

Nowe karty antybiogramowe VITEK 2 i VITEK 2 Compact

dr Dorota Żabicka¹, dr Elżbieta Stefaniuk^{1,2}

¹ Narodowy Instytut Leków, Warszawa

² Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej, Warszawa

Zespół ekspertów powołany przez firmę bioMérieux w ramach Forum VITEK 2 w składzie:

- **dr Elżbieta Arłukowicz** - Laboratoria Medyczne Bruss grupa Alab Sp. z o. o.,
- **dr Krzysztof Burdynowski** - Wojewódzkie Centrum Medyczne w Opolu,
- **dr Krzysztof Golec** - Szpital Wojewódzki nr 2 w Rzeszowie,
- **mgr Aneta Guzek** - Wojskowy Instytutu Medycznego,
- **dr Katarzyna Jachna-Sawicka** - Szpital Uniwersytecki nr 1 im. dr. Antoniego Jurasza w Bydgoszczy,
- **dr Jacek Kalisz** - Synevo Sp. z o. o. Laboratorium w Łodzi,
- **dr Robert Kuthan** - Warszawski Uniwersytet Medyczny,
- **mgr Ewa Młodzińska** - Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej w Warszawie,
- **mgr Anna Mól** - Szpital Kliniczny im. Przemienienia Pańskiego w Poznaniu,
- **dr Łukasz Naumiuk** - Uniwersyteckie Centrum Kliniczne w Gdańsku,
- **dr Dorota Olszańska** - Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Akademii Medycznej w Białymstoku,
- **dr Katarzyna Semczuk** - Instytut Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie
- **mgr Małgorzata Skalkowska** - Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. L. Rydygiera w Krakowie,
- **dr Elżbieta Stefaniuk** - Narodowy Instytut Leków w Warszawie i Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej w Warszawie,
- **dr Ewa Stepnowska** - Diagnostyka Sp. z o. o. Laboratorium Centralne w Warszawie,
- **mgr Małgorzata Szarata** - Szpital Wojewódzki w Poznaniu,
- **mgr Małgorzata Wróblewska** - Regionalny Szpital Specjalistyczny im. dr. Władysława Biegańskiego w Grudziądzu

we współpracy z Krajowym Ośrodkiem Referencyjnym ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów (KORLD), Narodowy Instytut Leków, reprezentowanym przez **dr Dorotę Żabicką**, opracował skład antybiotyków do oznaczania lekowrażliwości w nowych kartach do systemów VITEK 2 i VITEK 2 Compact.

Zaproponowane karty uzyskały aprobatę Konsultanta Krajowego w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej **prof. dr hab. n. med. Walerii Hryniewicz**.

Zakresy stężeń antybiotyków w kartach są zgodne z obowiązującymi rekomendacjami EUCAST. Karty zostały przygotowane specjalnie na rynek polski i będą dostępne w ofercie firmy bioMérieux od kwietnia 2015 roku:

- **Karta AST-N330** - do oznaczania lekowrażliwości Gram-ujemnych pałeczek fermentujących wyhodowanych z moczu; zastępuje kartę AST-N258;
- **Karta AST-N332** - do oznaczania lekowrażliwości Gram-ujemnych pałeczek fermentujących wyhodowanych z materiałów innych niż mocz; zastępuje kartę AST-N259;
- **Karta AST-N331** - do oznaczania lekowrażliwości Gram-ujemnych pałeczek niefermentujących wyhodowanych ze wszystkich materiałów klinicznych; zastępuje kartę AST-N260;
- **Karta AST-ST01** - do oznaczania lekowrażliwości *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* spp. beta-hemolizujących oraz *Streptococcus* grupy *viridans* wyhodowanych ze wszystkich materiałów klinicznych; zastępuje kartę AST-P576;
- **Karta AST-P643** - do oznaczania lekowrażliwości *Enterococcus* spp. izolowanych ze wszystkich materiałów klinicznych; zastępuje karty AST-P586 i AST-GP67;
- **Karta AST-P644** - do oznaczania lekowrażliwości *Staphylococcus* spp. wyhodowanych ze wszystkich materiałów klinicznych; zastępuje karty AST-P580 i AST-P592.

Ideą zmian było zaproponowanie takiego składu antybiotyków w poszczególnych kartach, zgodnego z aktualnymi rekomendacjami terapeutycznym i diagnostycznymi w Polsce (www.antybiotyki.edu.pl), który umożliwi zastosowanie tych samych kart do oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów izolowanych od pacjentów w różnym wieku, zarówno hospitalizowanych, jak i ambulatoryjnych. Wprowadzenie jednakowych kart antybiogramowych do diagnostyki mikrobiologicznej dla obu grup pacjentów (szpitalnych i pozaszpitalnych) będzie dla laboratoriów mikrobiologicznych

korzystne ze względów **organizacyjnych i ekonomicznych**, pozwoli także na uproszczenie stosowanych w laboratoriach procedur wewnętrznej kontroli jakości.

Omówienie poszczególnych nowo wprowadzanych kart

- **Karta AST-N330 do oznaczania lekowrażliwości Gram-ujemnych pałeczek fermentujących wyhodowanych z moczu**

W zestawie antybiotyków w karcie AST-N330 znalazły się leki stosowane w zakażeniach dróg moczowych u pacjentów ambulatoryjnych, takie jak: ampicylina, amoksycylina/kwas klawulanowy, cefaleksyna, cefuroksym, nitrofurantoina, norfloksacyna, ciprofloksacyna oraz trimetoprim-sulfametoksazol. W nieskomplikowanych zakażeniach układu moczowego o etiologii *E. coli* antybiogram można uzupełnić o oznaczenie wrażliwości na fosfomycynę (interpretacja zgodnie z CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) 2015: krążek z fosfomycyną 200 µg - wrażliwy ≥ 16 mm, oporny ≤ 12 mm). Obok leków typowo stosowanych w leczeniu zamkniętym, takich jak amikacyna, gentamycyna, piperacylina-tazobaktam, ceftazydym, meropenem dodano dwa leki: drugi lek z grupy cefalosporyn III generacji – cefotaksym (wynik wrażliwości reprezentatywny również dla ceftriaksonu) oraz lek z grupy karbapenemów - ertapenem, jako najczulszy wskaźnik pojawiającej się oporności na karbapenemy. W przypadku obniżonej wrażliwości na którąkolwiek z cefalosporyn III generacji, zaleca się dodatkowo oznaczyć ESBL (β -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym) z wykorzystaniem jednej z rutynowo stosowanych metod (np. metodą dwóch krążków).

- **Karta AST-N332 - do oznaczania lekowrażliwości Gram-ujemnych pałeczek fermentujących wyhodowanych z materiałów innych niż mocz**

Karta ta zawiera zestaw leków stosowanych głównie w leczeniu zamkniętym. Spektrum leków przeciwdrobnoustrojowych (włącznie z kolistyną i tigecykliną) pozwala na ustalenie właściwej terapii w przypadku występowania ważnych z punktu widzenia epidemiologicznego mechanizmów oporności na antybiotyki β -laktamowe, takich jak ESBL, MBL (metalo- β -laktamazy) i KPC (*Klebsiella pneumoniae* karbapenemazy). Wynik oznaczania wrażliwości na cefotaksym jest reprezentatywny również dla ceftriaksonu. W składzie leków nie uwzględniono ampicyliny,

gdyż w świetle aktualnych rekomendacji terapeutycznych ma ona ograniczone zastosowanie w leczeniu zamkniętym do leczenia zakażeń wywołanych przez pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* (patrz: komentarz poniżej). W przypadku izolatów o obniżonej wrażliwości na karbapenemy, należy wykrywać karbapenemazy postępując zgodnie z zaleceniami Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów (aktualne rekomendacje: www.korld.edu.pl).

- **Karta AST-N331 - do oznaczania lekowrażliwości Gram-ujemnych pałeczek niefermentujących wyhodowanych ze wszystkich materiałów**

Karta zawiera zestaw antybiotyków, które mogą być stosowane zarówno w zakażeniach dróg moczowych, jak i w zakażeniach innych układów, w tym w zakażeniach inwazyjnych. Uwzględniono w niej wszystkie aktywne wobec pałeczek niefermentujących antybiotyki β -laktamowe, w tym ampicylinę z sulbaktamem i trimetoprim/sulfametoksazol aktywne wobec *Acinetobacter* spp., wszystkie stosowane leki z grupy aminoglikozydów, fluorochinolony (ciprofloksacynę i lewofloksacynę) oraz kolistynę. W przypadku izolatów spełniających kryteria do wykrywania karbapenemaz, należy wykonać testy zgodnie z zaleceniami Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów (aktualne rekomendacje: www.korld.edu.pl). W przypadku leków, dla których brak wartości granicznych EUCAST, należy stosować się do zaleceń Zespołu ds. oznaczania lekowrażliwości zgodnie z zaleceniami EUCAST.

- **Karta AST-ST01 - do oznaczania lekowrażliwości *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* spp. beta-hemolizujących oraz *Streptococcus* grupy *viridans* wyhodowanych ze wszystkich materiałów klinicznych**

Karta zawiera zestaw antybiotyków, które mogą być stosowane w terapii zakażeń paciorkowcowych o różnej lokalizacji. Zaproponowany zestaw antybiotyków zawiera antybiotyki β -laktamowe, w tym penicylinę, ampicylinę, aktywne wobec tej grupy drobnoustrojów cefalosporyny III generacji oraz inne leki stosowane w terapii zakażeń o etiologii paciorkowcowej.

* Antybiogram, dla *S. pneumoniae* należy uzupełnić o oznaczeniem mechanizmu MLS_B metodą dyfuzyjno-krażkową zgodnie z zaleceniami KORLD (w przypadku oporności na erytromycynę i wrażliwości na klindamycynę oraz konieczności

zastosowania klindamycyny w terapii). W przypadku oznaczania lekowrażliwości *S. pneumoniae* izolowanych z zakażeń ośrodkowego układu nerwowego, może zachodzić potrzeba określenia wartości MIC (minimalne stężenie hamujące) meropenemu oraz rifampicyny z zastosowaniem pasków z gradientem antybiotyków. W przypadku oporności *S. pneumoniae* na lewofloksacynę można oznaczyć dodatkowo wrażliwość na moksifloksacynę, bowiem zdarzają się szczepy odporne na lewofloksacynę, z zachowaną wrażliwością na moksifloksacynę.

* Paciorkowce beta-hemolizujące są wrażliwe na penicylinę i ampicylinę. Wartości MIC penicyliny $>0,12$ mg/L lub ampicyliny $>0,25$ mg/L (wartość graniczna dla kategorii wrażliwy zgodnie z rekomendacjami CLSI 2015) dla izolatów *S. agalactiae* są spotykane niezwykle rzadko i w Polsce jak dotąd, izolaty o takim fenotypie wrażliwości nie były obserwowane.

* W przypadku oznaczania lekowrażliwości *Streptococcus* grupy *viridans* izolowanych z zakażeń inwazyjnych może zachodzić potrzeba określenia wartości MIC (minimalne stężenie hamujące) meropenemu z zastosowaniem paska z gradientem antybiotyku. W przypadku zapalenia wsierdza (*endocarditis*) należy oznaczać oporność wysokiego stopnia na aminoglikozydy zgodnie z zaleceniami EUCAST. Podobnie, jak dla *S. pneumoniae*, antybiogram należy uzupełnić o oznaczenie mechanizmu MLS_B metodą dyfuzyjno-krażkową zgodnie z zaleceniami KORLD.

- **Karta AST-P643 - do oznaczania lekowrażliwości *Enterococcus* spp. wyhodowanych ze wszystkich materiałów klinicznych**

Karta zawiera wszystkie antybiotyki, na które należy oznaczać lekowrażliwość izolatów z rodzaju *Enterococcus*, stosowane zarówno w lecznictwie otwartym, jak i zamkniętym, łącznie z oznaczeniem oporności wysokiego stopnia na aminoglikozydy: gentamycynę i streptomycynę. Włączenie do karty leków stosowanych w zakażeniach dróg moczowych (ampicylina, lewofloksacyna, nitrofurantoina, trimetoprim/sulfametoksazol) powoduje, że może być również używana do oznaczania lekowrażliwości *Staphylococcus* spp. i *Streptococcus agalactiae* izolowanych z zakażeń układu moczowego. Do interpretacji wyników wrażliwości na penicylinę benzylową *S. aureus* i *S. lugdunensis* należy stosować wartości graniczne EUCAST, natomiast dla pozostałych gatunków gronkowców zalecenia CLSI (zgodnie z CLSI 2015 wrażliwy $MIC \leq 0,12$ mg/L, odporny $MIC \geq 0,25$

mg/L). Do interpretacji oznaczania wrażliwości na tetracyklinę i inne leki z tej grupy należy zastosować komentarze z tabel z wartościami granicznymi EUCAST.

- **Karta AST-P644 - do oznaczania lekowrażliwości *Staphylococcus* spp. wyhodowanych ze wszystkich materiałów klinicznych**

Zestaw antybiotyków obejmuje leki stosowane w terapii zakażeń ambulatoryjnych i szpitalnych wywoływanych przez gronkowce. Zastosowany w karcie zakres stężeń oksacyliny pozwala na wykrycie oporności na metycylinę zarówno u *S. aureus*, jak i gronkowców koagulazo-ujemnych; dodatkowo zastosowano test przesiewowy z cefoksytiną (wynik ujemny lub dodatni). Karta umożliwia również wykrycie indukcyjnego mechanizmu oporności MLS_B. Do interpretacji oznaczania wrażliwości na tetracyklinę należy zastosować komentarze z tabel z wartościami granicznymi EUCAST dla tetracykliny i innych leków z tej grupy.

Komentarz dotyczący aminopenicylin dla Gram-ujemnych pałeczek fermentujących

Zgodnie z rekomendacjami EUCAST i „Stanowiskiem Zespołu ds. oznaczania lekowrażliwości zgodnie z zaleceniami EUCAST w sprawie wartości granicznych aminopenicylin i aminopenicylin z inhibitorami β-laktamaz dla pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*, 3 marca 2014 roku” szczepy bakterii należących do gatunków *Escherichia coli* i *Proteus mirabilis* izolowane z moczu są klasyfikowane jako:

- wrażliwe na ampicylinę i amoksycylinę, jeśli MIC ampicyliny ≤8 mg/L;
- odporne na ampicylinę i amoksycylinę, jeśli MIC ampicyliny >8 mg/L.

W karcie antybiogramowej AST-N330 do oznaczania lekowrażliwości pałeczek *Enterobacteriaceae* izolowanych z moczu została uwzględniona ampicylina w zakresie stężeń 2-32 mg/L. Lek ten nie został natomiast włączony do zestawu antybiotyków w karcie AST-N332 dla pałeczek jelitowych izolowanych z innych materiałów niż mocz. Brak ampicyliny w tej karcie wynika z faktu, że stosowanie aminopenicylin w leczeniu zakażeń wywoływanych przez pałeczki *Enterobacteriaceae* jest bardzo ograniczone i ma zastosowanie jedynie w terapii zakażeń dróg moczowych u wybranych grup pacjentów (źródło: „Kucers’ The Use of Antibiotics, 6th Edition”, 2010).

Brak rekomendacji do stosowania aminopenicylin w zakażeniach innych niż zakażenia dróg moczowych, a zwłaszcza w zakażeniach inwazyjnych

wywoływanych przez pałeczki *Enterobacteriaceae*, wynika między innymi z łatwości nabywania oporności na te leki i co za tym idzie, z wysokiego odsetka szczepów *E. coli* niewrażliwych na aminopenicyliny. Dane sieci EARS-Net w Polsce z roku 2013 wskazują, że 65% izolatów *E. coli* z posiewów krwi charakteryzuje się opornością na aminopenicyliny, z wartościami MIC ampicyliny ≥ 32 mg/L (dane KORLD). Należy również pamiętać, że zakażenia u pacjentów hospitalizowanych częściej są wywoływane przez pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* należące do gatunków wykazujących naturalną oporność na aminopenicyliny, takich jak: *Klebsiella* sp., *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*, *Providencia* sp., *Serratia marcescens* i *Yersinia enterocolitica*. Dla izolatów z tych gatunków nie należy oznaczać wrażliwości na ampicylinę/amoksycylinę, a jeśli oznaczano lekowrażliwość, to w raporcie z badania mikrobiologicznego dla ampicyliny/amoksycyliny należy podać wynik „oporny”.

Obecnie, zgodnie z rekomendacjami EUCAST i „Stanowiskiem Zespołu ds. oznaczania lekowrażliwości zgodnie z zaleceniami EUCAST w sprawie wartości granicznych aminopenicylin i aminopenicylin z inhibitorami β -laktamaz dla pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae*” z 3 marca 2014 roku, izolaty wszystkich gatunków pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* hodowane z zakażeń inwazyjnych są uznawane za:

- wrażliwe na ampicylinę i amoksycylinę, jeśli MIC ampicyliny $\leq 0,5$ mg/L;
- średniowrażliwe na ampicylinę i amoksycylinę, jeśli MIC ampicyliny $> 0,5$ mg/L i ≤ 8 mg/L;
- odporne na ampicylinę i amoksycylinę, jeśli MIC ampicyliny > 8 mg/L.

W innego typu zakażeniach stosowane są następujące wartości graniczne:

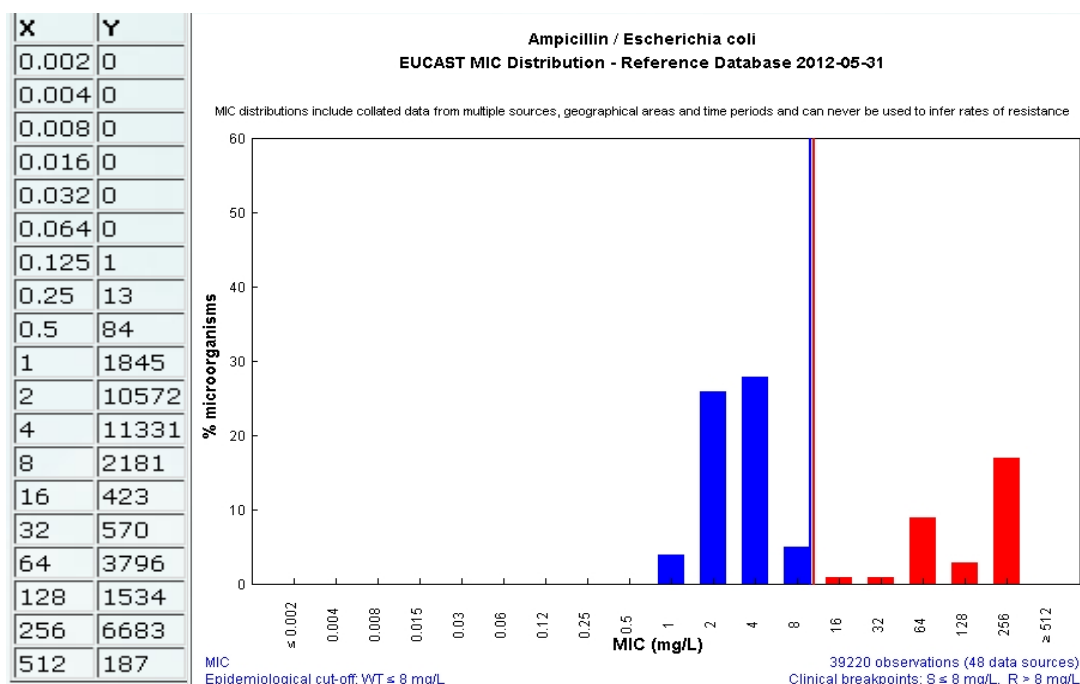
- wrażliwe na ampicylinę i amoksycylinę, jeśli MIC ampicyliny ≤ 8 mg/L;
- odporne na ampicylinę i amoksycylinę, jeśli MIC ampicyliny > 8 mg/L.

Analiza rozkładu wartości MIC ampicyliny dla szczepów dzikich, bez mechanizmów oporności wskazuje, że ogromna większość izolatów *E. coli* (84% szczepów w bazie EUCAST strona internetowa www.eucast.org) charakteryzuje się wartościami MIC w zakresie 2-4 mg/L, natomiast epidemiologiczna wartość graniczna ECOFF=8 mg/L. Wartość MIC $\leq 0,5$ mg/L jest stwierdzane dla 0,4% izolatów, a wartość MIC $\leq 1,0$ mg/L

jedynie dla 7,5% izolatów (Ryc. 1). Podobnie wygląda rozkład wartości MIC dla *E. coli* i amoksyliny (Ryc. 2).

W uzasadnionych, wyjątkowych przypadkach, gdy ważne jest oznaczenie MIC ampicyliny dla szczepów *E. coli* lub *P. mirabilis* wyhodowanych z materiałów innych niż mocz, możliwe jest oznaczenie wartości MIC antybiotyku dla badanego szczepu z zastosowaniem paska z gradientem stężeń ampicyliny lub zastosowanie karty przeznaczonej dla izolatów z zakażeń dróg moczowych, z zakresem stężeń ampicyliny 2-32 mg/L. Potrzeba oznaczenia MIC ampicyliny dla izolatów z rodziny *Enterobacteriaceae* była zgłaszana zwłaszcza przez laboratoria wykonujące posiewy krwi od noworodków. Należy jednakże pamiętać, że w przypadku podejrzenia sepsy u noworodków stosuje się leczenie skojarzone ampicyliną lub cefalosporyną III generacji (cefotaksym) z aminoglikozydem, gentamycyną lub amikacyną, gdzie ampicylina jest stosowana ze względu na aktywność wobec *S. agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *E. faecalis* i *P. mirabilis*, natomiast aminoglikozyd jest stosowany w celu objęcia terapią również pałeczek *E. coli*, *Klebsiella* sp. i *P. aeruginosa* (źródło: „Kucers’ The Use of Antibiotics, 6th Edition”, 2010).

Ryc. 1. Dystrybucja wartości MIC ampicyliny dla *Escherichia coli* (źródło www.eucast.org)



Ryc. 2. Dystrybucja wartości MIC amoksyliny dla *Escherichia coli* (źródło www.eucast.org)

