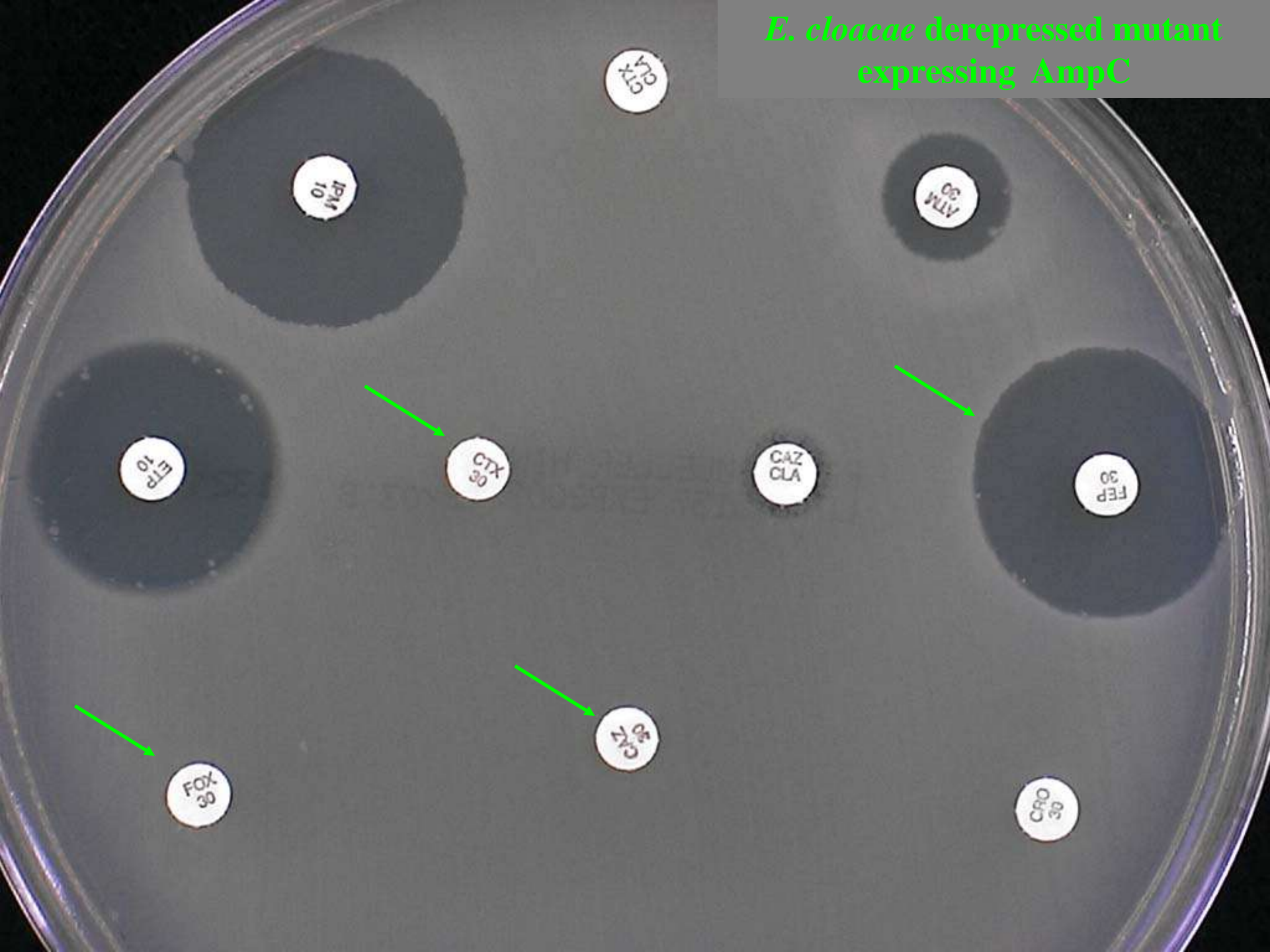
Φαινότυπος αντοχής AmpCs

Acquired AmpC-type β -lactamases: impact on resistance

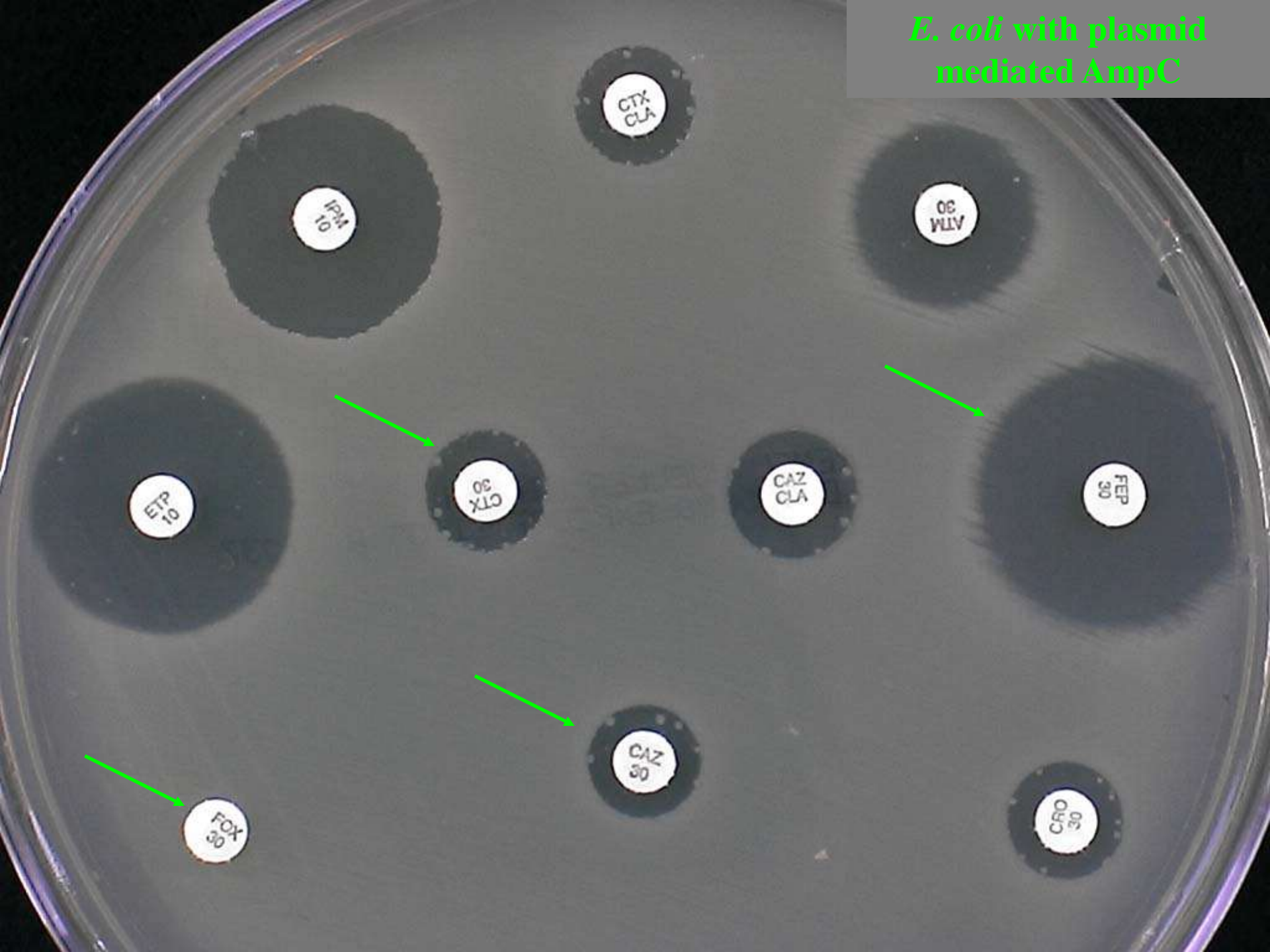
β -lactam	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
	<i>E. coli</i> WT	<i>E. coli</i> (acquired AmpC)
Ampicillin	2	64 - >128
Piperacillin	2	32 - 128
Cephalothin	4	>128
Cefoxitin	4	4 - >128
Cefotaxime	0.06	1 - >128
Ceftazidime	0.12	4 - >128
Cefepime	<0.06	0.06 - 4
Imipenem	0.06	0.12 - 2
Aztreonam	0.12	1 - 64
Amoxi/Clav	2	64 - >128
Pip/Tazo	2	4 - 64



E. cloacae derepressed mutant
expressing AmpC

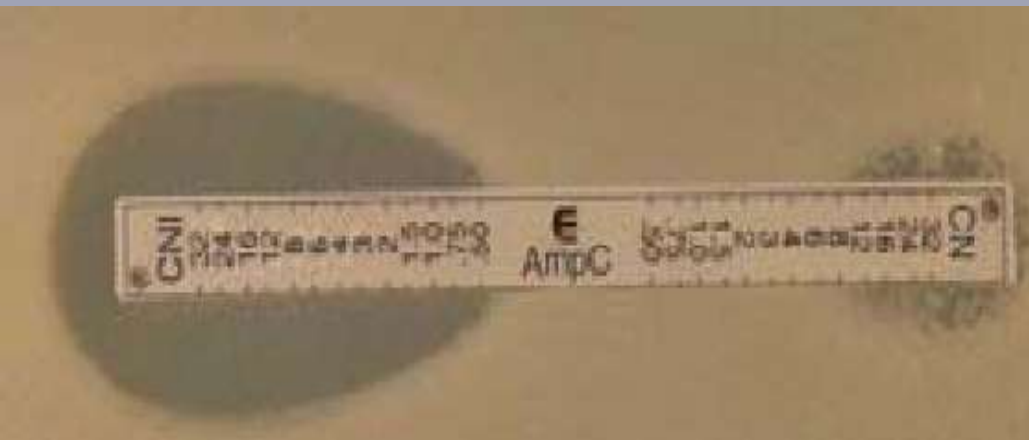


E. coli with plasmid mediated AmpC



Φαινοτυπική ανίχνευση AmpCs

- Δεν υπάρχουν προτυποποιημένες μέθοδοι φαινοτυπικής αναζήτησης AmpC β-λακταμασών
- Έχουν χρησιμοποιηθεί δοκιμασίες συνέργειας με αναστολείς κυρίως την κλοξακιλλίνη ή το βορονικό



CN / CNI: κεφοτετάνη / κεφοτετάνη + κλοξακιλλίνη



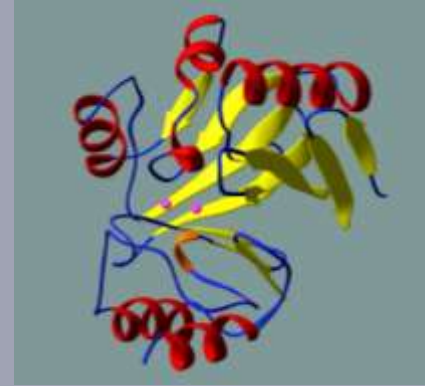
CTT + bor 400µg

Εντεροβακτηριακά και Αντοχή σε Καρβαπενέμες

- Καρβαπενεμάσες
- ESBL ή AmpC + απώλεια πορίνης



Καρβαπενεμάσες τάξης B



Class B

Penicillins	
Cephalosporins (all)	
Carbapenems	
Monobactams	
Suscept. to inhibitors (clavulanate & sulphones)	-



good



no

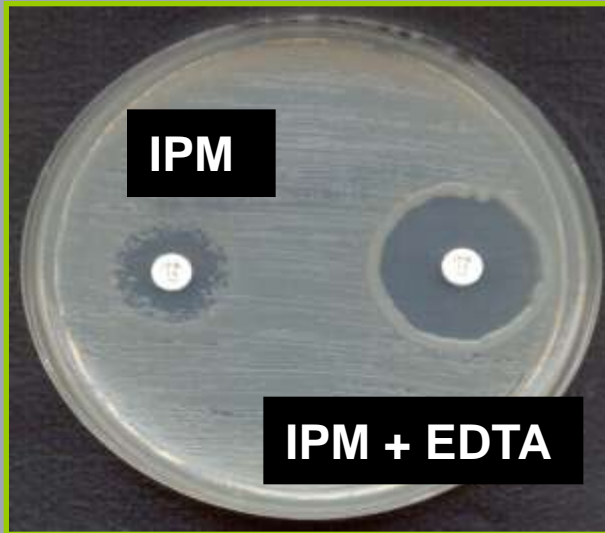


Gian Maria Rossolini

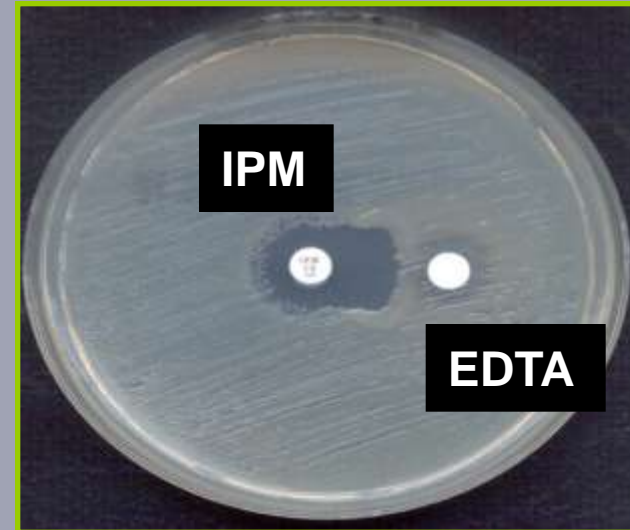
*Workshop on Mechanisms of Resistance to
Antimicrobial Agents, June 2008*

Φαινοτυπική ανίχνευση MBLs

Combo-disk



Double-disk



Etest



Gian Maria Rossolini
*Workshop on Mechanisms of Resistance to
Antimicrobial Agents, June 2008*

Καρβαπενεμάσες τάξης A

- Χρωμοσωμικές
 - *Serratia marcescens* enzyme (SME)
 - Not metalloenzyme carbapenemases (NMC)
 - Imipenem-hydrolyzing β -lactamases (IMI)
- Πλασμιδιακές
 - *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (KPC)
 - Guiana Extended-Spectrum (GES)

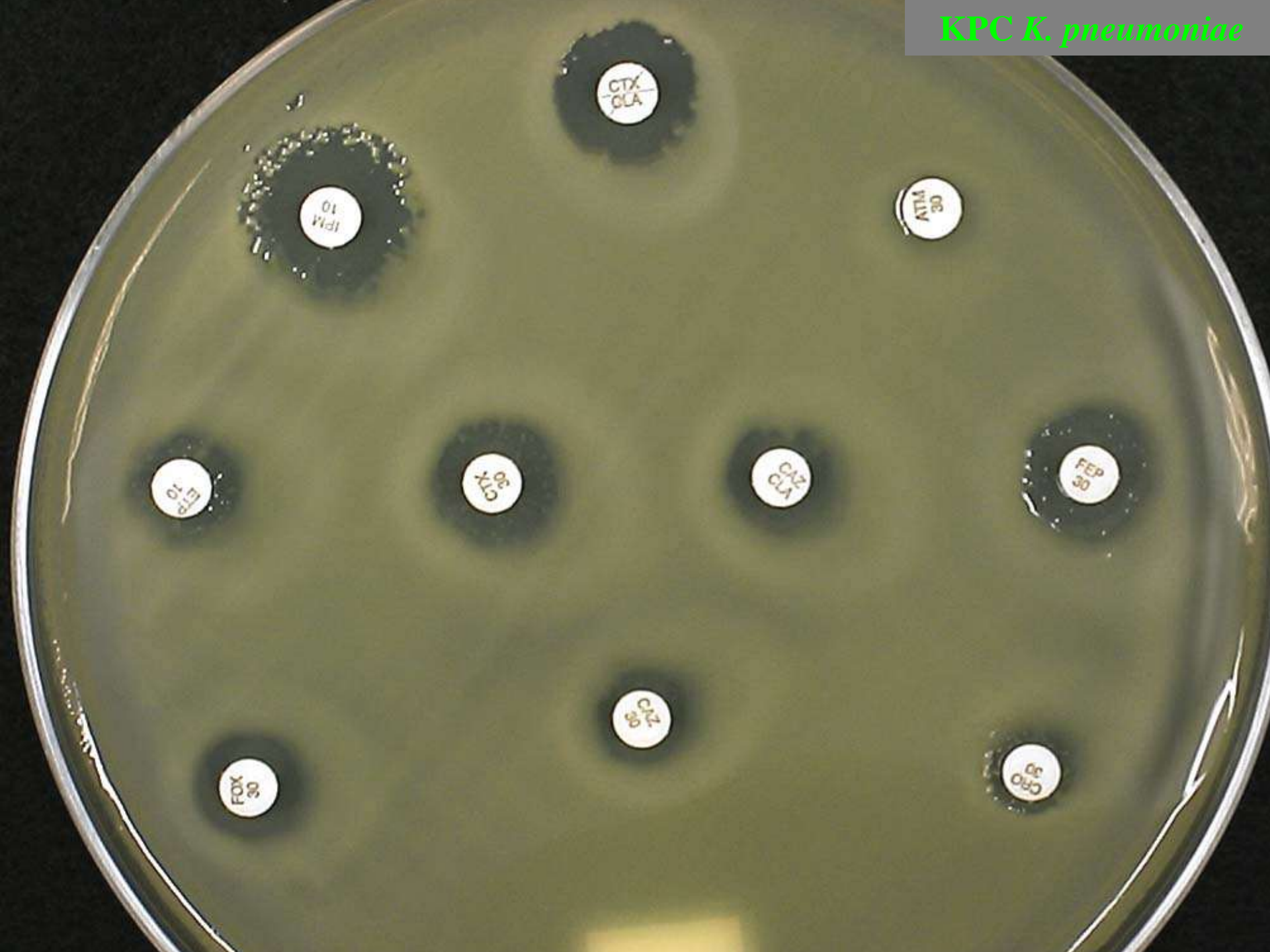


KPCs

- Τάξης A και λειτουργικής ομάδας 2f
- Αναστολή από κλαβουλανικό, όχι από EDTA
- Αντοχή σε όλα τα β-λακταμικά
- Πλασμιδιακά ένζυμα
- Συσχέτιση με άλλους γόνους αντοχής (aminoglycosides, fluoroquinolones)
- Μεγάλη δυνατότητα διασποράς

Anderson et al. *JCM* 2007; 45: 2723-2725





Revised Carbapenem Breakpoints

Antibiotic compound	CLSI 2010		EUCAST 2010		
	S ^a	R	S	R	ECOFF for <i>E. coli</i> and <i>K. pneumoniae</i> ^b
Imipenem	≤1 (≤4) ^c	≥4 (≥16)	≤2	>8	≤0.5 for <i>E. coli</i> ≤1 for <i>K. pneumoniae</i>
Meropenem	≤1 (≤4)	≥4 (≥16)	≤2	>8	≤0.125
Ertapenem	≤0.25 (≤2)	≥1 (≥8)	≤0.5	>1	≤0.06
Doripenem	≤1 (ND)	≥4 (ND)	≤1	>4	≤0.12

CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute; ECOFF: epidemiological cut-off values; EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; MIC: minimum inhibitory concentration; ND: no data.

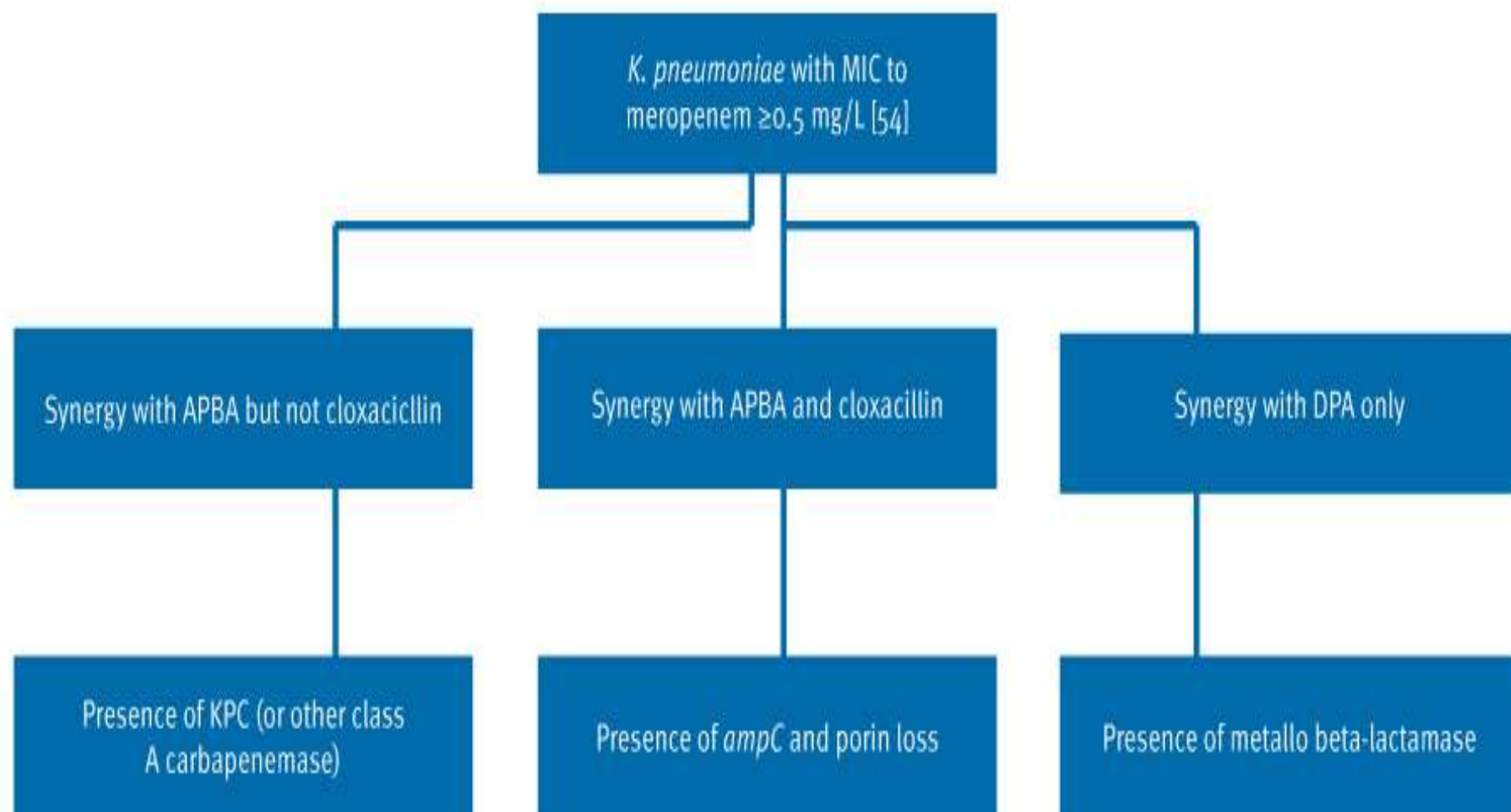
^a I=intermediate is implied by the values between the S-breakpoint and the R-breakpoint.

^b ECOFF for *E. coli* and *K. pneumoniae* define the top end of the wildtype distribution; bacteria with MICs ≥ ECOFF have acquired some mechanism of resistance.

^c Values in parentheses indicate the CLSI breakpoints recommended before June 2010.

FIGURE

Algorithm for interpretation of disk diffusion synergy tests and combined disk tests to detect carbapenem-non-susceptible *Enterobacteriaceae* isolates*

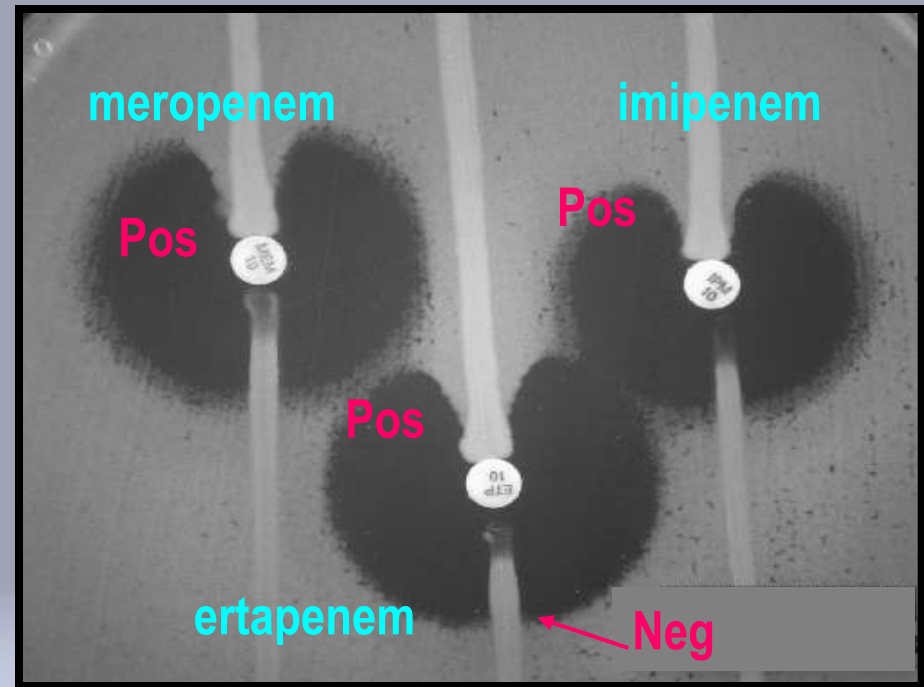


APBA: aminophenyl boronic acid (a beta-lactamase inhibitor); DPA: dipicolinic acid (a metal-chelating agent); KPC: *K. pneumoniae* carbapenemase.

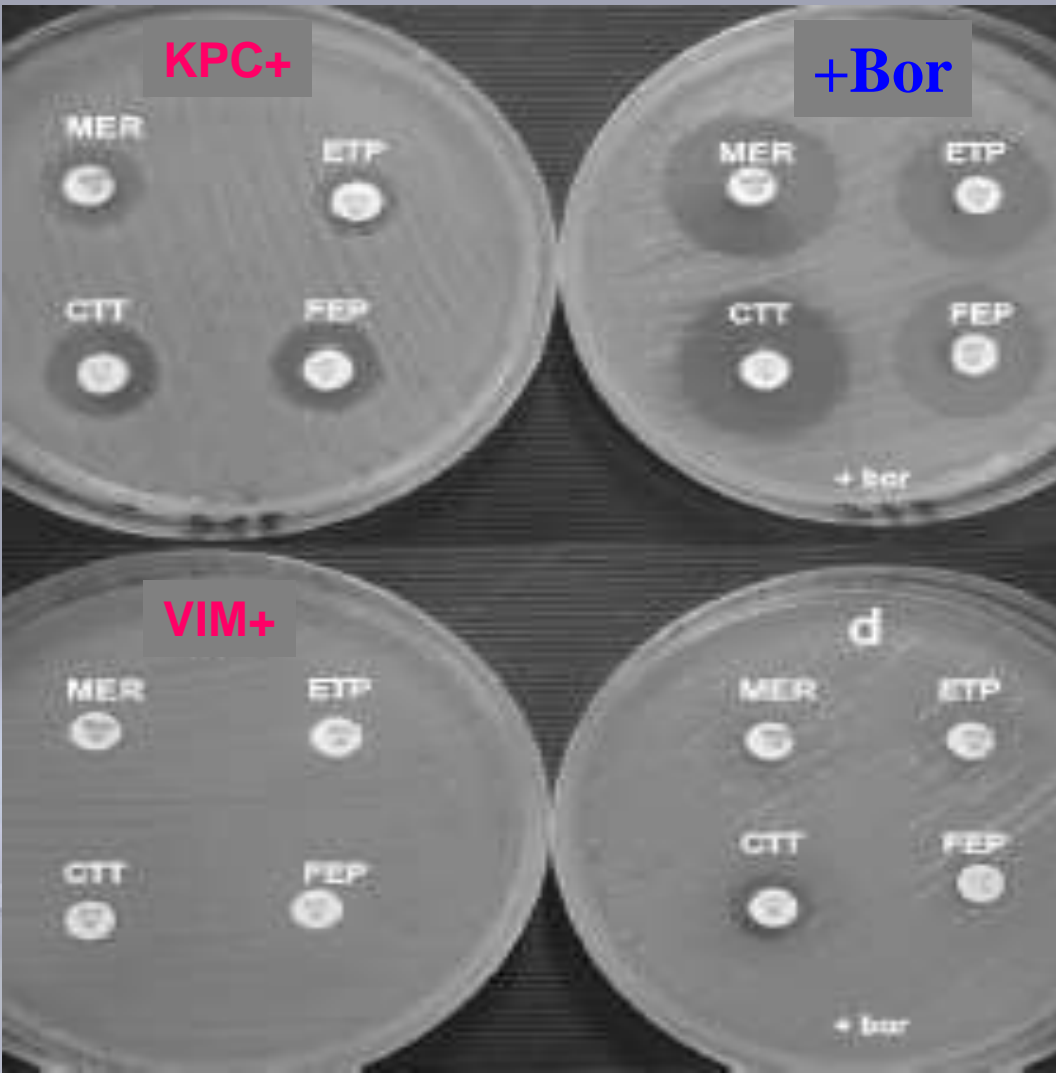
Φαινοτυπική ανίχνευση KPCs

Hodge test

- Δηλώνει παραγωγή καρβαπενεμάσης
- Στερείται ειδικότητας
- Δεν 'ταυτοποιεί' την καρβαπενεμάση



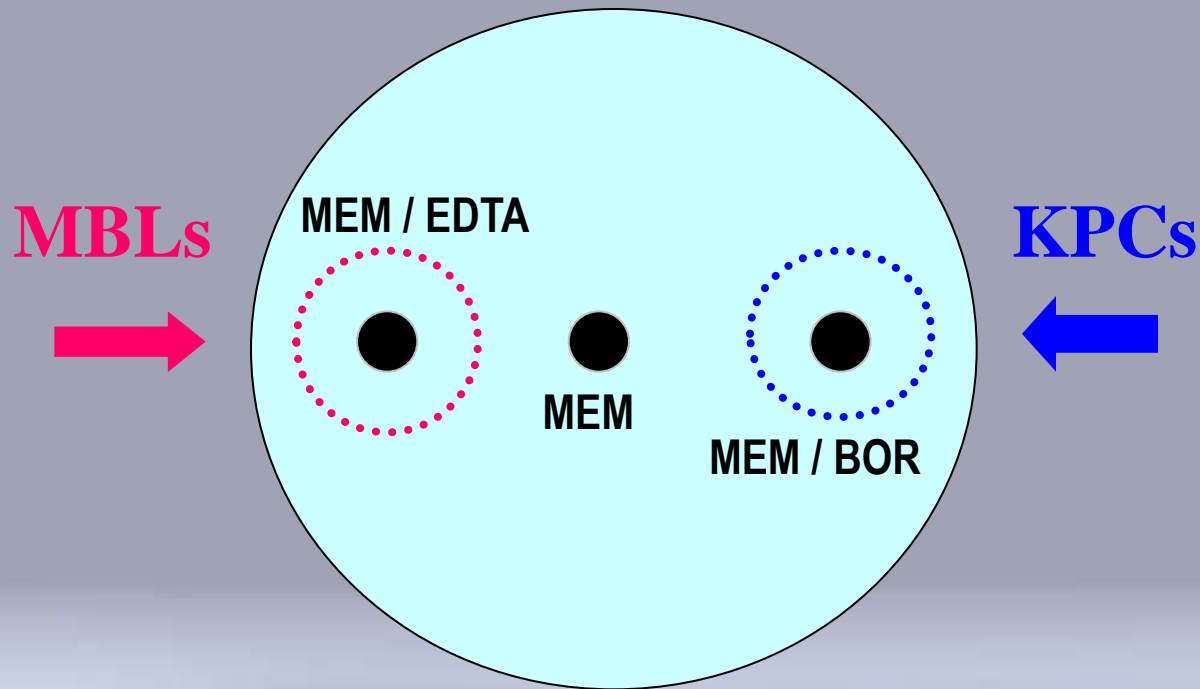
Carbapenem (Meropenem) +400 mg Boronic acid



Ευαισθησία 100%
Ειδικότητα 100%

Tsakris et al, *J Clin Microbiol* 2009

Ταυτόχρονη φαινοτυπική ανίχνευση KPCs και MBLs



New Delhi Metallo- β -lactamase (NDM-1)

- class B β -lactamase
- EDTA synergy
- plasmid carrying encoding gene *bla*_{NDM}
- High MICs to Carbapenems
- Characterized in 2008
- Global spread: the new CTX-M-15?



Εντεροβακτηριακά: Κανόνες CLSI

- Σε *Salmonella/ Shigella* spp. δεν αναφέρουμε ως ευαίσθητες τις κεφαλοσπορίνες 1^{ης} & 2^{ης} γενιάς, τις κεφαμυκίνες και τις αμινογλυκοσίδες
- Σε αντοχή στο ναλιδιξικό, πιθανότητα θεραπευτικής αστοχίας με χορήγηση κινολονών – σχολιασμός
- Σε *Enterobacter, Citrobacter & Serratia* επανέλεγχος ευαισθησίας σε κεφαλοσπορίνες 3^{ης} γενιάς (!) μετά από 3-4 ημέρες θεραπείας



Αζυμωτικά

Προσοχή στην ενδογενή αντοχή!!!



Pseudomonas aeruginosa

- Αντοχή λόγω μεταλλάξεων κυρίως και λιγότερο πλασμιδιακή
- ESBLs απαντούν, αλλά πολύ σπάνια
- Κυρίως πολυκλωνική διασπορά αλλά και επιδημίες από στελέχη μονοκλωνικά (πολυανθεκτικά)



Pseudomonas aeruginosa

- Ενδογενής αντοχή
- AMP, AM/CL, α', β', γ' γενιάς κεφ/νες (πλην CAZ), λόγω:
 - Μειωμένης διαπερατότητας της EM
 - Παραγωγής β-λακταμασών τάξης AmpC – (χρωμοσωμικές και επαγώγιμες)
- NAL, TET, CHL, SXT, TIG, λόγω:
 - Αντλίας Ενεργητικής Εκροής (MexAB-OprM)



P.aeruginosa : β-λακταμικά

- Απώλεια πορίνης OprD
- Efflux MexAB-OprM
- AmpC χρωμοσωμική
- Πλασμιδιακές β-λακταμάσες
(πενικιλινάσες, ESBLs, **MBLs**..)



P.aeruginosa: Φαινότυπος αντοχής

	OprD loss	Efflux+++	PEN'ASE	AmpC+++	MBLs
PIP	S	I/R	R	I/R	R
PIP/TAZO	S	I/R	varies	I/R	R
CAZ	S	I/R	S	I/R	R
FEP	S	I/R	S	I/R	R
AZT	S	I/R	S	I/R	S/I/R
IMP	R	S	S	S	R
MER	I/R	I/R	S	S	R
IMP/EDTA	S	S	S	S	S



D. Livermore EUCAST Workshop
18th ECCMID 2008

26/6/2012

Πολλαπλοί μηχανισμοί πιθανά παρόντες

P.aeruginosa : ESBLs & AmpCs

- Υποψία ESBLs όταν $\text{Caz} > 128$, $\text{Mer} < 2$
- Πτωχή ευαισθησία $\text{Caz}/\text{Caz-Cla}$
- Δεν ανιχνεύονται οι Oxa ESBLs
- $\text{Caz}/\text{Caz-Cla}$ (+) : PER/VEB
-
- AmpCs: cloxa(-), Bor(+)

D. Livermore EUCAST Workshop
18th ECCMID 2008

P.aeruginosa : MBLs

- Etest (IP/IPI): ευαισθησία/ειδικότητα (Walsh, *JCM* 2002)
- Ψευδώς (+) EDTA test:

Το EDTA καθιστά διαπερατή την EM

Control ενδογενούς δραστηριότητας EDTA

P.aeruginosa: carbapenem (imipenem, meropenem) MIC ≥ 4

DDST	5μl MPA (1.4mM)	Ceftazidime	Απόσταση 2 cm
------	-----------------------	-------------	------------------

MPA: mercaptopropionic

Picão et al, *JCM* 2008



Φαινοτυπική ανίχνευση MBLs

Group	Test	IMBL	Substrate	Conditions
<i>Enterobacteriaceae</i>	CD	10 μ l EDTA (100 mM)	imipenem	Breakpoint 5 mm
<i>P. aeruginosa</i>	DDST	5 μ l MPA (1.4 mM)	ceftazidime	Distance 2 cm
<i>Acinetobacter</i> spp.	DDST	5 μ l MPA (1.4 mM)	imipenem	Distance 2 cm

Picão et al (2008) JCM 46:2028-2037

Pseudomonas aeruginosa

- Ασυνήθης φαινότυπος

- Κανόνες CLSI

Αντοχή στην κολιστίνη

Kirby-Bauer: $S \geq 11 \text{ mm}$
 $R \leq 10 \text{ mm}$

MIC: $S \leq 2 \mu\text{g/ml}$

I=4

R \geq 8

Ανάπτυξη αντοχής κατά τη διάρκεια θεραπείας – επανέλεγχος ευαίσθητων στελεχών



Acinetobacter baumannii/calcoaceticus

- Αντοχή πλασμιδιακή ή χρωμοσωμική (AmpC, OXA-51)
- ESBLs απαντούν.... αλλά ψευδώς (+) λόγω ενδογενούς ευαισθησίας στο κλαβουλανικό
- MBLs απαντούν.... αλλά ψευδώς (+) λόγω OXA β-λακταμασών



Acinetobacter baumannii/calcoaceticus

	AmpC	+OXA- carbapenemase	+MBL
Ceftazidime	64	32	32
Cefepime	64	64	64
Piperacillin	64	64	64
Pip/tazo	64	64	64
Aztreonam	128	128	128
Imipenem	0.5	32	32
Meropenem	1	32	32
Imipenem EDTA	0.5	2	1

Acinetobacter baumannii/calcoaceticus

Αδυναμία φαινοτυπικής ανίχνευσης
μηχανισμών αντοχής!!!



Σταφυλόκοκκοι

Ενδογενής αντοχή

- **Σταφυλόκοκκοι**

- aztreonam, temocillin, polymyxin, nalidixic acid

- ***S.saprophyticus/cohnii/xylosus/capitis***

- ceftazidime

- ***S.saprophyticus/capitis***

- fosfomicin

- ***S.saprophyticus/cohnii/xylosus***

- novobiocin

- **Micrococci**

- nitrofurantoin

Σταφυλόκοκκοι

Ασυνήθεις φαινότυποι αντοχής

- *Staphylococcus aureus* ανθεκτικός σε:
 - τεικοπλανίνη
- Σταφυλόκοκκοι ανθεκτικοί σε :
 - βανκομυκίνη, λινεζολίδη, δαλφοπριστίνη / κινοπριστίνη, δαπτομυκίνη, τιγκεκυκλίνη



Staphylococcus spp. και β-λακταμικά Κανόνες CLSI

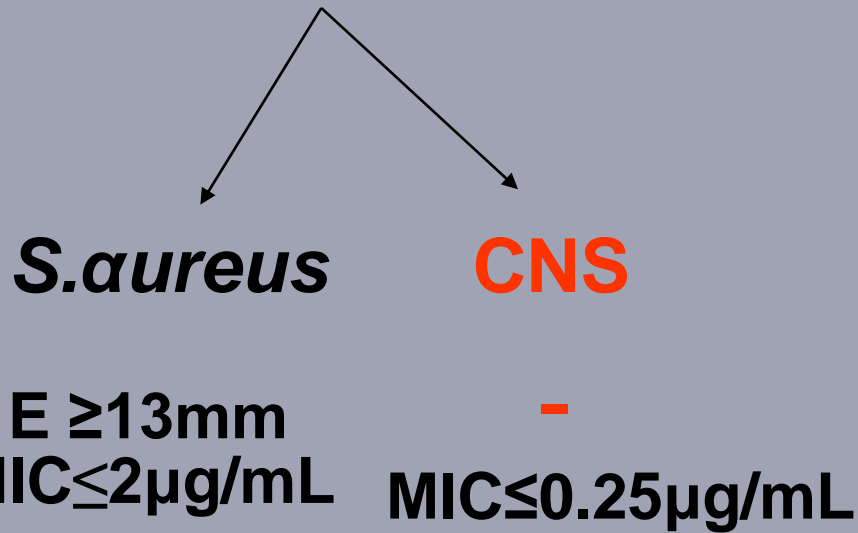
Αντιβιοτικά –δείκτες για

- Πενικιλίνη (+ δοκιμασία β-λ)
- Οξακιλλίνη ή Κεφοξιτίνη (ισχυρότερος επαγωγέας της έκφρασης της PBP2a)

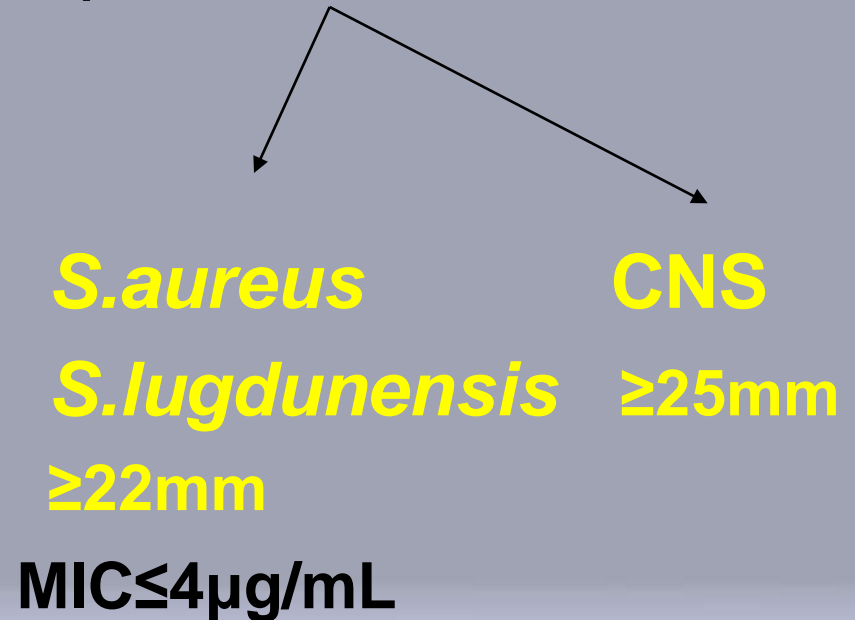


Πώς ελέγχουμε την οξακιλλίνη;

- Oxacillin 1 μg



- Cefoxitin 30 μg
(προτεινόμενη μέθοδος)



Staphylococcus spp.

Κανόνες CLSI

ανεύρεση *mecA* gene (PBP2a) → αντοχή στην
οξακιλλίνη

Εάν **oxacillin MIC $\geq 4\mu\text{g/mL}^*$** → αντοχή στην
και *mecA* gene (PBP2a) αρνητικό οξακιλλίνη



*στελέχη ευαίσθητα στην κεφοξιτίνη με Kirby-Bauer

26/6/2012

Staphylococcus spp.

Κανόνες CLSI

Πενικιλίνη (A)

Οξακιλλίνη (E)



Πενικιλίνη (A)

Αμινοπενικιλίνες (A)

(αμπικιλίνη, αμοξυκιλλίνη)

Ουρειδοπενικιλίνες (A)

(αζλοκιλλίνη, μεζλοκιλλίνη,
πιπερακιλλίνη)

Καρβοξυπενικιλίνες (A)

(καρβενικιλίνη, τικαρκιλίνη)

Οξακιλλίνη (A)

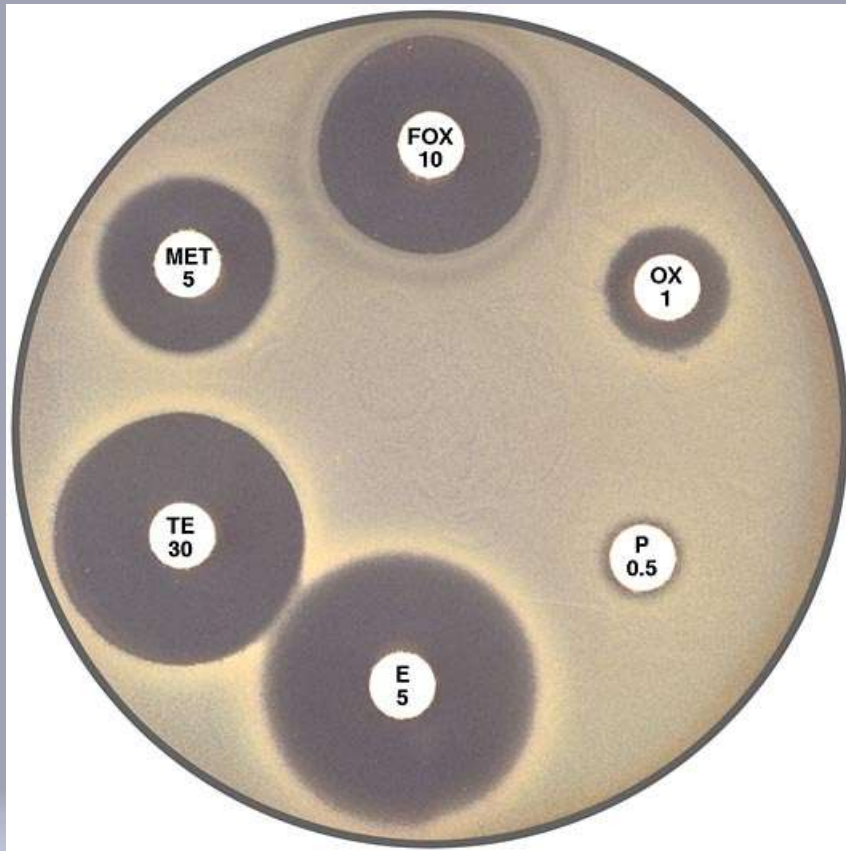


Όλα τα β-λακταμικά (A)

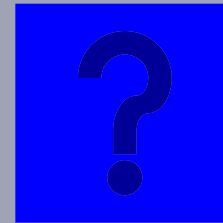
Εκτός ceftobiprole, ceftaroline



Παράδοξος φαινότυπος



- Πενικιλίνη (A)
- Οξακιλλίνη (A)
- Κεφοξιτίνη (E)



Στέλεχος που παράγει μεγάλα ποσά β-λακταμάσης και εμφανίζεται ανθεκτικό στην οξακιλλίνη

BANKOMYKINH

CLSI
(MIC $\mu\text{g/ml}$)

EUCAST
(MIC $\mu\text{g/ml}$)

- *S.aureus*

- | | | |
|-------------------------------|-----------|----------|
| • ευαισθησία | ≤ 2 | ≤ 2 |
| • ενδιάμεση ευαισθησία (VISA) | 4-8 | - |
| • αντοχή (VRSA) | ≥ 16 | > 2 |

- CNS

- | | | |
|------------------------|-----------|----------|
| • ευαισθησία | ≤ 4 | ≤ 2 |
| • ενδιάμεση ευαισθησία | 8-16 | - |
| • αντοχή | ≥ 32 | > 2 |



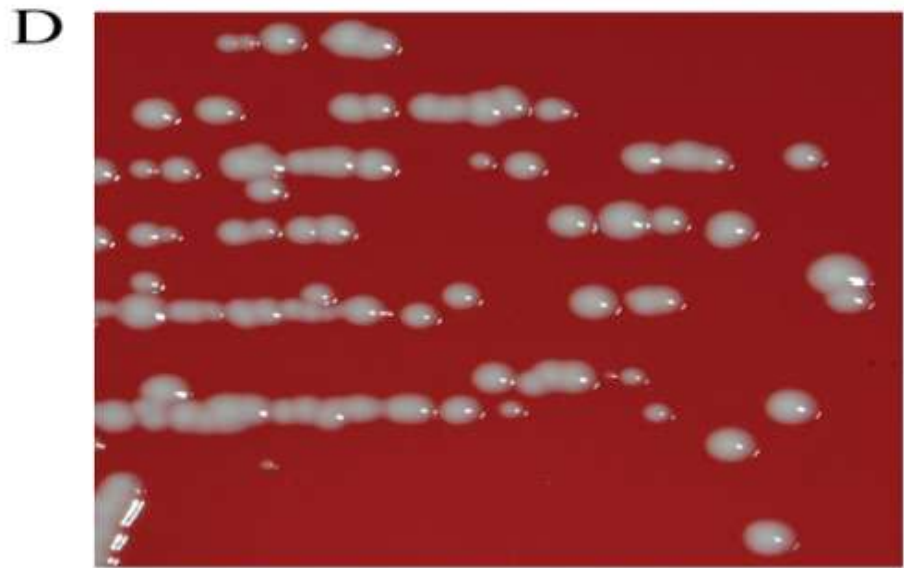
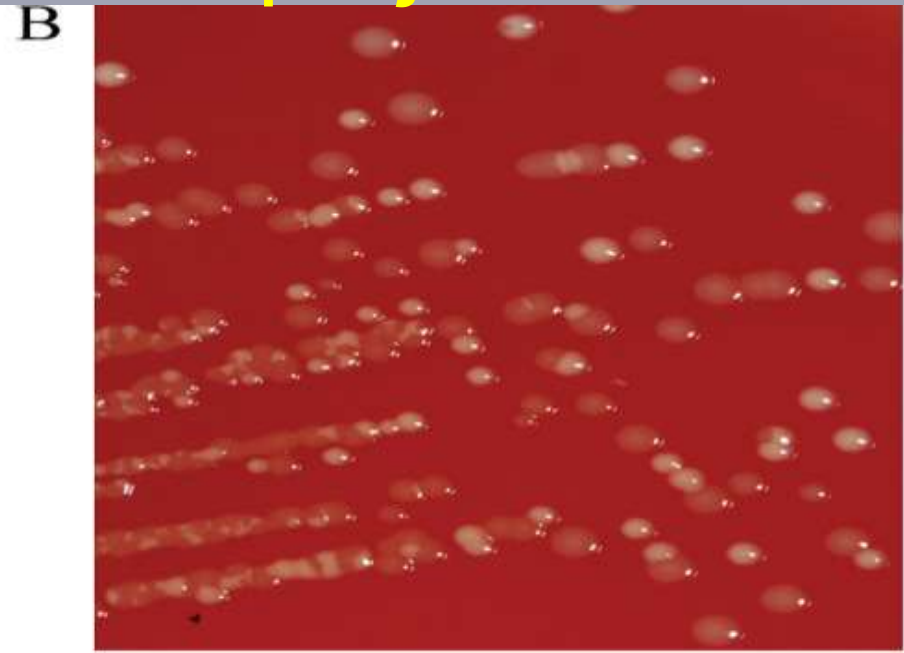
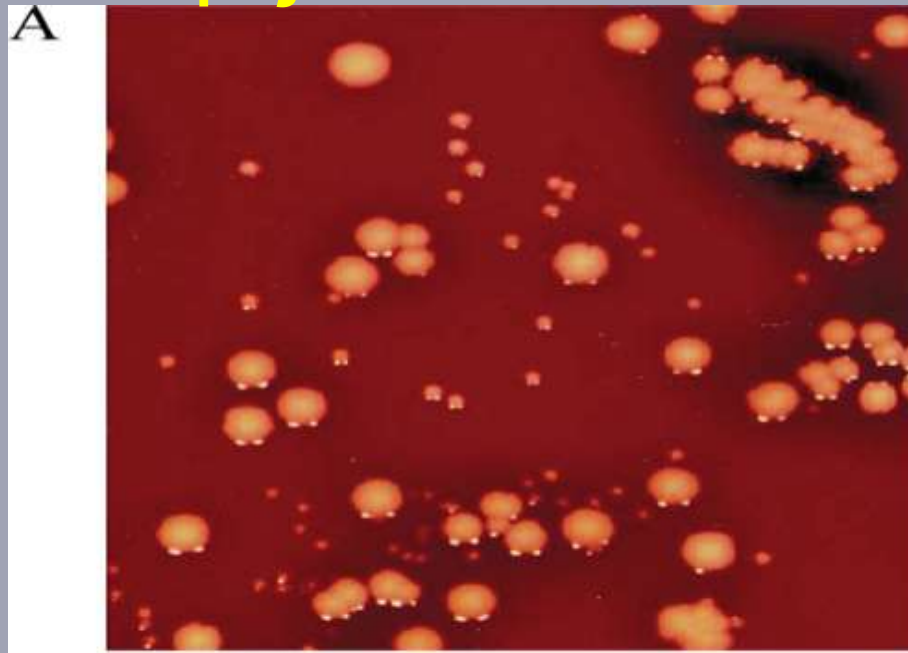
Μορφολογικά χαρακτηριστικά VISA και hVISA αποικιών

- Πιθανή εικόνα μεικτού καλλιέργηματος
- Μικρότερες αποικίες (↓ ρυθμός ανάπτυξης)
- ↓ παραγωγή χρωστικής
- ↓ αιμολυτική ικανότητα
- Κάθε διαφορετική αποικία πρέπει να ελέγχεται χωριστά



Μεγάλες αποικίες : VSSA
Μικρές » : VISA

Γκρι αποικίες : VSSA
Κίτρινες » : VISA



Ανίχνευση ετεροαντοχής

Διπλό E-test GRD

(Glycopeptide Resistance Detection)

- MHA + 5% αίμα
- 0.5 McFarland, 48h
- θετικό όταν
Vanco ή Teico ≥ 8 και
standard Vanco ≤ 4 $\mu\text{g/ml}$



ΤΕΙΚΟΠΛΑΝΙΝΗ

S.aureus
και CNS

δίσκος

MIC

CLSI

EUCAST

Ευαισθησία

$\geq 14\text{mm}$

≤ 8

≤ 2
(≤ 4 CNS)

Ενδιάμεση
ευαισθησία

11-13mm

16

-

αντοχή

$\leq 10\text{mm}$

≥ 32

> 2
(> 4 CNS)



Αλγόριθμος για *S.aureus* και Vanco

- Προσδιορισμός MIC στη βανκομυκίνη
 - Screening τρυβλίο BHIΑ με 6μg/ml Vanco
 - Εάν $Va \geq 4 \mu\text{g/ml}$ και screening τρυβλίο (+)
 - Έλεγχος καθαρότητας καλλιέργειας
 - Επανάληψη ταυτοποίησης
 - Προσδιορισμός MIC (μικροαραιώσεις σε ζωμό)
-
- *S.aureus* με $Va \geq 8 \mu\text{g/ml}$
 - CNS με $Va \geq 32 \mu\text{g/ml}$

Αποστολή σε
εργαστήριο
αναφοράς

Έλεγχος hVISA – πότε;

Στελέχη MRSA από ασθενείς υψηλού κινδύνου

- Βακτηραιμίες
- Εν τω βάθει λοιμώξεις
 - Ενδοκαρδίτιδα
 - Λοίμωξη πρόθεσης
 - Εν τω βάθει αποστήματα
 - Οστεομυελίτιδα σπονδυλικής στήλης
- Αποτυχία θεραπείας με Va (+κ/ες υπό θεραπεία)

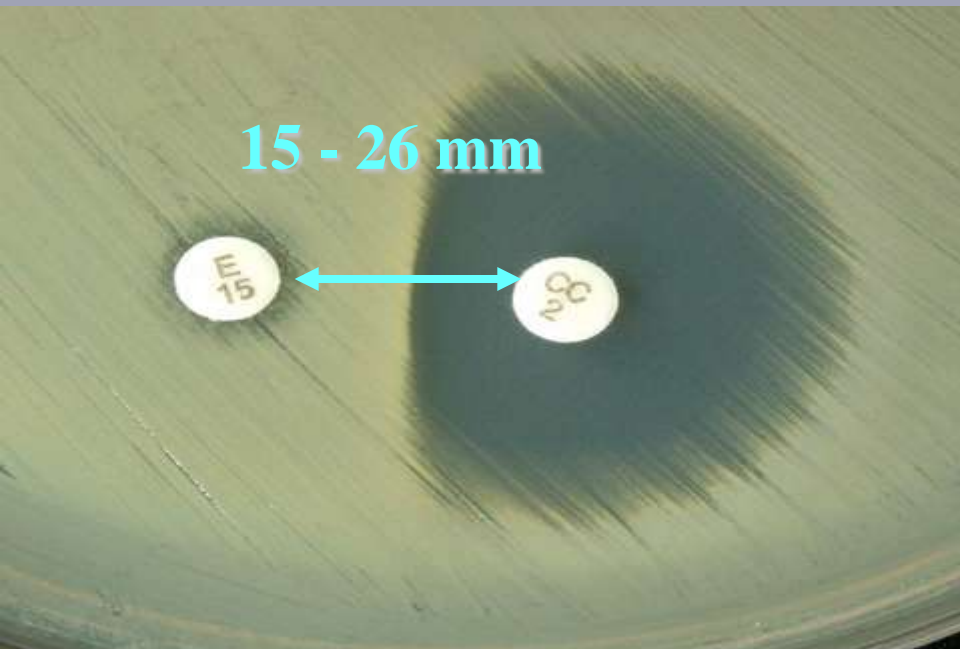


Staphylococcus spp.

Κανόνες CLSI

Φαινότυπος iMLS_B (D-zone)

(macrolide, lincosamide, type B streptogramin resistance)



Αναφορά: κλινδαμυκίνη (A)

Σχόλιο:

Το στέλεχος θεωρείται ανθεκτικό λόγω ανίχνευσης επαγώγιμης αντοχής. Ωστόσο το στέλεχος μπορεί να είναι αποτελεσματικό σε κάποιους ασθενείς.

Εντερόκοκκοι

Ενδογενής αντοχή

- *E.gallinarum*, *E.casseliflavus* και βανκομυκίνη
- Εντερόκοκκοι και κεφαλοσπορίνες
- Εντερόκοκκοι και αμινογλυκοσίδες (LLR)
- Ειδικά *E.faecium*, AAC(6') απώλεια συνέργειας μεξ αμινογλυκοσιδών (ΕΚΤΟΣ γενταμυκίνη, αμικασίνη, αρμπεκασίνη, στρεπτομυκίνη) και β-λακταμικών και γλυκοπεπτιδίων
- *E.faecalis*, *gallinarum*, *casseliflavus* και λινκοσαμίδες
- Εντερόκοκκοι και φουσιδικό

Παρά την *in vitro* ευαισθησία των εντεροκόκκων
σε TMP-SXT αναφέρουμε αντοχή

Εντερόκοκκοι

Ασυνήθεις φαινότυποι αντοχής

- ***Enterococcus* spp.** ανθεκτικοί σε:
 - λινεζολίδη, δαπτομυκίνη, τιγκεκυκλίνη
 - σε τεικοπλανίνη, βανκομυκίνη ευαίσθητοι
- ***E.faecalis, E.gallinarum, E.casseliflavus, E.avium***
 - ευαίσθητοι σε κινοπριστίνη-δαλφοπριστίνη



Enterococcus spp.

Κανόνες CLSI

- Έλεγχος συνέργειας με **αμινογλυκοσίδες** (HLAR) γενταμικίνη-στρεπτομικίνη
- Έλεγχος **πενικιλίνης - αμπικιλίνης**
- Έλεγχος **β-λακταμάσης** (νιτροσεφίνη)
- Σε **VRE στελέχη** έλεγχος CHLORA, ERY, TETRA, RIFAMP



Enterococcus spp

Φαινότυποι αντοχής στα γλυκοπεπτιδία

- Van-A φαινότυπος (πλασμίδιο)
Vancomycin^R, Teicoplanin^R
- Van-B φαινότυπος (χρωμόσωμα)
Vancomycin^R, Teicoplanin^S
- Van-D φαινότυπος (χρωμόσωμα)
Vancomycin^R, Teicoplanin^S
- Van-G, Van-E & Van-C φαινότυπος (χρωμόσωμα)
Vancomycin^{LR/S}, Teicoplanin^S



ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΟΙ

Ενδογενής αντοχή

- Φουσιδικό οξύ
- Αμινογλυκοσίδες
(χαμηλού επιπέδου αντοχή - LLR)



ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΟΙ

Ασυνήθεις φαινότυποι

Streptococcus pneumoniae

Αντοχή σε ιμιπενέμη, μεροπενέμη, βανκομυκίνη, τεικοπλανίνη, λινεζολίδη, κινोπριστίνη-δαλφοπριστίνη, δαπτομυκίνη, τιγκεκυκλίνη, ριφαμπικίνη

Group A,B,C,G
β-αιμολυτικοί

Αντοχή σε πενικιλίνη, κεφαλοσπορίνες, βανκομυκίνη, τεικοπλανίνη, λινεζολίδη, κινοπριστίνη-δαλφοπριστίνη, δαπτομυκίνη, τιγκεκυκλίνη



Περιστατικό 1

- Παιδί 5 χρόνων , προσέρχεται στα εξωτερικά ιατρεία με εικόνα μέσης ωτίτιδας. Κατά την ΩΡΛ εξέταση, λαμβάνεται Κ/α και το δείγμα αποστέλλεται στο εργαστήριο.
- Από την καλλιέργεια απομονώνεται Gram (+) διπλόκοκκος, α-αιμολυτικός, με ξάσπρισμα του σοκολατόχρωμου, οπτοχίνη ευαίσθητος.
- Πώς θα ελέγξετε την ευαισθησία του στελέχους;



Πνευμονιόκοκκος

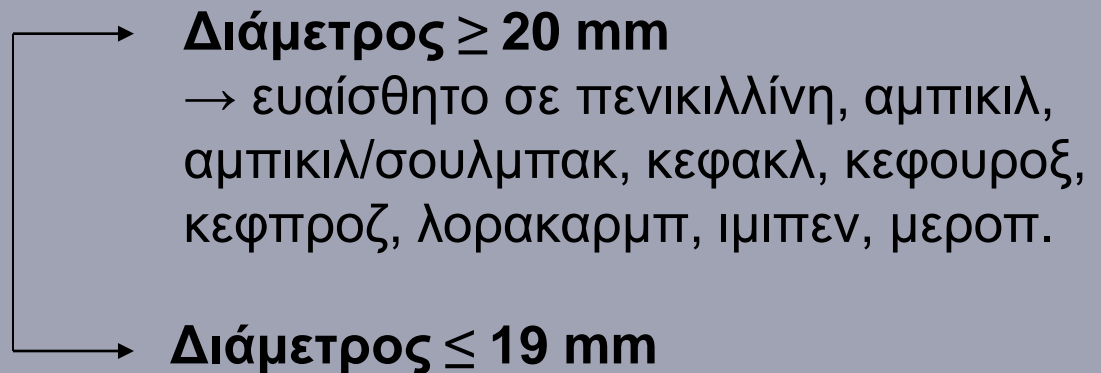
Δεν ελέγχουμε β-λακταμικά αντιβιοτικά με
μέθοδο διάχυσης των δίσκων
(Kirby-Bauer)



Streptococcus pneumoniae

- Μέθοδος των δισκίων: αντιβιοτικό - δείκτης

Οξακιλλίνη 1μg



→ MIC



Πενικιλίνη, κεφοταξίμη
ή κεφτριαξόνη ή μεροπενέμη

Περιστατικό 2

- Γυναίκα 35 χρ., προσέρχεται στα Επείγοντα με εικόνα μηνιγγίτιδας. Από την ΟΝΠ, λαμβάνεται Γεν. και Κ/α ΕΝΥ και το δείγμα αποστέλλεται στο εργαστήριο.
- Από την καλλιέργεια απομονώνεται Gram (+) διπλόκοκκος, α-αιμολυτικός, με ξάσπρισμα του σοκολατόχρωμου, οπτοχίνη ευαίσθητος
- Πώς θα ελέγξετε την ευαισθησία του στελέχους;



Streptococcus pneumoniae

Σε μηνιγγίτιδα, ελέγχουμε μόνο MIC

Penicillin	Στελέχη από ΕΝΥ (μg/ml)	Στελέχη από άλλα υλικά (parenteral)	Στελέχη από άλλα υλικά (oral)
Ευαίσθητο	≤ 0.06	≤ 2	≤ 0.06
Μέτρια ευαίσθητο	-	4*	0.12-1
Ανθεκτικό	≥ 0.12	≥ 8	≥ 2

26/6/2012

* MIC 4 μg/ml απαιτούν πενικιλίνη 18-24 εκ. αντί 12 εκ.

Streptococcus pneumoniae

Cefotaxime Ceftriaxone	meningitis ($\mu\text{g/ml}$)	nonmeningitis ($\mu\text{g/ml}$)
Ευαίσθητο	≤ 0.5	≤ 1
Μέτρια ευαίσθητο	1	2
Ανθεκτικό	≥ 2	≥ 4

Streptococcus pneumoniae

Μηχανισμός αντοχής (β-λακτάμες)

- Τροποποιημένες PBP's (μωσαϊκά γονίδια)
- Πενικιλίνη (PBP2b)
- Κεφοταξίμη (PBP2x)
- Δεν έχει ανιχνευτεί παραγωγή β-λακταμάσης



Streptococcus spp. β-Hemolytic group (large colony-forming strains)

- Δεν έχουν απομονωθεί στελέχη ανθεκτικά σε πενικιλίνη και βανκομυκίνη
- Σε αλλεργία στην πενικιλίνη, ελέγχεται η ερυθρομυκίνη και η κλινδαμυκίνη



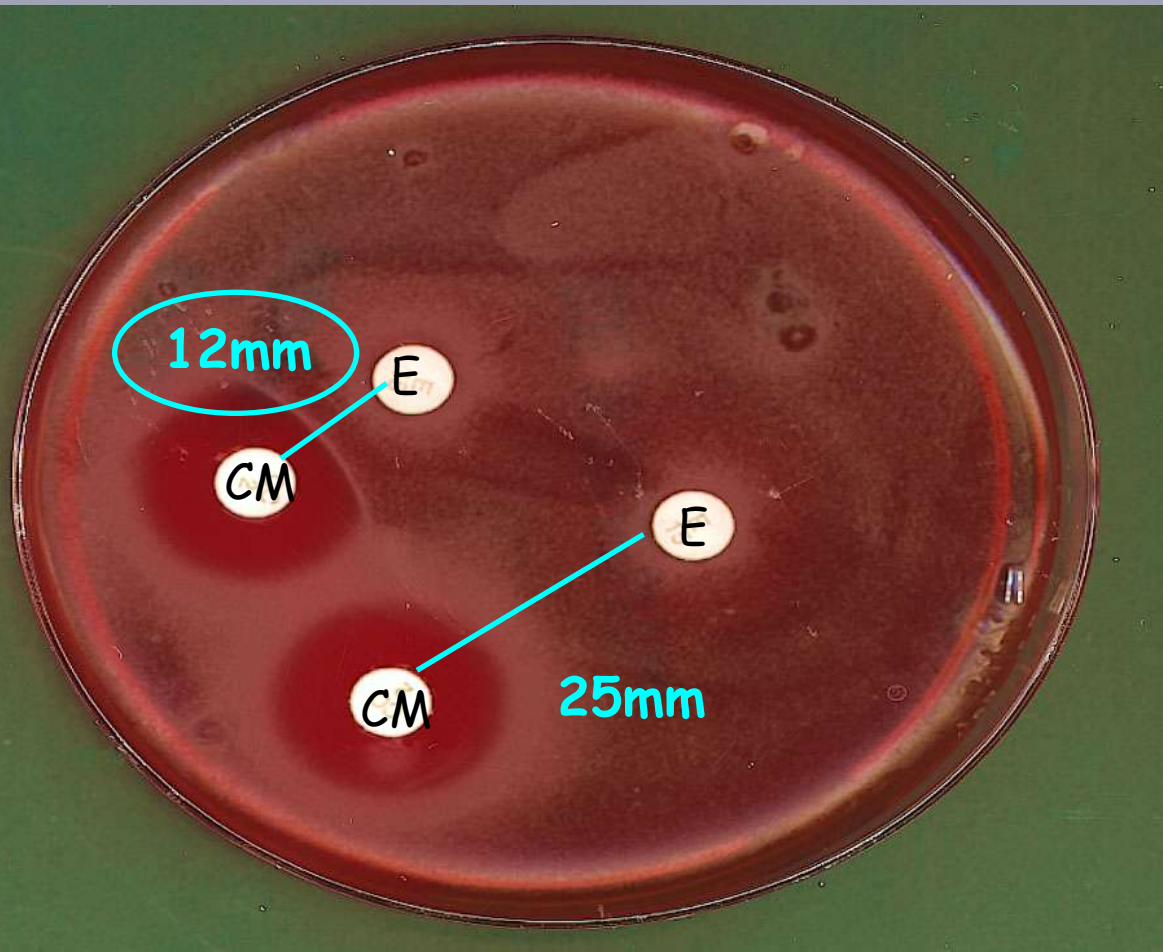
Streptococcus spp. β -Hemolytic group

Φαινότυπος iMLSB

Αναφορά:

ERYTHRO (A)

CLINDA(A)



Πρασινίζοντες στρεπτόκοκκοι (*mutans/salivarius/bovis/anginosus* group)

- Αναξιόπιστη η Kirby-Bauer για penicillin, ampicillin
- Όταν απομονώνονται από στείρες περιοχές (ΕΝΥ, ΑΙΜΑ, ΟΣΤΑ) έλεγχος ευαισθησίας στην πενικιλίνη : αποδεκτή μόνο MIC

PENICILLIN (S): MIC \leq 0.12

PENICILLIN (I) : MIC 0.25-2

Συνδυασμένη θεραπεία με αμινογλυκοσίδες (βακτηριοκτόνος δράση)



Haemophilus influenzae

- Ενδογενής αντοχή

**penicillin G,
erythromycin,
clindamycin**

- Ασυνήθης φαινότυπος

**Αντοχή σε κεφαλοσπορίνες
3ης γεν.,* καρβαπενέμες,
φλουοροκινολόνες
(αντοχή σε NA : MIC FQ)**

*:- ESBL/TEM-15 +altered PBP3, *H. parainfluenzae*, JAC 2008
-*bla*_{ESBL} +PBP3, *H.influenzae*, JAC 2006

Haemophilus influenzae

Μηχανισμοί αντοχής

- Παραγωγή β-λακταμάσης
(πλασμιδιακή TEM-1, >95%)
- Τροποποιημένες PBP_s
(BLNAR, 2%)
- Συνδυασμός β-λακταμάσης και τροποποιημένων PBP_s
(BLPACR, σπάνια)



Haemophilus influenzae

Κανόνες CLSI

- Αντιβιοτικό δείκτης: αμπικιλίνη
- Πάντα έλεγχος β-λακταμάσης (νιτροσεφίνη)
- Στελέχη β-λακταμάση αρνητικά, αμπικιλίνη ανθεκτικά (BLNAR) αναφέρονται **ανθεκτικά** σε **amox/clav, amp/sulb, cefurox, cefacl, cefproz, tzp** παρά την *in vitro* ευαισθησία τους
- ENY:MIC (ampicil, cephs 3rd gen., chlora, merop)



Φαινοτυπική ανίχνευση μηχανισμών αντοχής

- Δυσχερής λόγω παρουσίας πολλαπλών μηχανισμών αντοχής
- Αδυναμία ανίχνευσης νέων μηχανισμών αντοχής με φαινότυπο παρόμοιο με εκείνο γνωστών μηχανισμών
- Περιορισμένες θεραπευτικές επιλογές – επιλογή ανθεκτικών στελεχών



Χρειάζεται η φαινοτυπική ανίχνευση μηχανισμών αντοχής;;;

- Λοιμώξεις με μεγάλο μικροβιακό φορτίο (inoculum effect)
- Διαμερίσματα με πτωχή διείσδυση
- Τιμές MIC (μικροβιακή συγκέντρωση 10^5 cfu/ml)
- Αναγκαίες οι κλινικές μελέτες



Αντί επιλόγου...

- Διαρκής ενημέρωση...
- Διαρκής εκπαίδευση...
- Διαρκής επαγρύπνηση...
- Διαρκής αναζήτηση...

Έν οίδα ότι ουδέν οίδα...

