Diagnostyka mikrobiologiczna

Antybiogramy podstawą celowanej antybiotykoterapii

Mgr Małgorzata Skałkowska

Pracownia Mikrobiologii ZDL

Cel spotkania:

- przypomnienie podstawowych pojęć związanych z określaniem lekowrażliwości izolowanych drobnoustrojów na antybiotyki i chemioterapeutyki
- nowe wytyczne dotyczące interpretacji wyników badania mikrobiologicznego

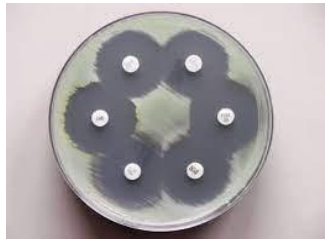
Dla przypomnienia - cel badania mikrobiologicznego

- Izolacja oraz identyfikacja czynnika etiologicznego zakażenia
- Określenie lekowrażliwości
- Wykrycie mechanizmów oporności
- Interpretacja uzyskanych wyników badania, zgodnie z aktualnymi wytycznymi
- Przygotowanie ostatecznego raportu z badania.

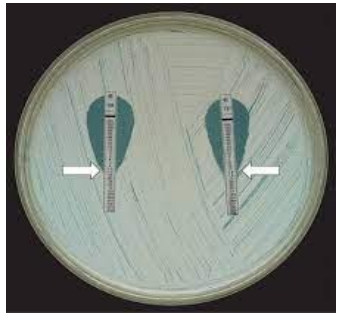
Racjonalna antybiotykoterapia - warunki:

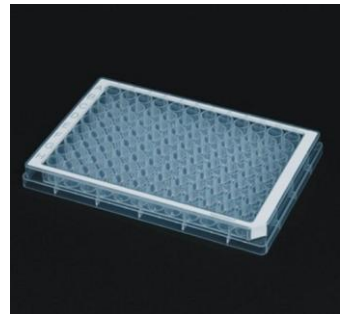
- właściwy dobór antybiotyku
  - uwarunkowania farmakologiczne (PD i PK) oraz mikrobiologiczne
  - dowiedziona skuteczność kliniczna
  - bezpieczeństwo leczenia
  - minimalizacja ryzyka narastania oporności patogenów
  - zastosowanie zgodne z rejestracją leku
- określenie dawkowania adekwatnego do rodzaju zakażenia
- prawidłowe monitorowanie efektywności leczenia

Metody oznaczania antybiogramów



- **Metoda jakościowa - dyfuzyjno-krążkowa** (pomiar średnicy strefy zahamowania wzrostu wokół krążka)
  - pozwala na określenie wrażliwości drobnoustroju na antybiotyki oraz wykrycie mechanizmów oporności
  - dobór krążków wysyconych określoną dawką antybiotyku jest zgodny z aktualnymi wytycznymi EUCAST





- **Metody ilościowe - określają MIC -** minimalne stężenie hamujące (mg/mL)
  - Paski z gradientem stężeń antybiotyku
  - Metoda rozcieńczeń w bulionie (np. Kolistyna)
- **Metoda automatyczna** - pozwala określić wartości MIC w zakresie tzw. punktów odcięcia (breakpoint)

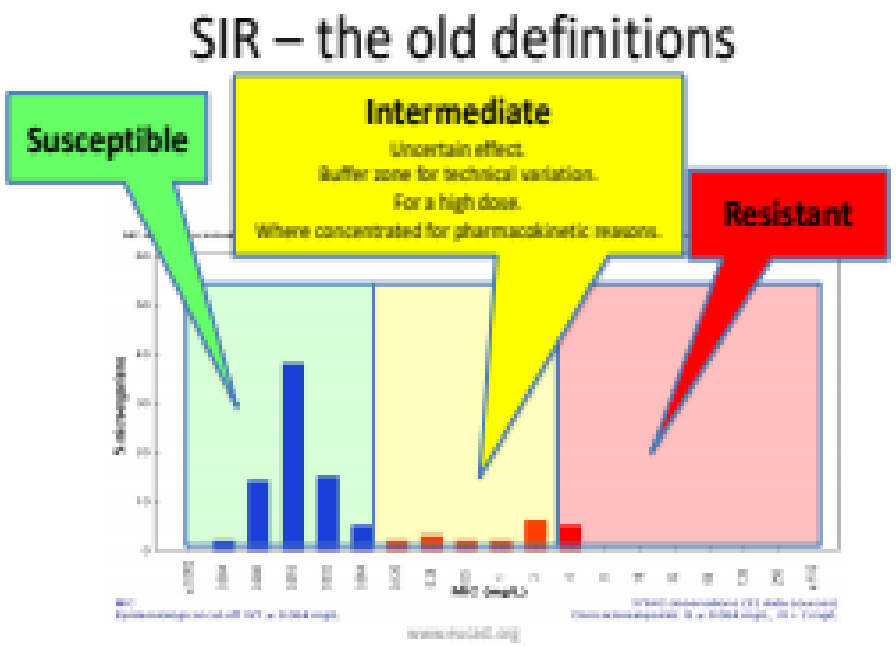
Definicje dopuszczalne przez Zespół Roboczy ds. oznaczania lekowrażliwości zgodnie z zaleceniami EUCAST (wersja 4.0 01 maja 2020)

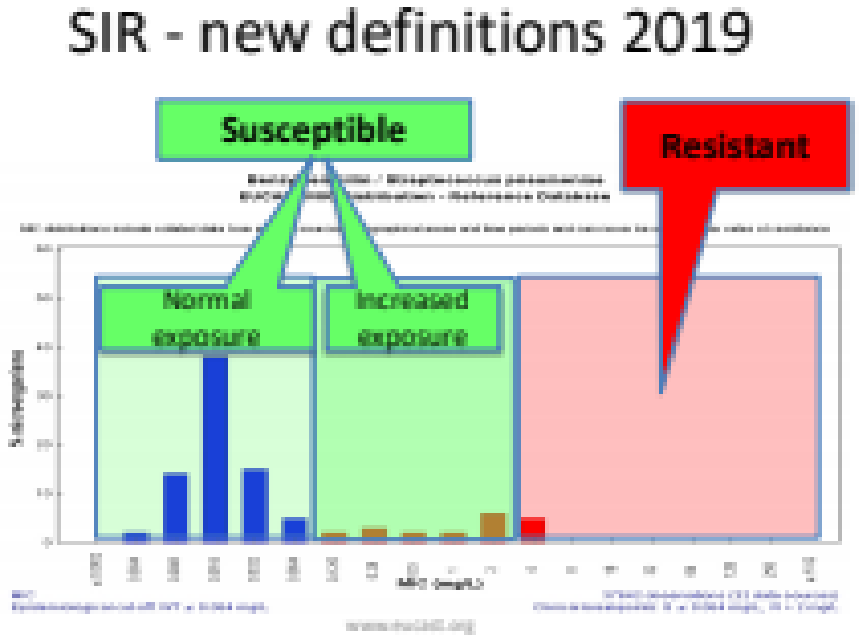
- **S – wrażliwy** (sensitive) – sukces kliniczny jest bardzo prawdopodobny
- **R – oporny** (resistance) – sukces kliniczny jest mało realny
- **WZE -** dawna wartość **I – „wrażliwy, zwiększona ekspozycja”** – sukces terapeutyczny może być osiągnięty pod warunkiem zwiększenia ekspozycji na lek poprzez zastosowanie wysokiej dawki antybiotyku, zmianę sposobu podania leku lub w wyniku kumulacji leku w miejscu zakażenia.

- **MIC - minimum inhibitory concentration** (minimalne stężenie antybiotyku/chemioterapeutyku hamujące wzrost drobnoustroju w warunkach in vitro). Na podstawie MIC można dobrać najlepiej działający antybiotyk oraz dostosować jego dawkę.

- **BP - stężenie graniczne – breakpoint** (ang. punkt odcięcia) – określona wartość MIC lub wielkość strefy zahamowania wzrostu, będąca podstawą do zakwalifikowania drobnoustroju do kategorii klinicznej: wrażliwy, wrażliwy zwiększona ekspozycja lub oporny

Zmiany wprowadzone w EUCAST – WZE (wrażliwy, zwiększona ekspozycja)





Wstępna analiza wyników

- Sprawdzenie najprostszych indeksów skuteczności leków dla których wykazano wrażliwość (S)

- Porównanie wartości MIC dla kategorii (S) z wartościami granicznymi (BP) ustalonymi przez EUCAST. **Patrz tab. EUCAST** (w szczególnych przypadkach można stosować rekomendacje CLSI)

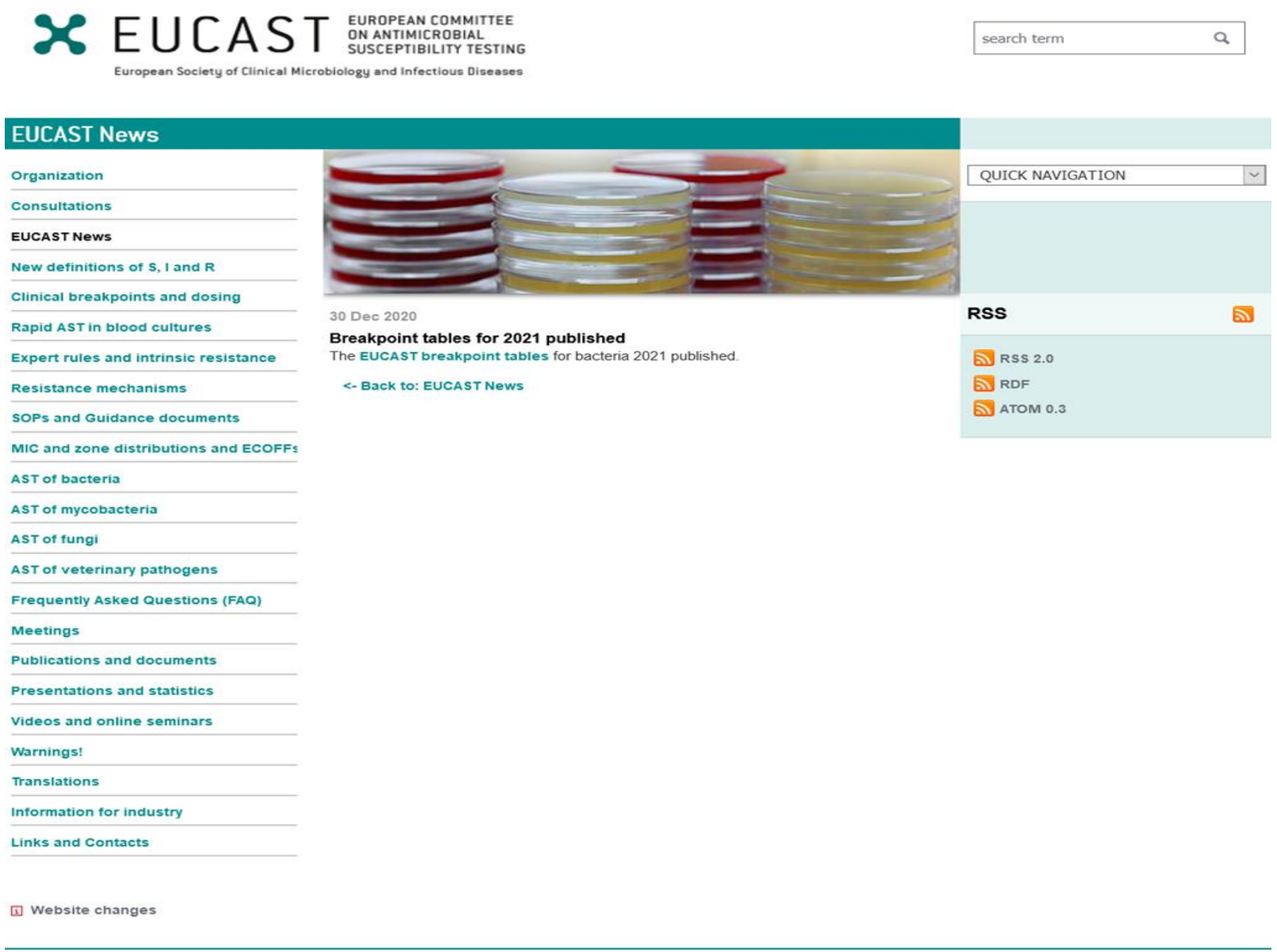
- Sprawdzenie, czy dla oznaczonej wartości MIC jest podana dawka antybiotyku w tabelach EUCAST
  - Wartości graniczne MIC wymagają maksymalnych dawek.

EUCAST – jako podstawa merytoryczna oznaczania antybiogramów

- Co to jest EUCAST

European Committee On Antimicrobial Susceptibility Testing (Europejski Komitet ds. Oznaczania Lekowrażliwości)

- Co zawiera EUCAST
- Aktualizacja EUCAST



EUCAST – zasady interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości

- Opisują działania, które należy podjąć w przypadku otrzymania określonych wyników oznaczania lekowrażliwości
- Zawierają wskazówki dotyczące wnioskowania na temat oporności/wrażliwości na inne antybiotyki na podstawie jednego przedstawiciela danej grupy
- Monitorują zmiany w kategorii S, R, I (WZE)
- Wyznaczają tzw. wartości graniczne (breakpoint) dla antybiotyku
- Obejmują aktualne Tabele interpretacji granicznych wartości MIC oraz wielkości stref zahamowania wzrostu

1.Opisują działania, które należy podjąć w przypadku otrzymania określonych wyników oznaczania lekowrażliwości
2. Zawierają wskazówki dotyczące wnioskowania na temat wrażliwości/oporności na inne antybiotyki na podstawie jednego przedstawiciela danej grupy
3. Monitorują zmiany w kategoryzacji wrażliwy-S, średniowrażliwy-IS, oporny-R
4. Wyznaczają tzw. wartości graniczne (ang. breaking points) dla antybiotyku
5. Wydają aktualne *Tabele interpretacji wartości granicznych stężeń hamujących (MIC) oraz wielkości i stref zahamowania wzrostu*

Jak czytać tabele z wartościami EUCAST

Oznaczanie MIC (metoda mikrorozcieńczeń w bulionie norma ISO 20776-1)
Podłoże:
Inokulum:
Hodowla:
Odczyt:
Kontrola jakości:

Wskazówki dla oznaczeń MIC metodą mikrorozcieńczeń oraz kontroli jakości

Metoda dyfuzyjno-krążkowa wystandaryzowana przez EUCAST
Podłoże:
Inokulum:
Hodowla:
Odczyt:
Kontrola jakości:

Wskazówki dla oznaczeń metodą dyfuzyjno-krążkową oraz kontroli jakości

Odgórnie przyjęta wartość graniczna „poza skalą", wg której szczepy dzikie raportowane są jako „Wrażliwy, zwiększona ekspozycja (I)"

Wartość graniczna z nazwą gatunku bakterii odnosi się jedynie do wymienionego gatunku (tu: *S. aureus*)

Tabela nie zawiera kolumny dla kategorii „wrażliwy zwiększona ekspozycja", ale wartość ta jest zawarta pomiędzy wartościami granicznymi dla szczepów wrażliwych (S) i opornych (R). Jeśli wartości graniczne dla kategorii S i R są takie same, brak jest kategorii „wrażliwy zwiększona ekspozycja".
Antybiotyk A: brak kategorii „wrażliwy zwiększona ekspozycja"
Antybiotyk B: wrażliwy zwiększona ekspozycja: 4 mg/L, 23-25 mm
Antybiotyk H: wrażliwy zwiększona ekspozycja: 1-2 mg/L, 24-29 mm

Obszar Niepewności Technicznej
Patrz szczegółowe informacje jak radzić sobie z techniczną niepewnością w badaniu lekowrażliwości drobnoustrojów

Antybiotyk	Wartość graniczna MIC (mg/L)			Zawartość antybiotyku w krążku (µg)	Wartość graniczna strefy zahamowania wzrostu (mm)		
	S ≤	R >	ATU		S ≥	R <	ATU
Antybiotyk A	1[1]	1[1]		X	20[A]	20[A]	
Antybiotyk B	2[2]	4		Y	26	23	
Antybiotyk C	0,001	8		X	50	18	
Antybiotyk D, *S.aureus*	IE	IE			IE	IE	
Antybiotyk E	-	-			-	-	
Antybiotyk F	IP	IP		Y	IP	IP	
Antybiotyk G (badanie przesiewowe)	NA	NA		Z	25	25	
Antybiotyk H	0,5	2			30	24	
Antybiotyk I	(8)[1]	(8)[1]		30	(18)[A]	(18)[A]	

Komentarze
Numerami oznaczono komentarze dotyczące wartości granicznych MIC. Literami oznaczono komentarze dotyczące wartości granicznych stref zahamowania wzrostu w metodzie dyfuzyjno-krążkowej.

1. Komentarz ogólny i/lub dotyczący wartości granicznych MIC.
2. Nowy komentarz
~~Usunięty komentarz~~

A. Komentarz dotyczący metody dyfuzyjno-krążkowej

Pola zawierające zmiany w stosunku do poprzedniej wersji oznaczono na żółto

Brak wartości granicznych, oznaczanie lekowrażliwości nie jest zalecane

Wartość graniczna dla odróżnienia izolatów z mechanizmem oporności od izolatów bez mechanizmu oporności

Nie dotyczy (wartość graniczna wyłącznie do badań rzesiewowych)

Wartość w kolorze niebieskim – link do dystrybucji wartości MIC

W przygotowaniu

Istnieje zbyt mało dowodów potwierdzających, że lek wykazuje aktywność wobec tej grupy drobnoustrojów

Na niebiesko oznaczono antybiotyki, dla których opracowano charakterystykę leku (dostępne w wersji angielskojęzycznej na stronie internetowej EUCAST www.eucast.org)

Wartości graniczne w nawiasach stosowane do rozróżnienia drobnoustrojów bez i z nabytymi mechanizmami oporności (patrz Komentarze)

Wartość w kolorze niebieskim – link do dystrybucji wielkości stref zahamowania wzrostu

Najważniejsze zmiany wprowadzone w EUCAST

Kategoria „wrażliwy zwiększona ekspozycja” przy braku kategorii „wrażliwy” –zapisy w tabelach EUCAST

WAŻNE!

- Arbitralnie przyjęte wartości graniczne „wykraczające poza skalę” wskazujące, że szczepy dzikie należy kwalifikować do kategorii „wrażliwy zwiększona ekspozycja”:
- Metoda dyfuzyjno-krążkowa:
  - wielkość strefy zahamowania wzrostu dla kategorii „wrażliwy” ≥50 mm
  - określona wartość graniczna w mm dla kategorii „oporny”
- Oznaczanie najmniejszego stężenia hamującego MIC:
  - wartość MIC dla kategorii wrażliwy ≤0,001 mg/L
  - określona wartość graniczna w mg/L dla kategorii „oporny”
- **Usunięto znak HE (wysoka ekspozycja) przy nazwie antybiotyku**

Najważniejsze zmiany wprowadzone w EUCAST

Kategoria „wrażliwy zwiększona ekspozycja” przy braku kategorii „wrażliwy” – przykłady

- ***Pseudomonas* spp.:** piperacylina, piperacylina-tazobaktam, tikarcylina, tikarcylina-kwas klawualnowy, cefepim, ceftazydym, imipenem, aztreonam, ciprofloksacyna, lewofloksacyna
- **Pałeczki *Enterobacterales*:** cefazolina, cefuroksym iv (*Escherichia coli, Klebsiella* spp., (z wyjątkiem K. *aerogenes*), *Routella* spp., *P. mirabilis),* imipenem (*Morganella morganii*, *Proteus* spp, *Providencia* spp.)
- ***Stenotrophomonas maltophilia:*** trimetoprim-sulfametoksazol
- ***Acinetobacter* spp.:** ciprofloksacyna
- ***Staphylococcus* spp.**: fluorochinolony (ciprofloksacyna, lewofloksacyna, ofloksacyna)
- ***Enterococcus* spp**.: imipenem
- ***Streptococcus* spp. grupy A, B, C i D:** lewofloksacyna
- ***Streptococcus pneumoniae***: lewofloksacyna
- ***Haemophilus influenzae***: doustne amoksycylina , amoksycylina-kwas klawulanowy, cefuroksym
- ***Moraxella catarrhalis***: cefuroksym doustny
- ***Burkholderia pseudomalei***: amoksycylina-kwas klawulanowy, ceftazydym, doksycyklina, chloramfenikol, trimetoprim-sulfametoksazol

WAŻNE!

Przykład (PAR) – aktualne tabele Eucast 2021

***Pseudomonas* spp.**

Expert Rules and Intrinsic Resistance Tables

EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 11.0, valid from 2021-01-01

Cephalosporins	MIC breakpoints (mg/L)			Disk content (µg)	Zone diameter breakpoints (mm)			Notes Numbered notes relate to general comments and/or MIC breakpoints. Lettered notes relate to the disk diffusion method.
	S ≤	R >	ATU		S ≥	R <	ATU	
Cefaclor	-	-			-	-		1. Broth microdilution MIC determination must be performed in iron-depleted Mueller-Hinton broth and specific reading instructions must be followed. For testing conditions and reading instructions, see http://www.eucast.org/guidance_documents/.
Cefadroxil	-	-			-	-		
Cefalexin	-	-			-	-		
Cefazolin	-	-			-	-		2. For susceptibility testing purposes, the concentration of avibactam is fixed at 4 mg/L.
Cefepime	0.001	8		30	50	21		3. See table of dosages for dosing for different indications.
Cefiderocol, *P. aeruginosa*	2[1]	2[1]		30	22	22	14-22	4. For susceptibility testing purposes, the concentration of tazobactam is fixed at 4 mg/L.
Cefixime	-	-			-	-		
Cefotaxime	-	-			-	-		
Cefoxitin	-	-			-	-		
Cefpodoxime	-	-			-	-		
Ceftaroline	-	-			-	-		
Ceftazidime	0.001	8		10	50	17		
Ceftazidime-avibactam, *P. aeruginosa*	8[2]	8[2]		10-4	17	17	16-17	
Ceftibuten	-	-			-	-		
Ceftobiprole	IE	IE			IE	IE		
Ceftolozane-tazobactam[3], *P. aeruginosa*	4[4]	4[4]		30-10	23	23		
Ceftriaxone	-	-			-	-		
Cefuroxime iv	-	-			-	-		
Cefuroxime oral	-	-			-	-		

Carbapenems	MIC breakpoints (mg/L)			Disk content (µg)	Zone diameter breakpoints (mm)			Notes Numbered notes relate to general comments and/or MIC breakpoints. Lettered notes relate to the disk diffusion method.
	S ≤	R >	ATU		S ≥	R <	ATU	
Doripenem	0.001	2		10	50	22		1. For susceptibility testing purposes, the concentration of relebactam is fixed at 4 mg/L.
Ertapenem	-	-			-	-		2. For susceptibility testing purposes, the concentration of vaborbactam is fixed at 8 mg/L.
Imipenem	0.001	4		10	50	20		
Imipenem-relebactam, *P. aeruginosa*	2[1]	2[1]		10-25	22	22		
Meropenem (indications other than meningitis)	2	8		10	24	18		
Meropenem (meningitis)	2	2		10	24	24		
Meropenem-vaborbactam, *P. aeruginosa*	8[2]	8[2]		IP	IP	IP		

Monobactams	MIC breakpoints (mg/L)			Disk content (µg)	Zone diameter breakpoints (mm)			Notes Numbered notes relate to general comments and/or MIC breakpoints. Lettered notes relate to the disk diffusion method.
	S ≤	R >	ATU		S ≥	R <	ATU	
Aztreonam	0.001	16		30	50	18		

Polski organ referencyjny

Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów (KORLD)

Adres strony: www.korld.edu.pl

Gdzie szukać informacji?

Narodowy Program Ochrony Antybiotyków

- Szpitalna Polityka Antybiotykowa
- Szpitalna lista antybiotyków 2020
- Dawkowanie w Eucast

Narodowy Program Ochrony Antybiotyków

www.antybiotyki.edu.pl

Szpitalna lista antybiotyków - przykład

WYBRANE PROPOZYCJE WSKAZAŃ DO STOSOWANIA POSZCZEGÓLNYCH ANTYBIOTYKÓWW SZPITALU

ANTYBIOTYK	WSKAZANIA DO STOSOWANIA EMPIRYCZNEGO	WSKAZNIA DO STOSOWANIA NA PODSTAWIE WYNIKU BADANIA MIKROBIOLOGICZNEGO (terapia celowana)	DAWKOWANIE U DOROSŁYCH
PENICYLINY			
Penicylina fenoksymetylowa p.o.	• ostre zapalenie gardła i migdałków podniebiennych [10] • zastosowanie profilaktyczne: – chemioprofilaktyka gorączki reumatycznej [3,59]	• lek z wyboru w łagodnym i umiarkowanym zakażeniu powodowanym przez *Streptococcus pyogenes* i inne wrażliwe paciorkowce • róża nawrotowa [6,45]	• zwykle 3 mln j.m./dobę p.o. w dawkach podzielonych co 8-12 godz.
Penicylina G benzylowa i.v.	• zakażenie skóry i tkanek miękkich: – łagodna i umiarkowana postać róży [6,45] • zakażenie ośrodkowego układu nerwowego: – ropień mózgu pochodzenia zębopochodnego w terapii skojarzonej z metronidazolem [4,5] – alternatywnie do ceftriaksonu/cefotaksymu w leczeniu ropnia mózgu pochodzącego z nosogardła, ucha lub zatok w terapii skojarzonej z metronidazolem [9] Ze względu na wąskie spektrum działania nie są podane inne wskazania do stosowania w terapii empirycznej. • zastosowanie profilaktyczne: – okołoporodowa profilaktyka zakażeń o etiologii *Streptococcus agalactiae* u noworodków [1,2]	• lek z wyboru w zakażeniu powodowanym przez *Streptococcus pyogenes* oraz wrażliwe: *Neisseria meningitidis* (jeżeli MIC ≤ 0,06 µg/ml), *Streptococcus pneumoniae* (w zależności od miejsca zakażenia i MIC) • lek z wyboru w zakażeniu o etilogii *Streptococcus spp.* gr C, D, F,G, *Streptococcus suis* i tzw. grupy *viridans* • lek z wyboru w inwazyjnym zakażeniu *Streptococcus agalactiae* • lek z wyboru (wymiennie z ampicyliną) w leczeniu zakażenia o etiologii *Listeria monocytogenes* • zakażenie tkanek miękkich przebiegających z martwicą (np. martwicze zapalenie powięzi) o potwierdzonej etiologii *Streptococcus pyogenes* w skojarzeniu z klindamycyną lub w przypadku oporności na klindamycynę z linezolidem [6,157] • zgorzel gazowa o etiologii *Clostridium perfringens* w terapii skojarzonej z klindamycyną [6,157] • bakteryjne zapalenie wsierdzia wywołane przez wrażliwe paciorkowce, wybór penicyliny i dawek zależne od MIC [7,26] • zakażenie kości i stawów w tym zakażenia protez powodowane przez wrażliwe paciorkowce β-hemolizujące i *Cutibacterium acnes* [8,83,84]	• zwykle 12-30 mln j.m./dobę i.v. w dawkach podzielonych co 4-6 godz.

Służymy pomocą w dylematach

Przydatne linki:

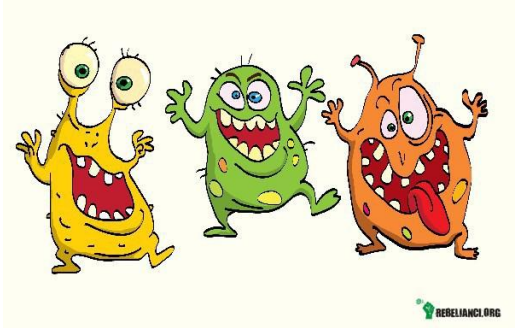
- http://korld.nil.gov.pl/
- https://www.eucast.org/
- http://antybiotyki.edu.pl/

Pomocne numery:

- Pracownia Mikrobiologii ZDL – 12 64 68 213
  12 64 68 462
- Kierownik Pracowni Mikrobiologii – 12 64 68 562

Piśmiennictwo

Literatura dostępna na życzenie



Dziękuję za uwagę