

EUCAST

Nýr staðall fyrir Evrópu

Fræðsludagur um næmispróf. Mánudagur 14. janúar 2013

EUCAST

European Committee on
Antomicrobial Susceptibility Testing

Næmispróf í Evrópu

Hver með sína uppskrift

- ▶ BSAC–Bretland
- ▶ CA–SFM – Frakkland
- ▶ CRG– Holland
- ▶ DIN– Þýskaland
- ▶ NWGA– Noregur
- ▶ SRGA– Svíþjóð
- ▶ CLSI – mörg önnur evrópulönd (Ísland)

Sýklalyfjaskammtar í Evrópu

- ▶ Benzylpenicillin: Venjulegur skammtur á Bretlandi 600mg x4 og hár skammtur 1,8g x 6 en í Frakklandi 1g x4 og hár skammtur 3g x 6
- ▶ Cefotaxime: Venjulegur skammtur í Bretlandi 2g x 3 en hár skammtur 3g x4 en í Svíþjóð 1g x3 en hár skammtur 2g x3.

EUCAST– Saga

- ▶ Stofnað 1997, endurskipulagt 2001 og hefur starfað í núverandi mynd frá 2002
- ▶ European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), National Breakpoint Committes in Europe
- ▶ Fjármögnun: ESCMID, European Union, European Centre for Disease Prevention & Control (ECDC)
- ▶ EUCAST og undireiningum þess bannað að taka við styrkjum frá lyfjafyrirtækjum.

EUCAST Tilgangur

- ▶ – mynda net sérfræðinga frá ESCMID, National brekapoint committee og frá lyfjaiðnaði
- ▶ – koma á samevrópskum viðmiðunum næmisprófa
- ▶ – samræma og staðla aðferðafræði næmisprófa hinna mismunandi ríkja innan Evrópu
- ▶ – hvetja til innra og ytra gæðaeftirlits hvers ríkis innan EU og alþjóðlega
- ▶ – stuðla að samvinnu hópa innan Evrópu og alþjóðlega í gerð næmisprófa og í faraldsfræði ónæmra sýkla
- ▶ – setja fram viðmið næmisprófa fyrir ný sýklalyf
- ▶ – vera ráðgefandi fyrir hinar ýmsu stofnanir evrópu um tæknilega hlið næmisprófa og túlkana
- ▶ – vinna með öðrum hópum, eins og CSLI, til að stuðla að alþjóðlegu samræmi næmisprófa
- ▶ – stuðla að menntun og þjálfun

EUCAST Uppbygging

- ▶ ***EUCAST Steering Committee:*** – Formaður, ritari og Clinical data coordinator (valinn af ESCMID)
- ▶ Fulltrúar frá European national brekapoint committees (núna 6)
- ▶ Tveir fulltrúar frá EUCAST General Committee
- ▶ Hittast 5x á ári
- ▶ Framleiðendur greininga-tækja og fulltrúum lyfjaiðnaðar boðið samstarf með EUCAST
- ▶ ***EUCAST General Committee:*** Formaður, ritari og Clinical data coordinator (valin af ESCMID)
- ▶ Einn fulltrúi frá hverju evrópulandanna, Karl G. Kristinsson
- ▶ Einn fulltrúi frá ISC (International Society for Chemotherapy) og einn frá FESCI (Federation of European Societies og Chemotherapy and Infection)
- ▶ Hittast á ESCMID fundum
- ▶ Allar tillögur frá Steering Committee bornar fyrir fundinn til umræðu áður en ákvarðanir eru teknar

EUCAST

- ▶ Formaður: Rafael Canton
- ▶ Ritari: Derek Brown
- ▶ Clinical data coordinator: Gunnar Kahlmeter

EUCAST– undireiningar

- ▶ EUCAST Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (EUCAST AFST)
- ▶ EUCAST Subcommittee on Expert Rules
- ▶ EUCAST Subcommittee on Anaerobes

EUCAST breakpoints tables

- ▶ Enterobacteriaceae, Pseudomonas spp., Acinetobacter spp., Staphylococcus spp., Enterococcus spp., Group A, B, C, G streptococci, Streptococcus pneumoniae, “other” streptococci, Haemophilus spp., Moraxella catarrhalis, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Campylobacter, L. monocytogenes, H. pylori, P. multocida Gram-positive anaerobes og Gram-negative anaerobes
- ▶ Candida og Aspergillus

www.eucast.org

- ▶ Hluti ESCMID vefsíðu sem gefur yfirlit yfir EUCAST útgáfu.
- ▶ Öll gögn EUCAST heimasíðu eru opin og aðgengileg öllum.
- ▶ Aðgangur ókeypis!

▶ eucast.org

Greining á ESBL og Carbapenemösum

Fræðsludagur um næmispróf 14. janúar 2013

Þvag frá læknavaktinni, niðurstöður í morgun

▶ Ástæða sýnatöku: Cystitis acuta

▶

▶ Þvagræktun

▶ Talning | > 30 < 40 | þúsund/ml |

▶ Þvag – Almenn ræktun | 1: Escherichia coli

▶ | **Stofninn myndar breiðvirkan beta-laktamasa (ESBL)**

▶ |

▶ Næmispróf

▶ Næmispróf | 1

▶ | nitrofurantoin S

▶ | ampicillin R

▶ | mecillinam S

▶ | amoxicillin/clavulanic acid S

▶ | Piperacillin/tazobactam S

▶ | cefalexin S

▶ | cefuroxime um munn R

▶ | ceftriaxone S

▶ | ertapenem S

▶ | gentamicin S

▶ | trimethoprim R

▶ | trimethoprim/sulfamethoxazole R

▶ | ciprofloxacin R

▶ | Samkvæmt næmisprófi er stofninn næmur fyrir mecillinam, en árangur meðferðar hjá ESBL myndandi

▶ | bakteríum er óviss.

Beta-laktamasa próf

- Beta-laktamasa próf segir til um hvort mjóvirk beta-laktam lyf eins og penisillín og ampisillín eru nothæf til að meðhöndla nokkrar tegundir baktería.
- Beta-laktamasa próf á EKKI að nota til að greina ESBL, Amp-C eða karbapenemasa.
- Þær bakteríur þar sem betalaktamasa próf er hjálplegt eru:
 - Haemophilus influenzae
 - Moraxella catharralis
 - Neisseria gonorrhoeae
 - Staphylococcus spp.

AmpC betalactamasar

- ▶ Gen þessara betalactamasa eru venjulega á litningi baktería en geta verið á plasmíðum
- ▶ Stuðla að ónæmi gegn öllum betalactam lyfjum utan karbapenem lyfja (undantekning ef bakterían hefur einnig tapað porin göngum)
- ▶ Clavulanic sýra hemur ekki þessi ensím
- ▶ Kloxacillin hemur þessi ensím

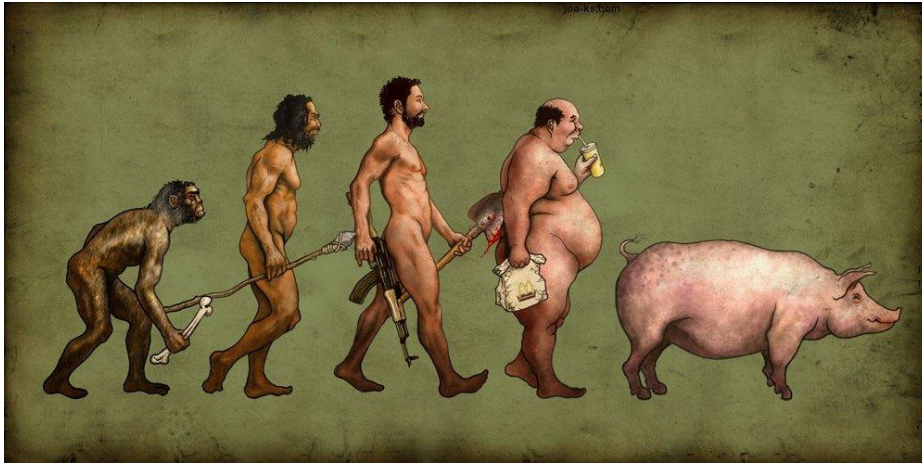
ESBL – Extended spectrum betalactamases

- ▶ Gen venjulega skráð fyrir á plasmíðum
- ▶ Skrá fyrir ónæmi flestra betalactam lyfja utan karbapenem lyfja
- ▶ Plasmíðin geta einnig borið ónæmi fyrir öðrum sýklalyfjum
- ▶ Betalactamasa hindrar eins og clavulanic sýra hindra virkni ESBL
- ▶ Algengastir í *K. pneumoniae* og *E. coli*

Karbapenemasar

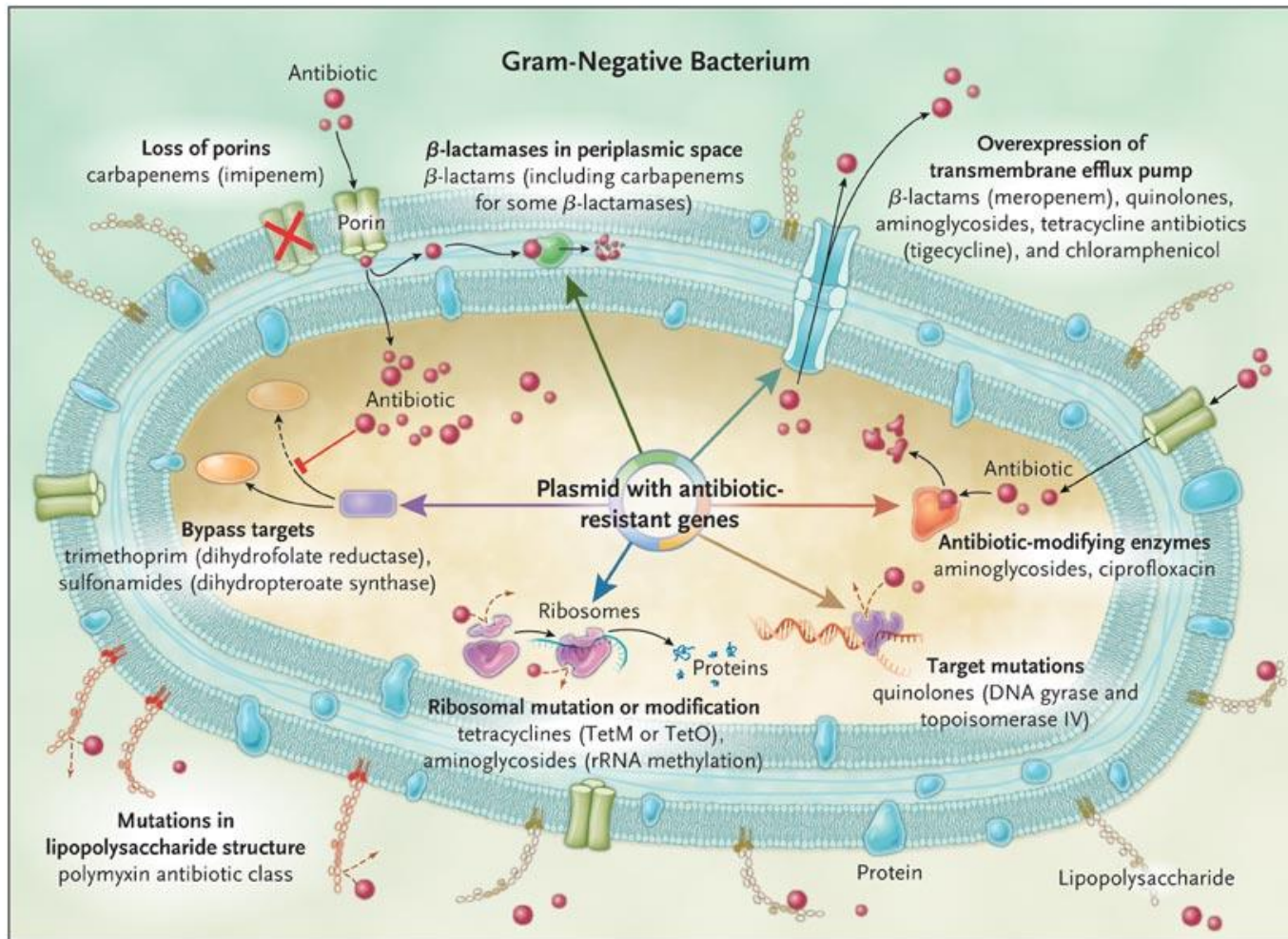
- ▶ Gen þessara ensíma á plasmíðum
- ▶ Ónæmi fyrir öllum betalactam lyfjum
- ▶ Oft ónæmi fyrir öðrum sýklalyfjum
- ▶ Algengast í *K. pneumoniae*, *E. coli*

Hin óljósa þróun okkar og hinna



- ▶ Kynslóðatími baktería 15 mín en okkar 25 ár.
- ▶ Menn verið á jörðinni í 2,5 milljón ár.
- ▶ Bakteríur verið á jörðinni í 3,6 billjón ár eða 3600 milljón ár.

Ónæmi gram neikvæðra baktería



Hvernig verða bakteríur ónæmar fyrir breiðvirkum cephalosporin lyfjum?

- ▶ 1. Tapa porin göngum
- ▶ 2. Offramleiðsla á cephalosporinösum
- ▶ 3. ESBL á plasmíðum

Amber class A:

- ▶ SHV
- ▶ TEM
- ▶ CTX-M

Class D:

OXA

Class C (AmpC):

ACC
ACT
CMV
DHA
FOX
MTR
MOX

Skimun fyrir ESBL

▶ Notast við Cefpodoxime skífu 10µg

▶ Vísbending um ESBL:

Ath.

▶ *Klebsiella* og *E. coli* ≤17mm staðfestingarpróf

▶ *Proteus* ≤22mm staðfestingarpróf

ESBL staðfestingarpróf

- ▶ Ceftazidime 30µg
- Ceftazidime–klavulan sýra 30/10µg
- Cefotaxime 30µg
- Cefotaxime–klavulan sýra 30/10µg
- Cefoxitin 30µg

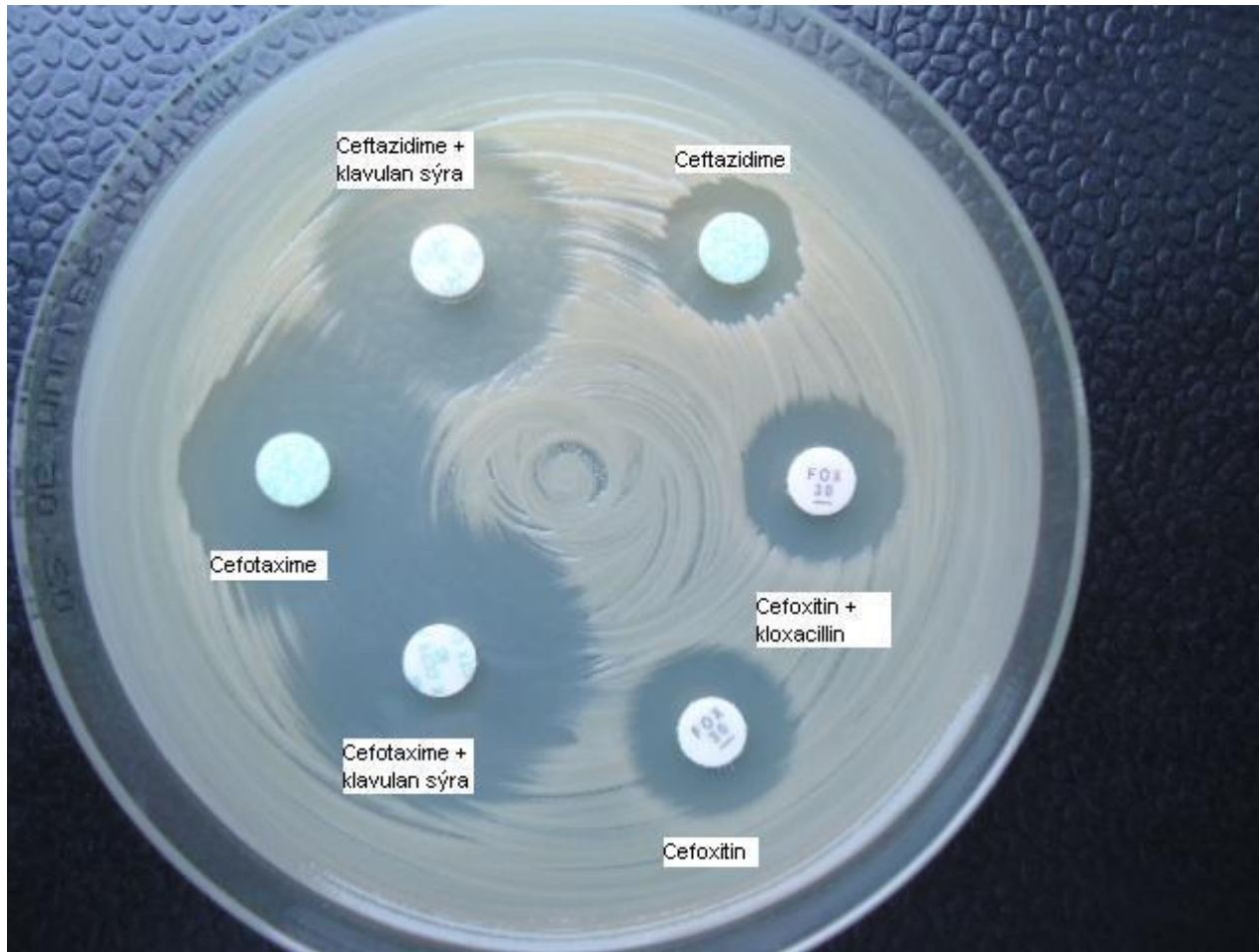
ESBL staðfestingarpróf

- ▶ Ef sóna er $>5\text{mm}$ stærri hjá öðru hvoru sýklalyfjanna með klavulan sýru en sóna sýklalyfsins án hennar er stofninn ESBL myndandi.

Dæmi: Ceftazidime sóna = 16mm; cefatzidime-klavulan sýra = 21mm

- ▶ Skráð er jákvætt og þá svarast "Stofninn myndar breiðvirkan beta-laktamasa (ESBL)".
- ▶ Svarað er næmum út óbreytt skv. niðurstöðum á næmiprófi. Sýkingavarnardeild fær sendar niðurstöður staðfesta ESBL myndandi baktería

ESBL staðfestingarpróf



ESBL myndnandi
Klebsiella

Hvernig verða bakteríur ónæmar fyrir carbapenem lyfjum?

- ▶ 1. Cephalosporinasar: AmpC og ESBL ásamt porin breytingum
- ▶ 2. Porin breytingar og efflux mekanismi (*P. aeruginosa*)
- ▶ 3. Myndun Carbapenemasa

Amber class A:

KPC, SME, NMC-A, IMI,
PER, GES, SFO, SFC, IBC

Amber class B:

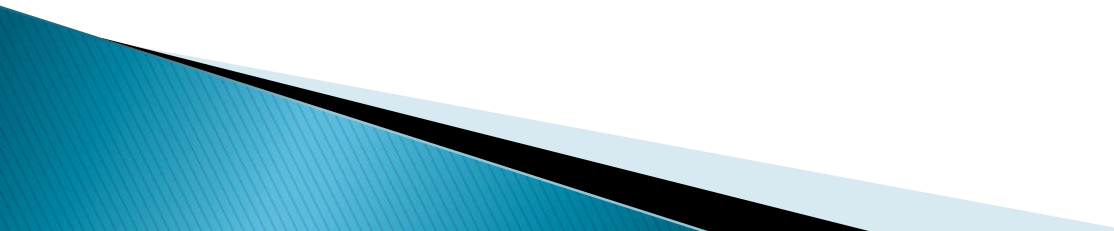
VIM, GIM, SIM,
NDM, IMP, SPM

Amber class D:

OXA og PSE

Carbapenemasar– Flokkun

- ▶ Ambler class A
 - ▶ Ambler class B
 - ▶ Ambler class D

 - ▶ Allir carbapenemasar gera penicillin, cefalósporín og carbapenem lyf óvirk.
 - ▶ Flestir carbapenemasar eru á plasmíðum
 - ▶ Verið lýst í *Enterobacteriaceae*, *P. Aeruginosa* og *Acinetobacter baumannii*.
- 

Carbapenemasar– Flokkun

Mólekúl klassi	A	B	D
Virki staðurinn	Serine	Zn ⁺⁺	Serine
Aztreonam hydrolysis	+	-	-
EDTA hemill	-	+	-
Dipicolinic sýra	-	+	-
APBA* hemill	+	-	-

*APBA = Aminophenylboronicacid

Ambler class A

- á krómasómi (NMC-A, Sme, IMI-1, SFC-1)
- á plasmíði (KPC, IMI-2, GES)
- brjóta niður carbapenem lyf
- klavulanic sýra getur hindrað þessi ensím að hluta til
- KPC þeirra algengastur, fyrst lýst í USA 1996 nú dreyft um jarðarkringluna

Ambler class A– KPC

- ▶ USA, Puerto Rico, Kólombía, Grikkland, Ísrael, Kína og smá faraldrar í Evrópu og suður Am.
- ▶ *K. pneumoniae* fyrst of fremst, miklu sjaldnar í öðrum enterobacteriaciae (*E. coli* í Ísrael)
- ▶ Einstakur klónn náð mikilli dreyfingur ST-258
- ▶ Samfélags–KPC sjaldgæfur
- ▶ Ónæmi þeirra fyrir carbapenem lyfjum mismikið en þó jafnan mikið ónæmir fyrir Ertapenem
- ▶ Fjölónæmir sérstaklega öll beta–lactam lyf

Ambler class A– KPC

- ▶ Ónæmi þeirra fyrir carbapenem lyfjum misjafnt en mikið fyrir Ertapenem
- ▶ Fjölónæmir sérstaklega öll beta-lactam lyf
- ▶ Dánartíðni sýkinga um og yfir 50%

Ambler class B– metallo betalactamasar–MBL

- ▶ Helst, Verona integron–encoded MBL (VIM) og IMP auk þess nýja New Delhi metallo–betalactamase–1 (NDM–1)
- ▶ Fyrsti áunni MBL, IMP–1, var lýst í Japan 1991 í *S. marcescens* síðan verið lýst um allan heim
- ▶ VIM og IMP landlægir í Grikklandi, Taiwan og Japan

Ambler class B metallo- betalactamasar– MBL

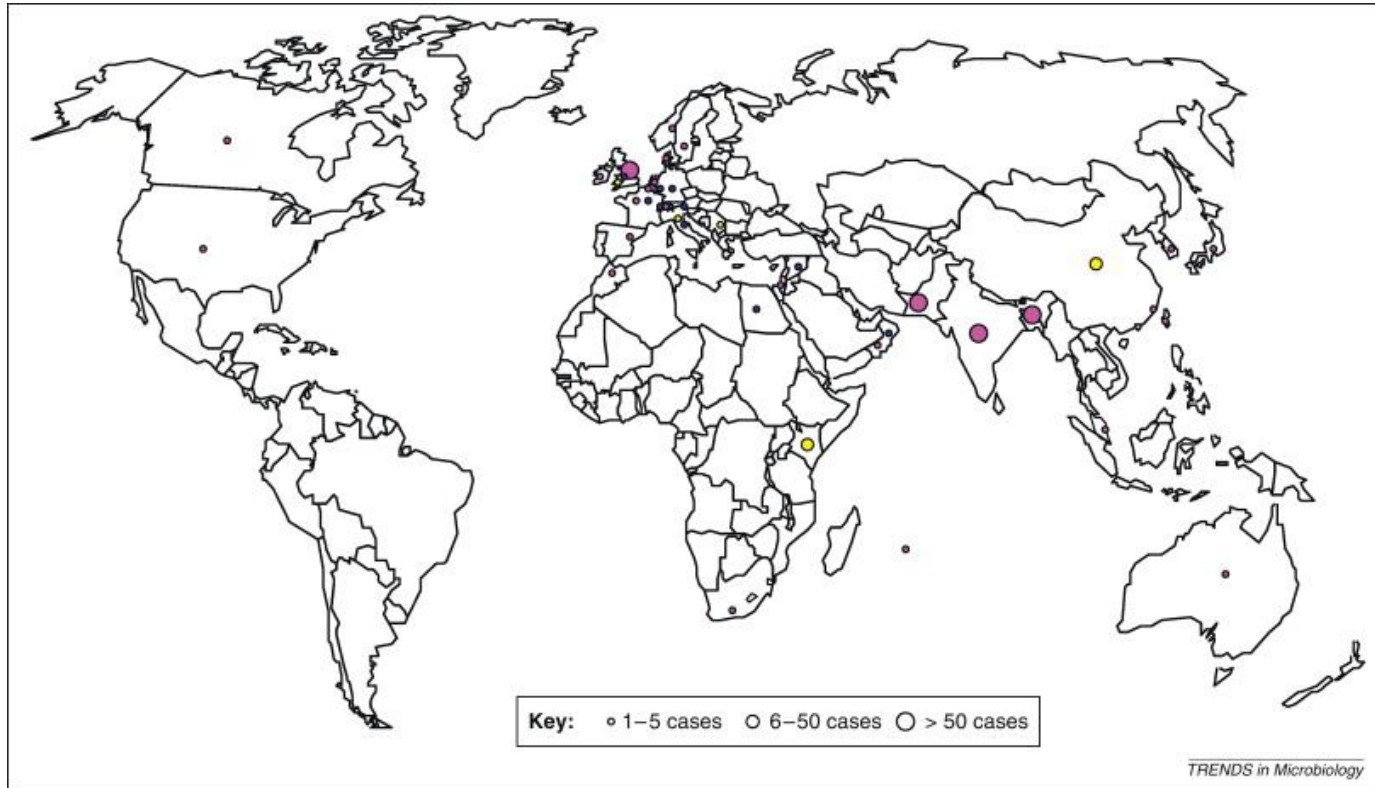
- ▶ Þessi ensím hydrolýsera öll betalactam lyf nema aztreonam
- ▶ EDTA hindrar virkni MBL en það gerir ekki klavulanic sýru
- ▶ Flestir MBL framleiðendur eru fjölónæmar *K. Pneumoniae* og spítalasýkingar
- ▶ Ónæmi fyrir carbapenem lyfjum er mismikið
- ▶ Dánartíðni sýkinga 18–67%

Ambler class B-MBL

NDM-1

- ▶ NDM-1 lýst fyrst 2008 í Svíþjóð frá indverskum manni sem hafði legið á sjúkrahúsi í New Delhi á Indlandi
- ▶ Verið lýst í öllum heimsálfum nema Mið- og Suður Ameríku. Bein tengsl við Indland allstaðar
- ▶ Er lýst fyrst og fremst í *K. pneumoniae* og *E. coli* og örsjaldan í öðrum enterobacteriaciae

Ambler class B-MBL NDM-1



Ambler class B-MBL NDM-1

- ▶ Ónæmi fyrir carbapenem lyfjum mismikið
- ▶ Plasmíð sem bera *bla*_{NDM-1} genið hafa oft mikið af öðrum ónæmisgenum (stundum OXA-48, VIM, ESBL, 16S RNA methylase, esterase, rifampin og sulfamethoxazole) og þannig fjölónæmir eða alveg ónæmir fyrir sýklalyfjum

Ambler class B-MBL NDM-1

- ▶ Nokkrir þætti sem skera þennann óþægilega frá hinum carbapenemösunum
- ▶ 1. *bla*_{NDM-1} genið hefur ekki bara fundist í enterobacteriaciae heldur einnig í *Acinetobacter* spp.
- ▶ 2. Ekki bara í *K. Pneumoniae* sem er venjulega tengt sjúkrahúsum heldur einnig í *E. coli* sem er algengur út í samfélaginu
- ▶ 3. *E. coli* er algengasta orsök niðurgangs á Indlandi og Pakistan þar sem 1,3 billjónir manna búa og dreifist því auðveldlega út í náttúruna (vatnsból osfrv.)

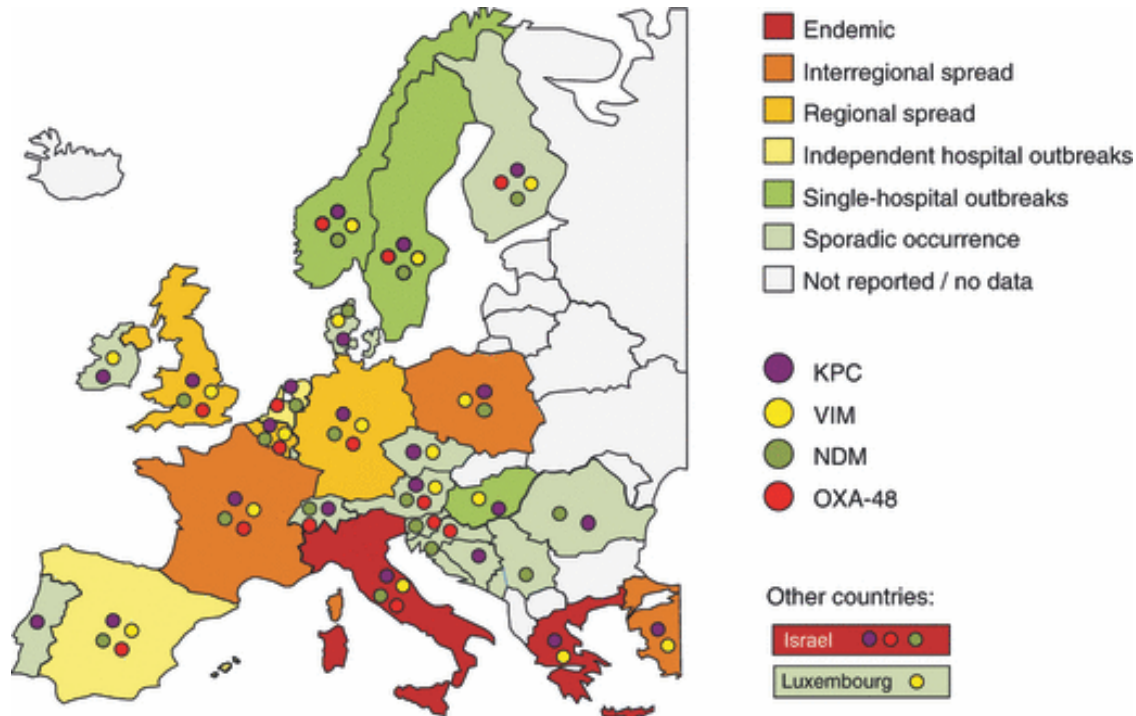
Amber class D (OXA-48)

- ▶ Fyrst lýst í *K. pneumoniae* 2003 í Tyrklandi
- ▶ Síðan dreifst um miðjarðarhaf, Evrópu og Afríku
- ▶ Nokkrir klónar og berst með plasmíði
- ▶ Virkni þeirra ekki haminn með EDTA, clavulanic sýru, boronic sýru né dipicolinic sýru
- ▶ Sá carbapenemasi sem erfiðast er að greina

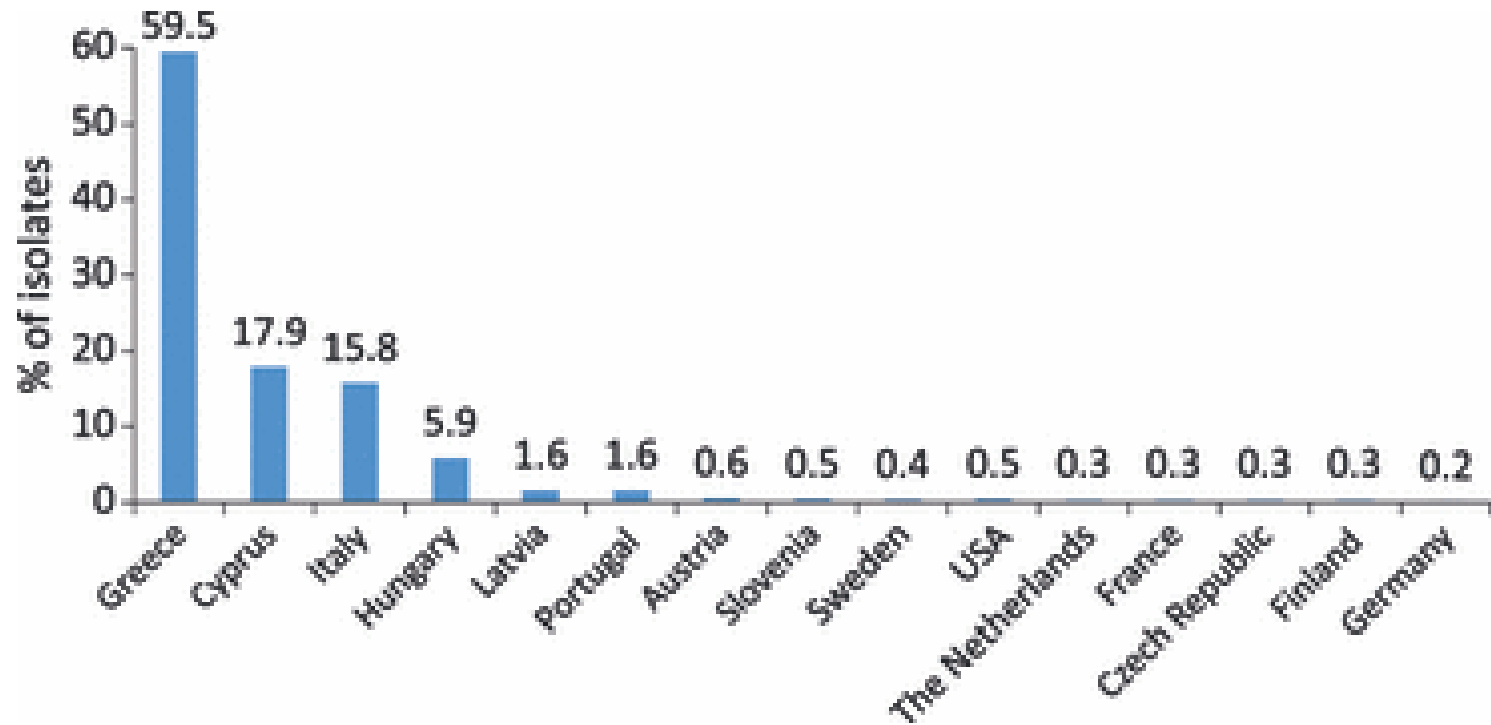
Áhættuþættir fyrir beraástand carbapenemasa

- ▶ Áverkar
- ▶ Sykursýki
- ▶ Krabbamein
- ▶ Líffæraflutningur
- ▶ Öndunarvél
- ▶ Þvag- og æðaleggir
- ▶ Ferðalög og læknismeðferð á Indlandi og Pakistan

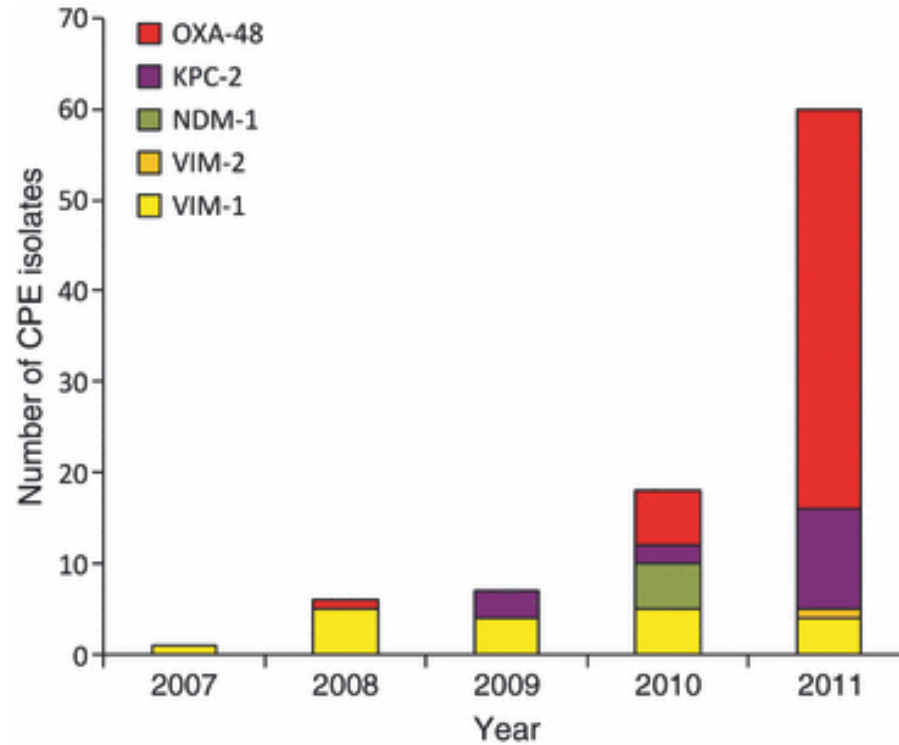
Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe



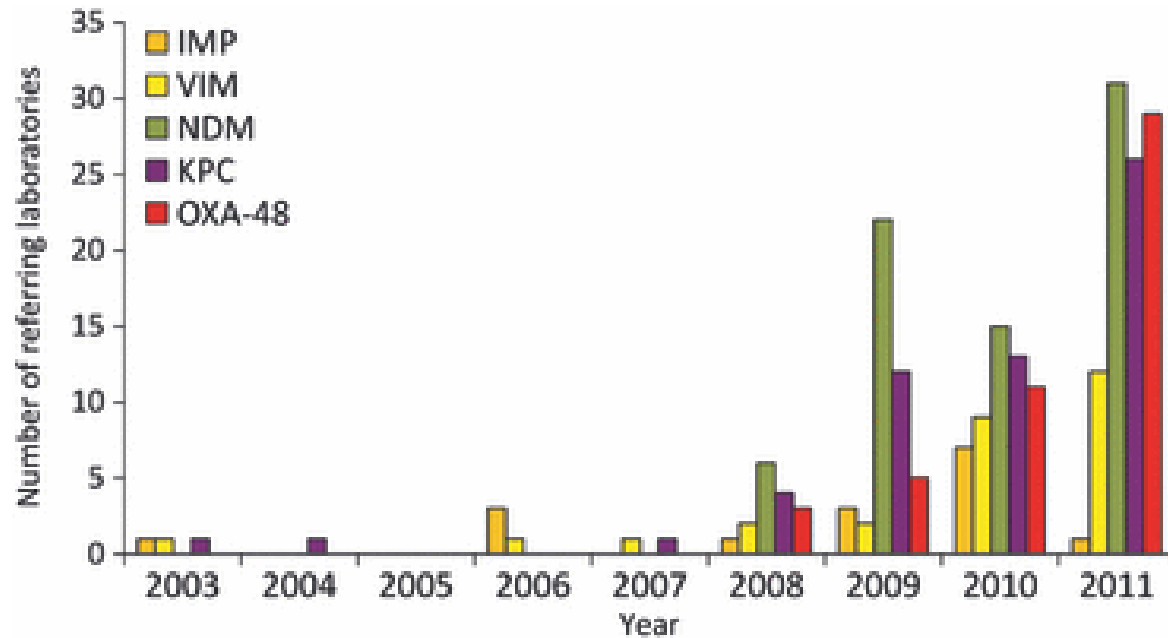
Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe



Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe



Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe



Hvernig greinum við bakteríu sem myndar carbapenemasa?

- ▶ Skimun með Ertapenem $< 22\text{mm}$ eða MIC $> 1\ \mu\text{g/mL}$
- ▶ Þaðan farið í staðfestingarpróf

Hvernig greinum við bakteríu sem myndar carbapenemasa?

- ▶ Rosco Töflupróf
- ▶ Modified Hodge Test (MHT)

Rosco Töflupróf til greininga á Carbapenemösum

- ▶ 4 skífur
- ▶ Meropenem 10 μ g (MRP10)
- ▶ Meropenem 10 μ g + Boronic acid (KPC og AmpC hemill) (MR+BO)
- ▶ Meropenem 10 μ g + Dipicolinic acid (Metallo-betalactamasa hemill) (MR+DP)
- ▶ Meropenem 10 μ g + cloxacillin (AmpC hemill) (MR+CX)

Rosco Töflupróf

		Meropenem + boronic acid	Meropenem + Dipicolinic acid	Meropenem + cloxacillin
AmpC + porin tap	Meropenem 10µg MRP10	≥5mm	<5mm	≥5mm
KPC	Meropenem 10µg MRP10	≥5mm	<5mm	<5mm
MBL	Meropenem 10µg MRP10	<5mm	≥5mm	<5mm



1. Mæld er sönustærð í kringum Meropenem skífu MRP10 og borin saman við sönustærð í kringum hinar skífunar.
2. Ef munur sönustærða MRP10 og hinna sönanna er $\leq 3\text{mm}$ er svarað að bakterían myndi carbapenemasa.
3. Annars er svarað sbr. Töflu hér að ofan.

ROSCO Töflupróf

K. pneumoniae



Niðurstaða: Metallo betalactamasi +

ROSCO Töflupróf



- ▶ Kostir: Getur greint marga flokka carbapenemasa, greinir frá aðra ónæmimekaniskma, getur greint NDM og er auðvelt aflestrar.
- ▶ Má nota á allar enterobacteriaciae.
- ▶ Gallar: Greinir ekki OXA flokkinn.
- ▶ Ef saga um ferðalag til Tyrklands og carbapenem ónæmi og ef ROSCO gefur ekki svar má gera MHT.

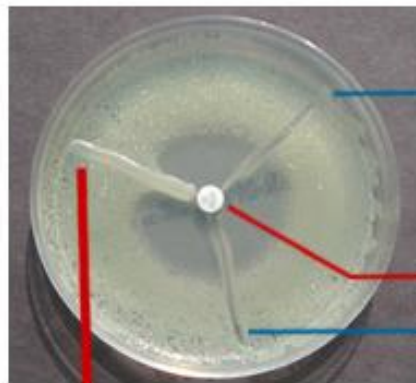
Niðurstaða: MBL

Kostir og gallar

Modified Hodge Test (MHT)

- ▶ Kostir: getur greint marga carbapenemasa flokka. Má nota á alla enterobacteriaciae

- ▶ Gallar: Falsk jákvæð niðurstaða (Chromosomal AmpC, Porin og ESBL). Falsk neikvæð niðurstaða, getur ekki greint NDM. Oft erfitt aflestrar.



→ *K. pneumoniae*
Negative Control
MicroBioLogics® # 01006
ATCC® BAA-1706™*

→ Meropenem Disk

→ Negative Test Isolate

↓
K. pneumoniae
Positive Control
MicroBioLogics® # 01005 ATCC® BAA-1705™*

MHT Using MicroBioLogics Quality Control Microorganisms

Flæðiskema greiningar á Carbapenemösum

Ertapenem
ónæmi

Gera Rosco Töflupróf

Synergi með
boronic acid

KPC (mikið sjaldnar
aðrir Class A
carbapenemasar)

Synergi með
boronic acid og
cloxacillin

AmpC + Porin tap

Synergi með
dipicolinic acid

Metallobetalactamasar

Ekki synergy

ESBL og Porin tap
Eða OXA-48

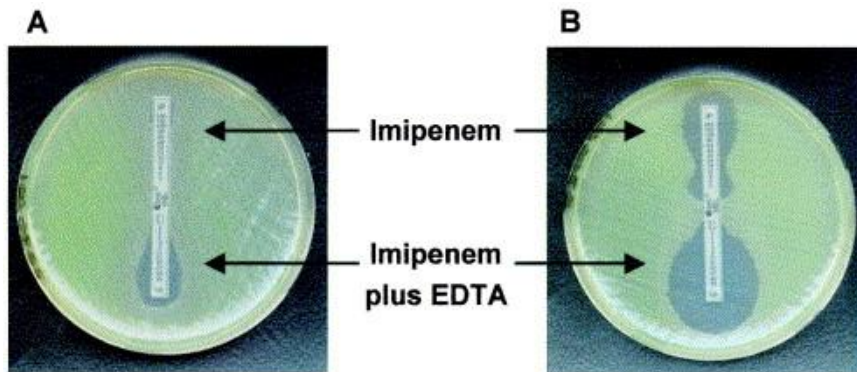
Ef ferðasaga (Tyrkland)
Gera MHT

Nokkur orð um *P. aeruginosa*

- ▶ Frá nátturunnar hendi ónæm fyrir mörgum sýklalyfjum
- ▶ Hleypir sýklalyfjum illa í gegnum frumuhimnuna
- ▶ Hefur mikið af sýklalyfjapumpum (efflux pumpur) sem dæla þeim út
- ▶ Myndar ýmsa betalaktamasa
- ▶ Ef ónæmur fyrir karbapenem lyfjum og ónæmi fyrir ceftazidime og pipericillin gera Imipenem / Imipenem+EDTA E-test

Nokkur orð um *P. aeruginosa*

- ▶ Imipenem – Imipenem EDTA E–test ráðlagt í leit að MBL
- ▶ ROSCO Töflupróf oft falskt neikvætt hér



A. Neikvætt test

B. Jákvætt test:

$IP/IPI > 8$

eða

IP gildi er 3 helmingabyrningum hærra en IPI gildi

(ekki á leiðbeiningum með IP/IPI strimilinum: eða

draugasóna eða aflögun IP eða IPI sóna burtséð frá hlutfalli)