

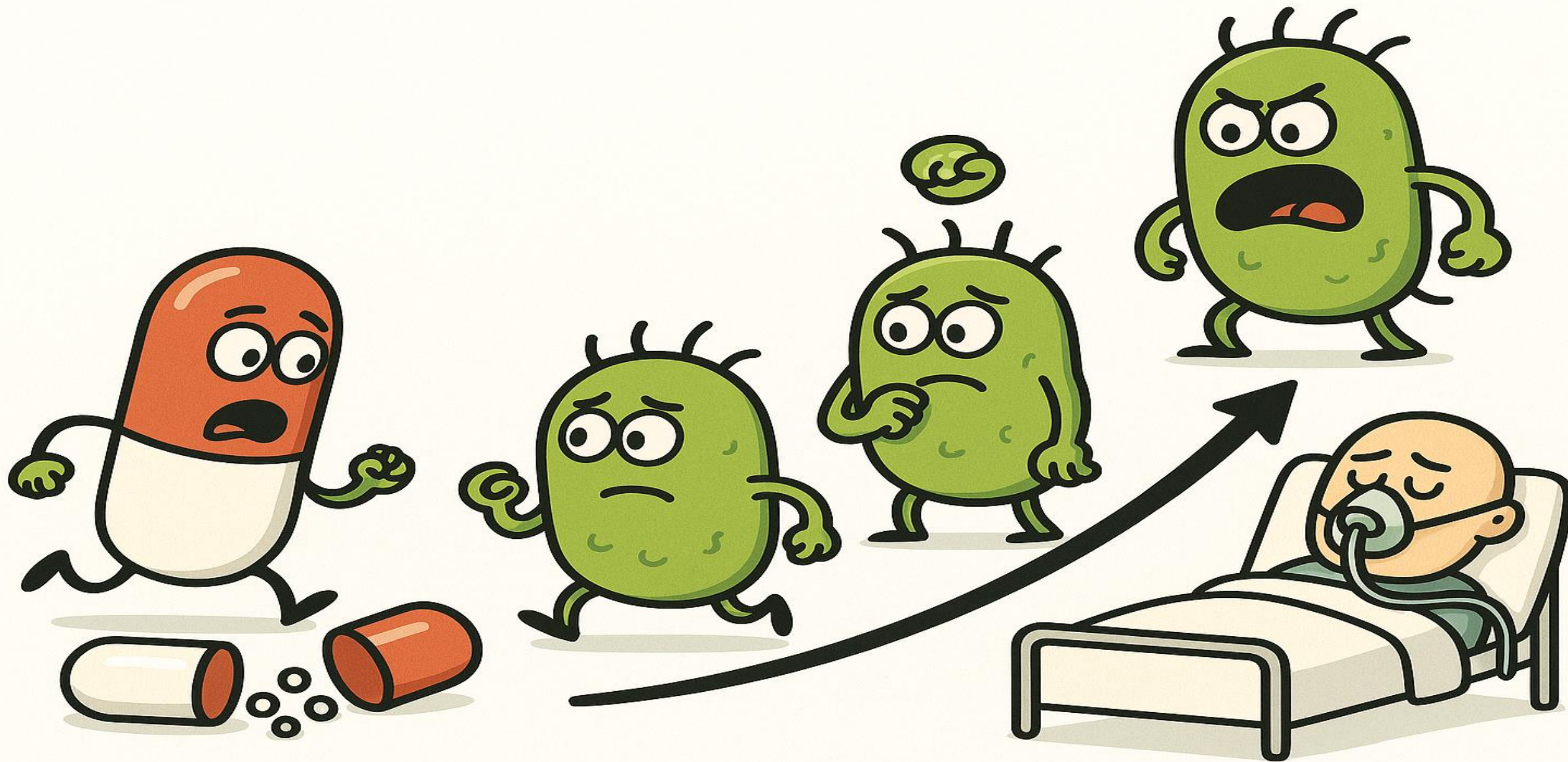


Nosicielstwo szczepów CPE – punkt widzenia mikrobiologa oraz możliwości diagnostyki

Prof. dr hab. Tomasz Gosiewski

małopolski konsultant wojewódzki w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej







Antybiotyki beta-laktamowe

- najstarsza grupa antybiotyków
- wspólną cechą jest pierścień beta-laktamowy, który pozwala na działanie antybiotykowe tej grupy (inhibitory transpeptydaz, czyli białek wiążących penicyliny-PBP *penicillin binding proteins*) – białka w błonie cytoplazmatycznej

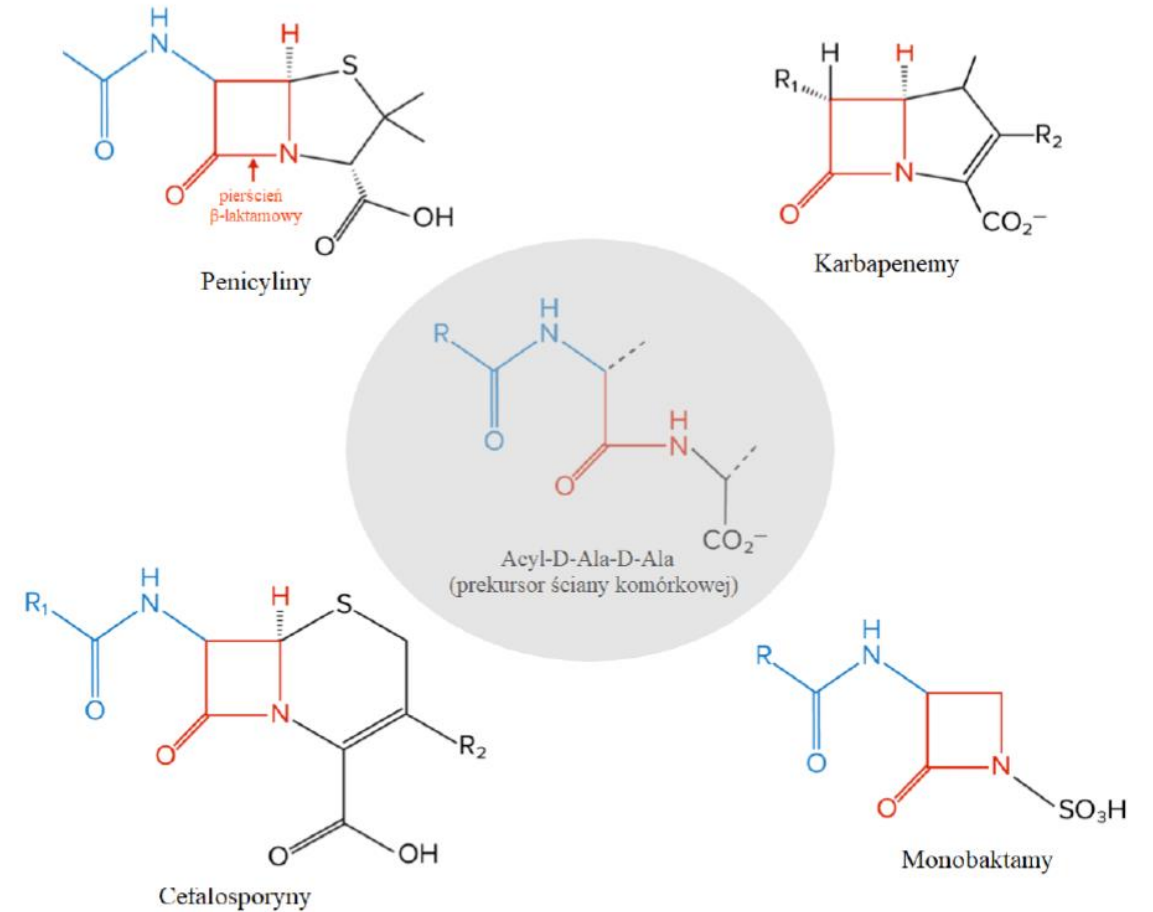
• Penicyliny

- Naturalne
- Półsyntetyczne

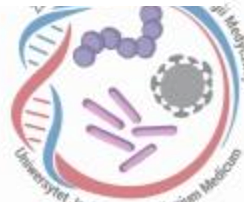
• Cefalosporyny

• Karbapenemy

• Monobaktamy - aztreonam



Janiszewska D, et al. *Wiadomości chemiczne*, 2022



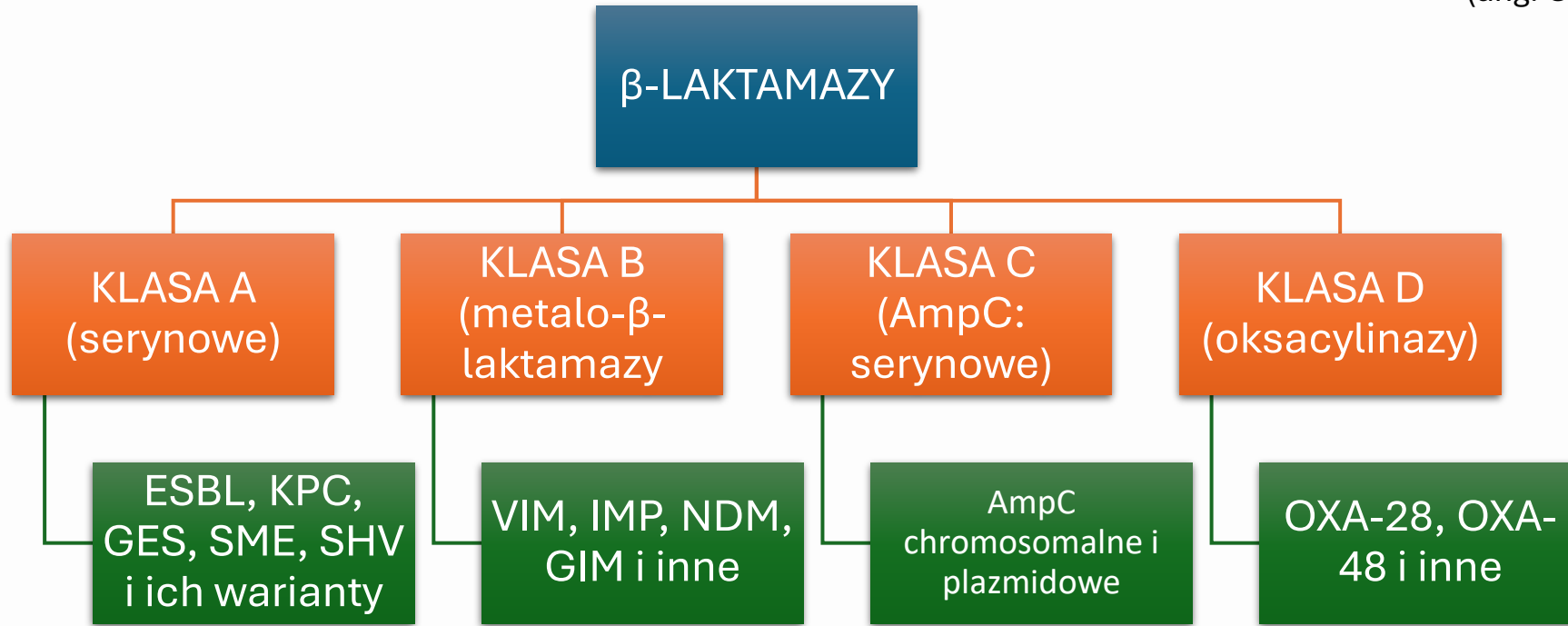


Czym są CPE?



KLASYFIKACJA AMBLERA BETA-LAKTAMAZ

Enterobacterales wytwarzających karbapenemazy
(ang. *Carbapenemase-Producing Enterobacterales*)

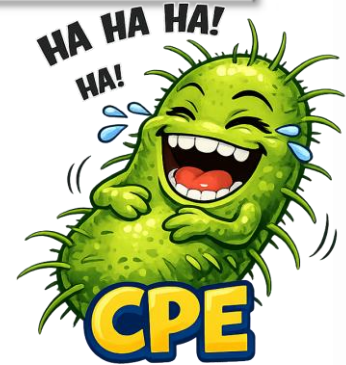
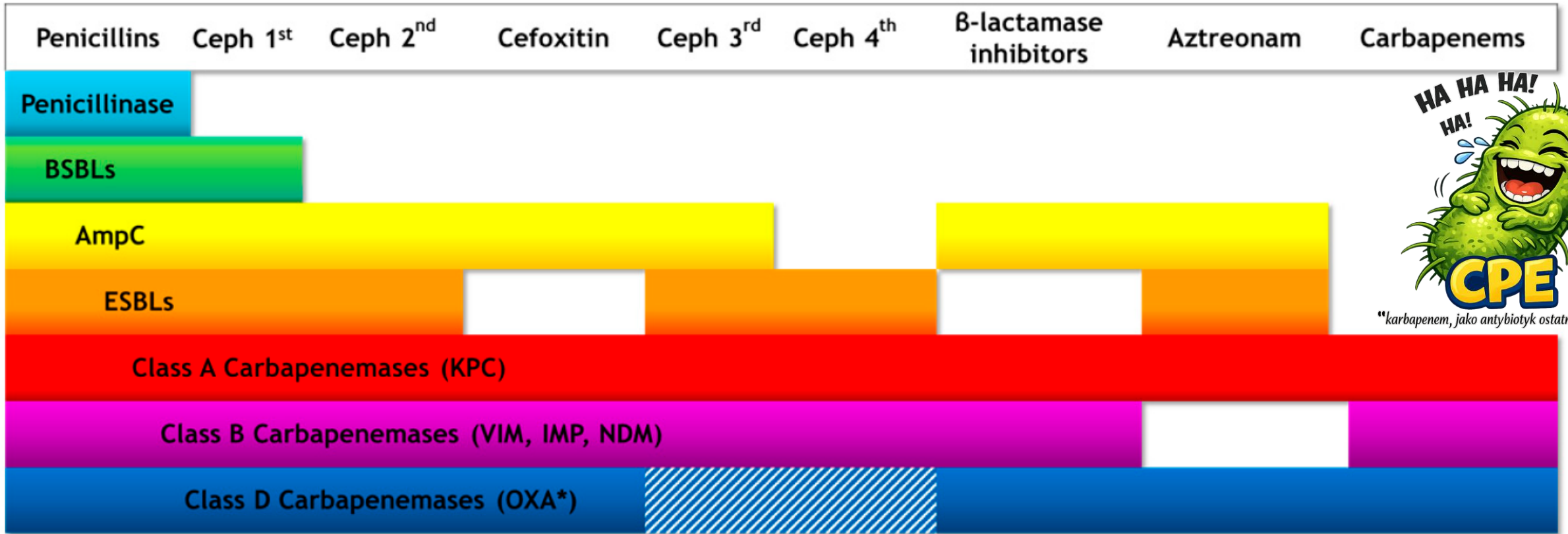


A, C, D – serynowe β-laktamazy
B – metalo β-laktamazy (zależne od jonów cynku)





Czym są CPE?



"karbapenem, jako antybiotyk ostatniej szansy"



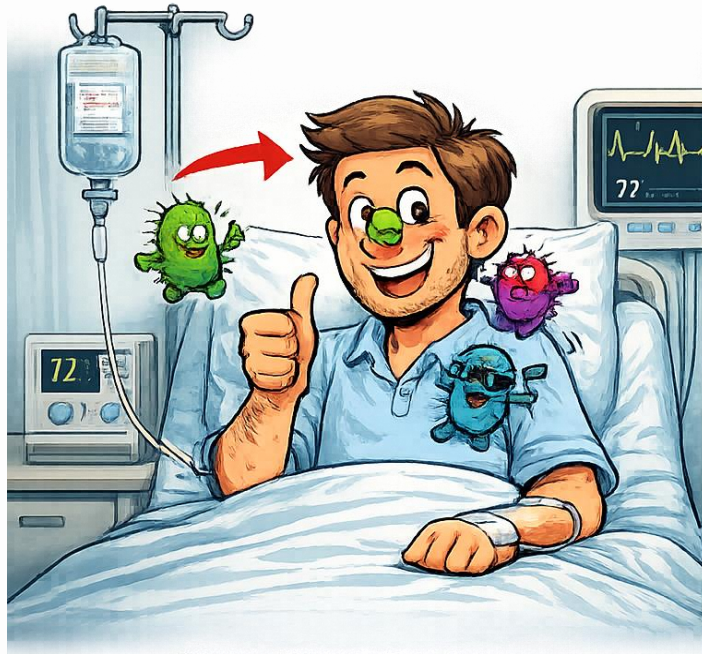
Kakoullis L, et al. Antibiotics, 2021





NOSICIELSTWO CPE

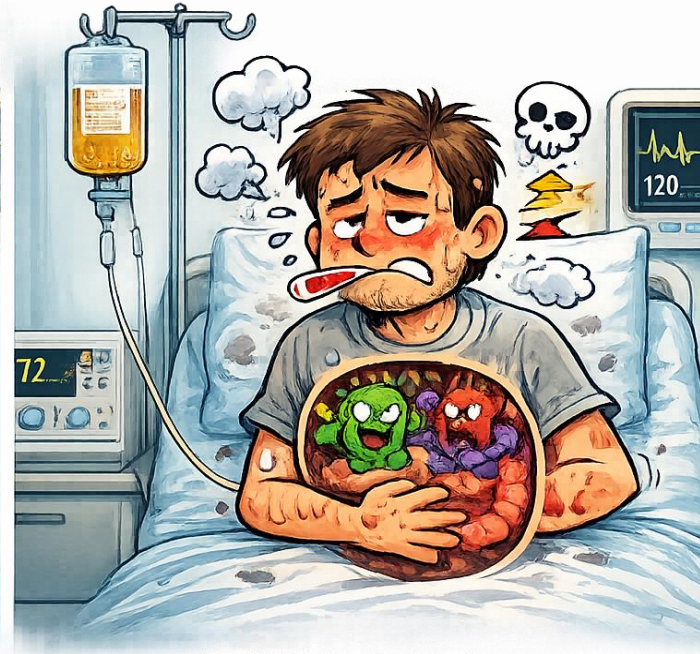
pacjent jest skolonizowany w przewodzie pokarmowym, nie wykazuje objawów zakażenia lecz może zakażać innych pacjentów



Nosicielstwo

ZAKAŻENIE PRZEZ CPE

pacjent wykazuje objawy zakażenia, np. zapalenie płuc, zapalenie centralnego układu nerwowego, sepsa



Zakażenie



Definicja przypadku CPE

Wyizolowanie pałeczki jelitowej z materiału klinicznego w badaniu diagnostycznym (zakażenie) lub w badaniu przesiewowym (kolonizacja/nosicielstwo), która charakteryzuje się jednym z następujących:

- dodatnim testem np. Carba NP., test CIM
- dodatnim fenotypowym testem przesiewowym (metoda dyfuzyjno-krążkowa),
- dodatnim wynikiem testu kasetkowego
- dodatnim wynikiem w badaniu genetycznym w kierunku karbapenemaz.
- Definicja przypadku obejmuje zarówno kolonizację, jak i zakażenie objawowe

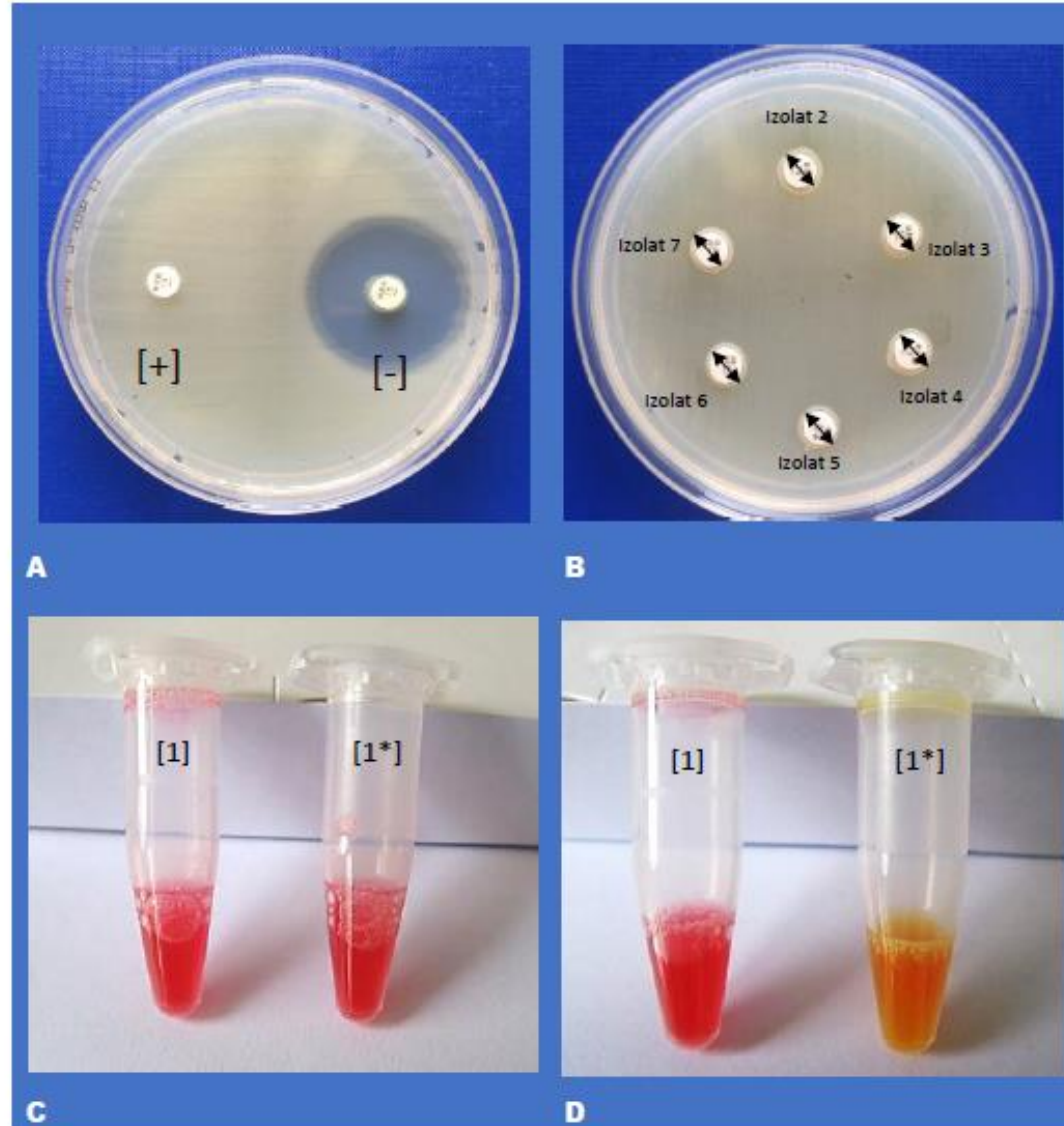
**Pałeczki Enterobacterales
wytwarzające karbapenemazy (CPE)**
Epidemiologia, diagnostyka, leczenie
i profilaktyka zakażeń

Pod redakcją:
prof. dr hab. med. Walerii Hryniewicz
dr n. med. Alicji Kuch
dr n. med. Moniki Wanke-Rytt
dr n. med. Agnieszki Żukowskiej

Ministerstwo
Zdrowia

Zadanie realizowane ze środków Narodowego Programu Zdrowia
na lata 2021-2025, finansowane przez Ministra Zdrowia





Ryc. 2. Wyniki testu CIM oraz CarbaNP. Wynik dodatni oraz ujemny testu CIM (A), wyniki dodatnie testu CIM dla sześciu izolatów wytwarzających karbapenemazy (B), wynik ujemny testu CarbaNP (C), wynik dodatni testu CarbaNP (D).

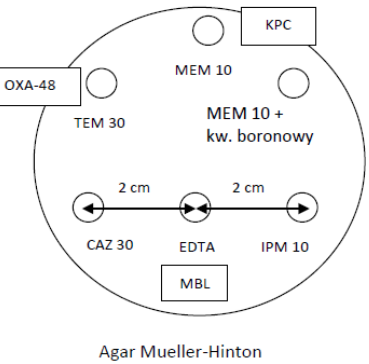


Diagnostyka mikrobiologiczna nosicielstwa CPE

fenotypowe testy przesiewowe (metoda dyfuzyjno-krążkowa),



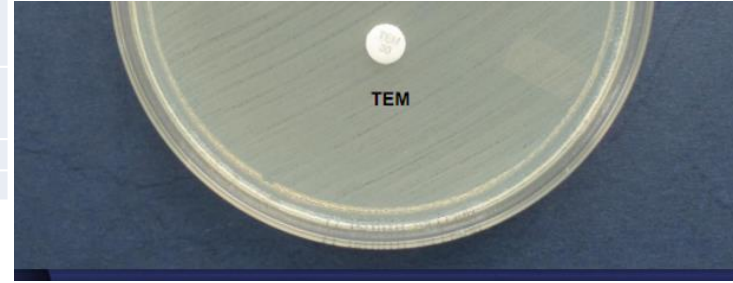
Układ krążków do wykrycia karbapenemaz metodą fenotypową



Wykrywanie karbapenemaz u *Enterobacteriaceae*

wszystkie izolaty spełniające następujące kryteria:

Karbapenem	Wartość MIC (mg/L)	Wielkość strefy zahamowania wzrostu krążek 10 µg (mm)
meropenem	>0,125	<28
ertapenem	>0,125	<25



strefa zahamowania wzrostu wokół krążka TEM wynosi ≤ 10 mm

OXA-48+

jednocześnie

Test Carba NP
lub szybki test komercyjny

Wynik dodatni
szczep wytwarza karbapenemazę

Wynik ujemny
szczep nie wytwarza karbapenemazy

Wynik wątpliwy
powtórzyć test

Testy fenotypowe
MBL / OXA-48 / KPC

powiększenie strefy wokół krążka CAZ i/lub IMP w stronę krążka EDTA

MBL+

strefa zahamowania wzrostu wokół krążka TEM wynosi ≤ 10 mm

OXA-48+

strefy zahamowania wzrostu wokół krążków zawierających MEM + kw. boronowy / MEM różnią się o 4 mm (lub więcej)

KPC+

Informacja na Oddział

powiększenie strefy wokół krążka CAZ i/lub IMP w stronę krążka EDTA

MBL+



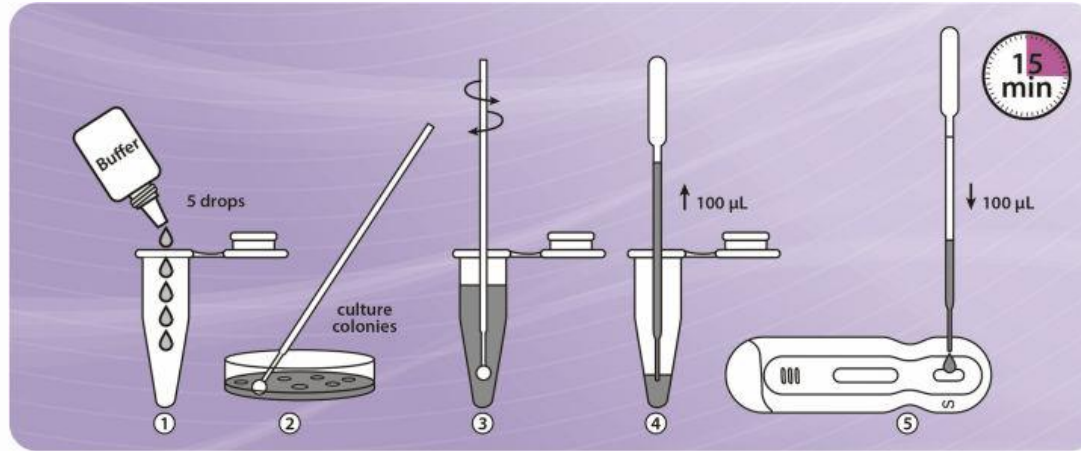
strefy zahamowania wzrostu wokół krążków zawierających MEM + kw. boronowy / MEM różnią się o 4 mm (lub więcej)

KPC+

In

Opracowanie: Zakład Epidemiologii i Mikrobiologii Klinicznej, Zakład Mikrobiologii Molekularnej, Narodowy Instytut Leków, Warszawa, 2017r.





<https://www.ngbiotech.com/ng-test-carba-5/>





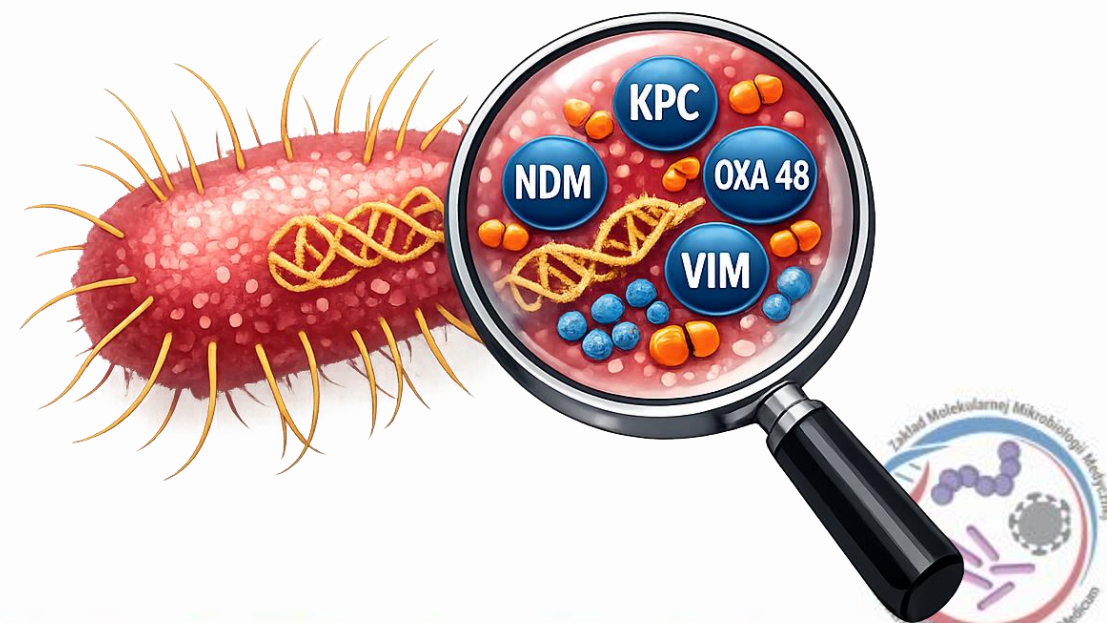
Diagnostyka mikrobiologiczna nosicielstwa CPE

badania genetyczne w kierunku karbapenemaz



Metoda	Interpretacja wyniku dodatniego
<ul style="list-style-type: none"> • Test kombinowany CDT (MEM, MEM/K) • Test zbliżeniowy DDST-EDTA (CAZ, IPM, EDTA) • Krążek z TEM • Testy komercyjne dyfuzyjno-krążkowe oraz z gradientem stężeń antybiotyku (Mast, Rosco, Liofilchem, bioMérieux) 	<p>Podezrenie wytwarzania karbapenemazy klasy A, B lub D Ustalenie rodzaju karbapenemazy wymaga dalszych badań</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Carba NP <i>in-house</i> • Testy komercyjne: Rapidec[®] Carba NP (bioMérieux), test Carba (Diagnostics, Argenta), test β-Carba (BioRad), • CarbAcineto <i>in-house</i> • CIM 	<p>Wykryto karbapenemazę. Ustalenie rodzaju karbapenemazy wymaga dalszych badań.</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Phoenix – CPO Detect (BD) 	<p>Wykryto karbapenemazę klasy A, B, D Ustalenie rodzaju karbapenemazy wymaga dalszych badań</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Vitek 2 (bioMérieux), Micro Scan (Beckman Coulter) 	<p>Ostrzeżenie o możliwości występowania karbapenemazy</p>
<ul style="list-style-type: none"> • MALDI Biotyper System - MBT STAR-Carba IVD Kit (Bruker, BD) 	<p>Wykryto karbapenemazę. Ustalenie rodzaju karbapenemazy wymaga dalszych badań.</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Test kasetkowy RESIST (Coris BioConcept) • Test kasetkowy Carba-5 (NG BioTech) 	<p>Wykryto karbapenemazę: NDM, VIM, IMP, KPC, OXA-48. Uwaga: Wynik ujemny nie wyklucza obecności innego rodzaju karbapenemazy w badanym szczepie.</p>
<ul style="list-style-type: none"> • GeneXpert (Cepheid) • BD MAX Check-Points CPO (BD) • BioFire FilmArray (bioMérieux) 	<p>Wykryto karbapenemazę: NDM, VIM, (IMP), KPC, OXA-48 Uwaga: Wynik ujemny nie wyklucza obecności innego rodzaju karbapenemazy w badanym szczepie.</p>
<ul style="list-style-type: none"> • GenieII (Amplex, Argenta) - różne warianty paneli eazyplex[®] SuperBug <ul style="list-style-type: none"> ○ KPC, VIM, NDM, OXA-48, OXA-23, OXA-40, OXA-181 ○ KPC, VIM, NDM, OXA-48, OXA-181, CTX-M-1, CTX-M-9 ○ IMP, IMI, GES, GIM ○ OXA-23, OXA-40, OXA58 oraz NDM ○ KPC, VIM, NDM, OXA-48, OXA-23, OXA-40, OXA-58 ○ KPC, VIM, NDM, OXA-48, OXA-181, IMP • Verigene (Luminex) • Check-Points systems (Check-Point) 	<p>Wykryto karbapenemazę: NDM, VIM, IMP, KPC, OXA-48 ... (rodzaj wykrytej karbapenemazy zależy od użytego panelu/systemu automatycznego) Uwaga: Wynik ujemny nie wyklucza obecności innego rodzaju karbapenemazy w badanym szczepie.</p>
<ul style="list-style-type: none"> • PCR-klasyczny • Real-time PCR 	<p>Wykryto karbapenemazę, np. NDM, KPC, VIM</p>
<ul style="list-style-type: none"> • WGS 	<p>Wykryto karbapenemazę, np. NDM-20, KPC-2, VIM-1</p>

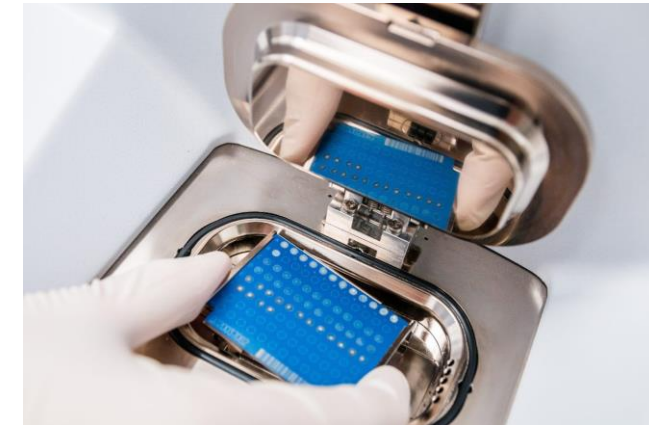
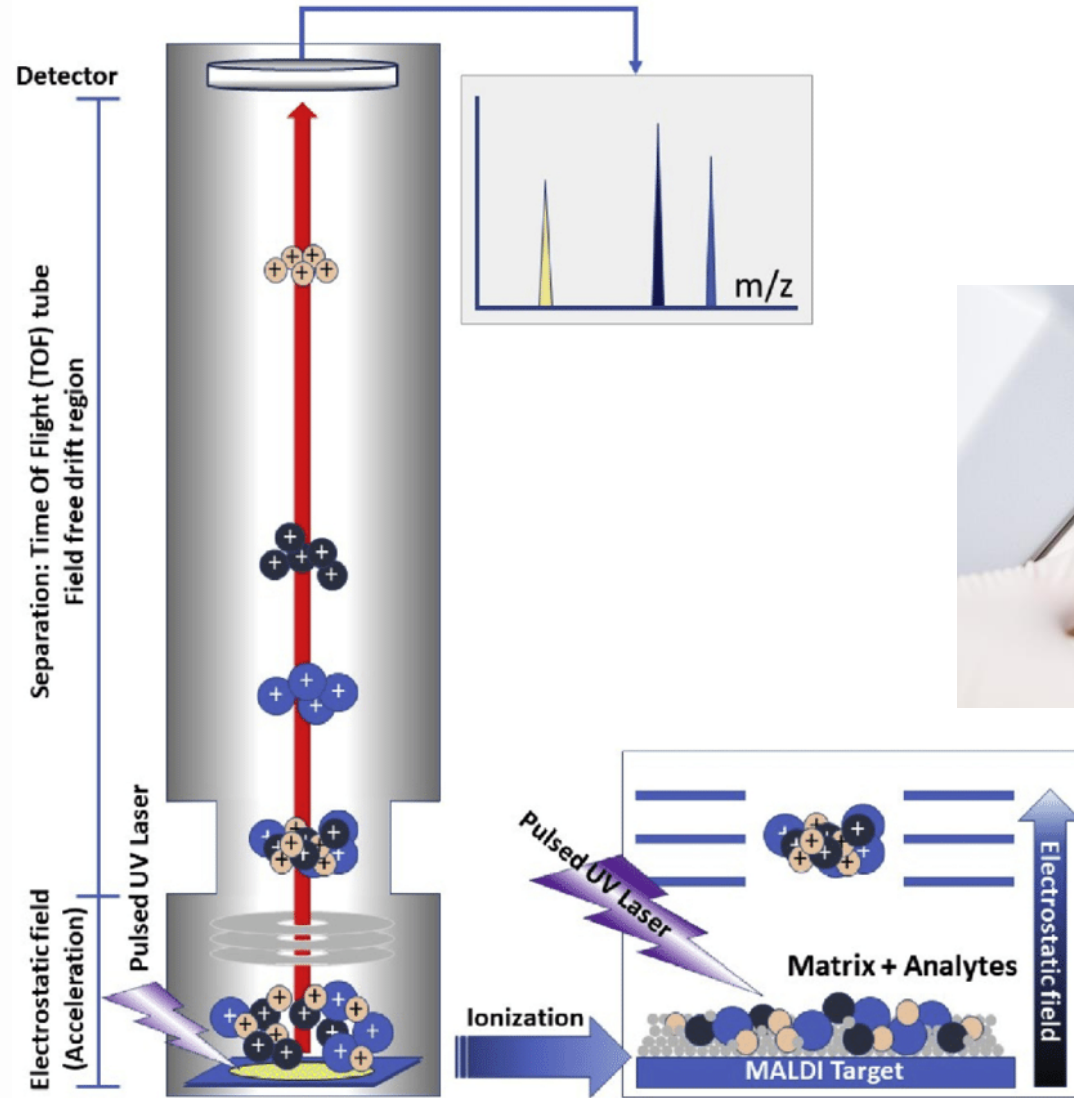
Zatem które metody diagnostyczne są potwierdzające dla CPE?





Diagnostyka mikrobiologiczna nosicielstwa CPE

detekcja CPE w pojedynczej kolonii lub w dodatniej butelce krwi

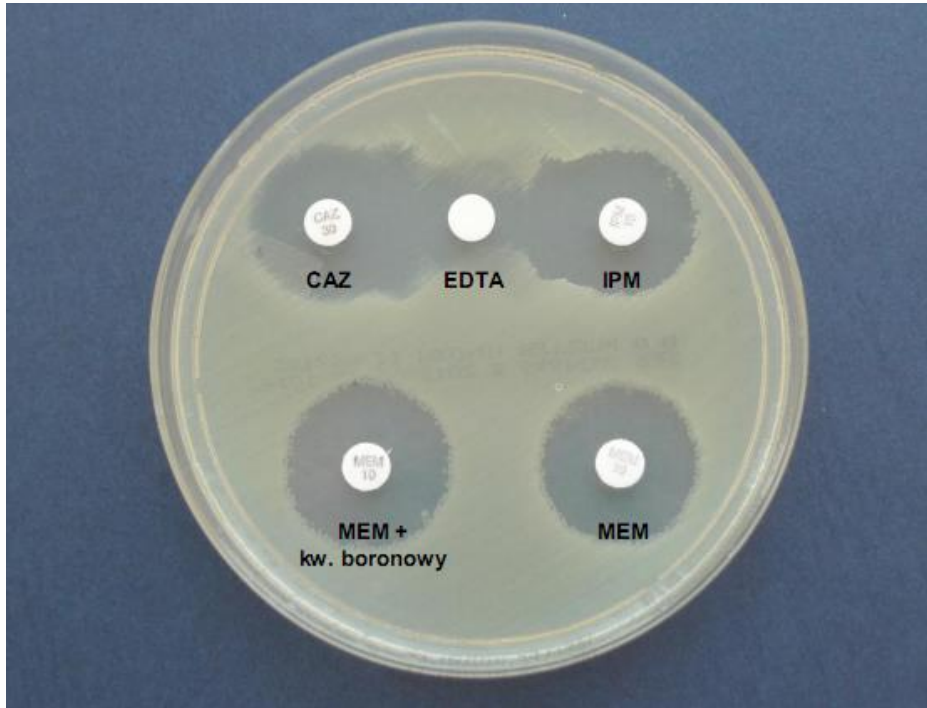


Hou T.Y, et al. J. Food Drug Anal, 2019





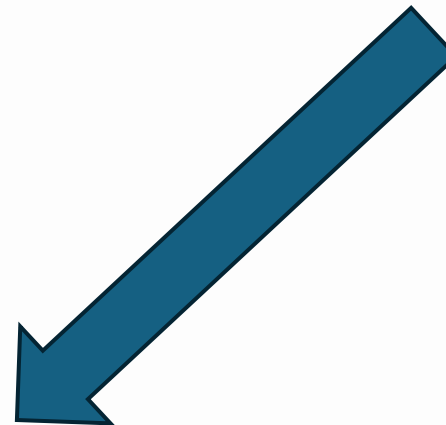
Czy wykrycie genu wystarczy?



CPE +



PCR ujemny

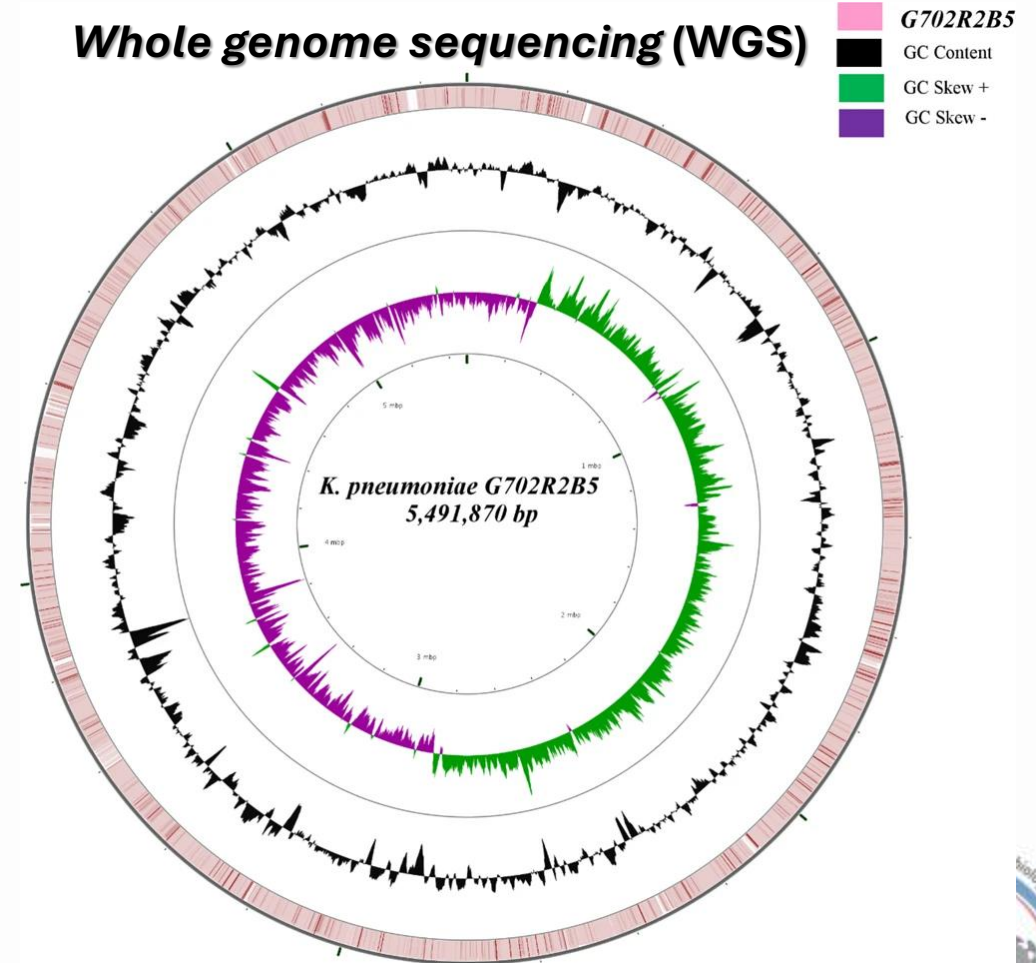
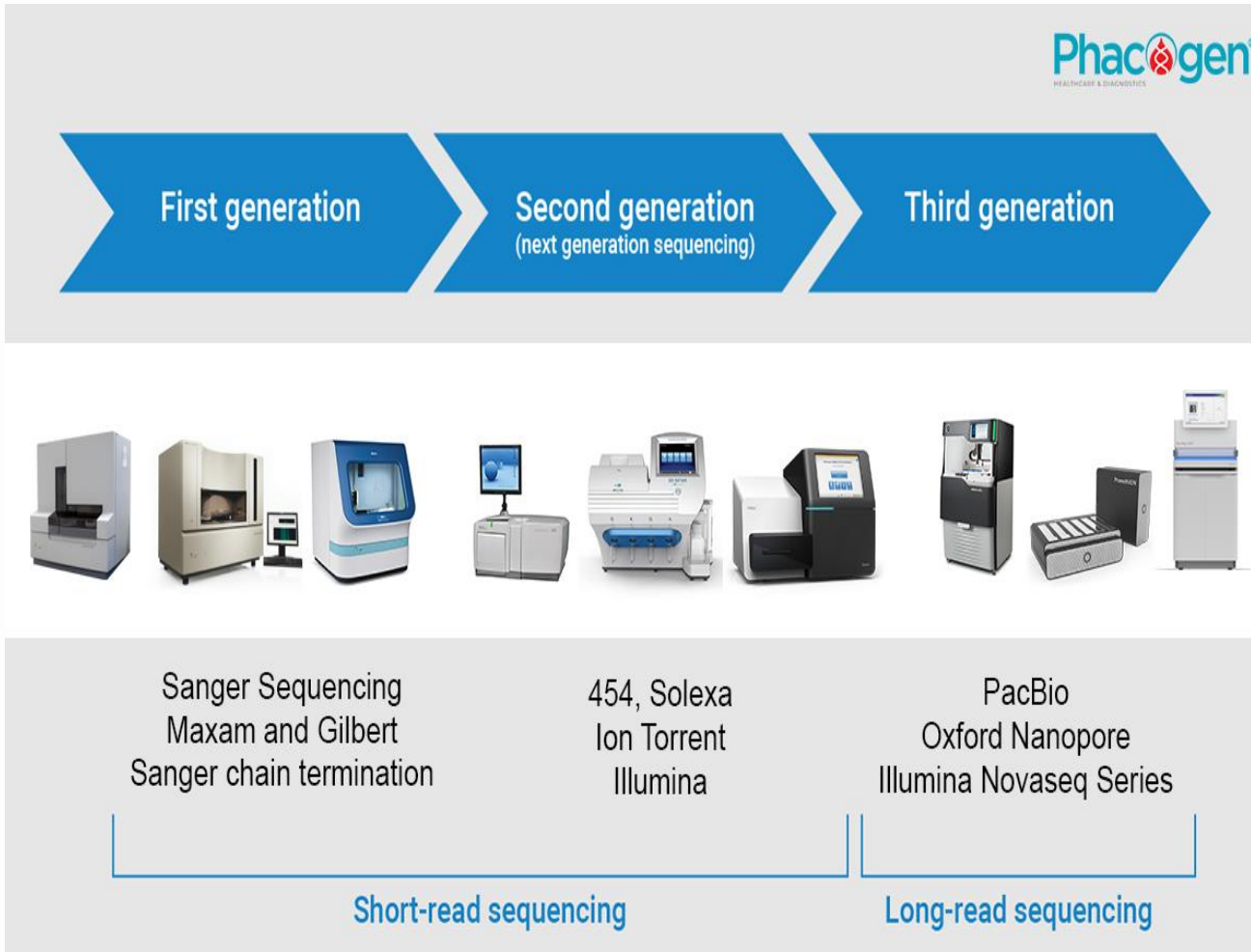


Whole Genome Sequencing (WGS)





Zaawansowana diagnostyka genomiczna – czyli co mógłby dać mikrobiolog, ale ...



<https://pit.edu.vn/en/post/generations-of-gene-sequencing-technology-139.htm>

<https://doi.org/10.1038/s41598-019-42672-2>

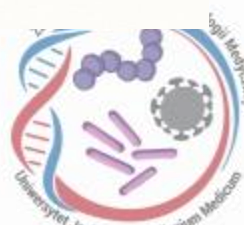
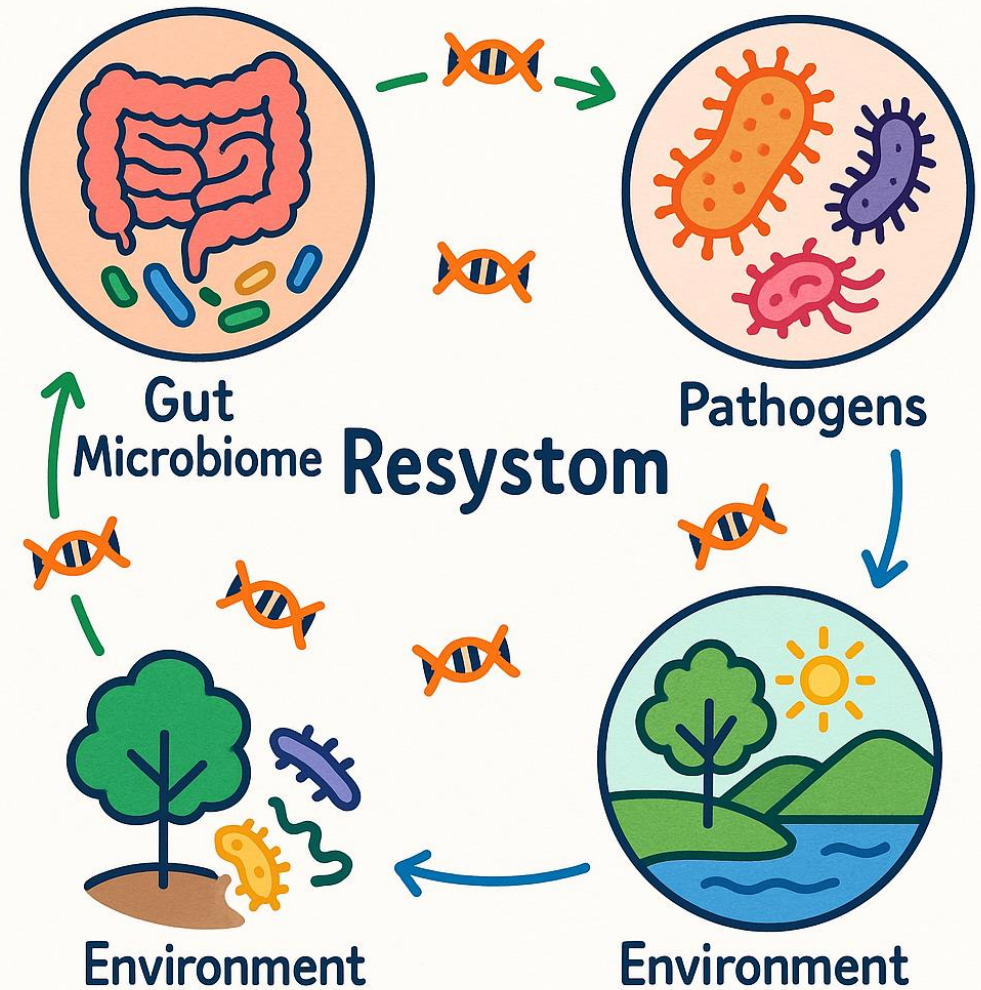




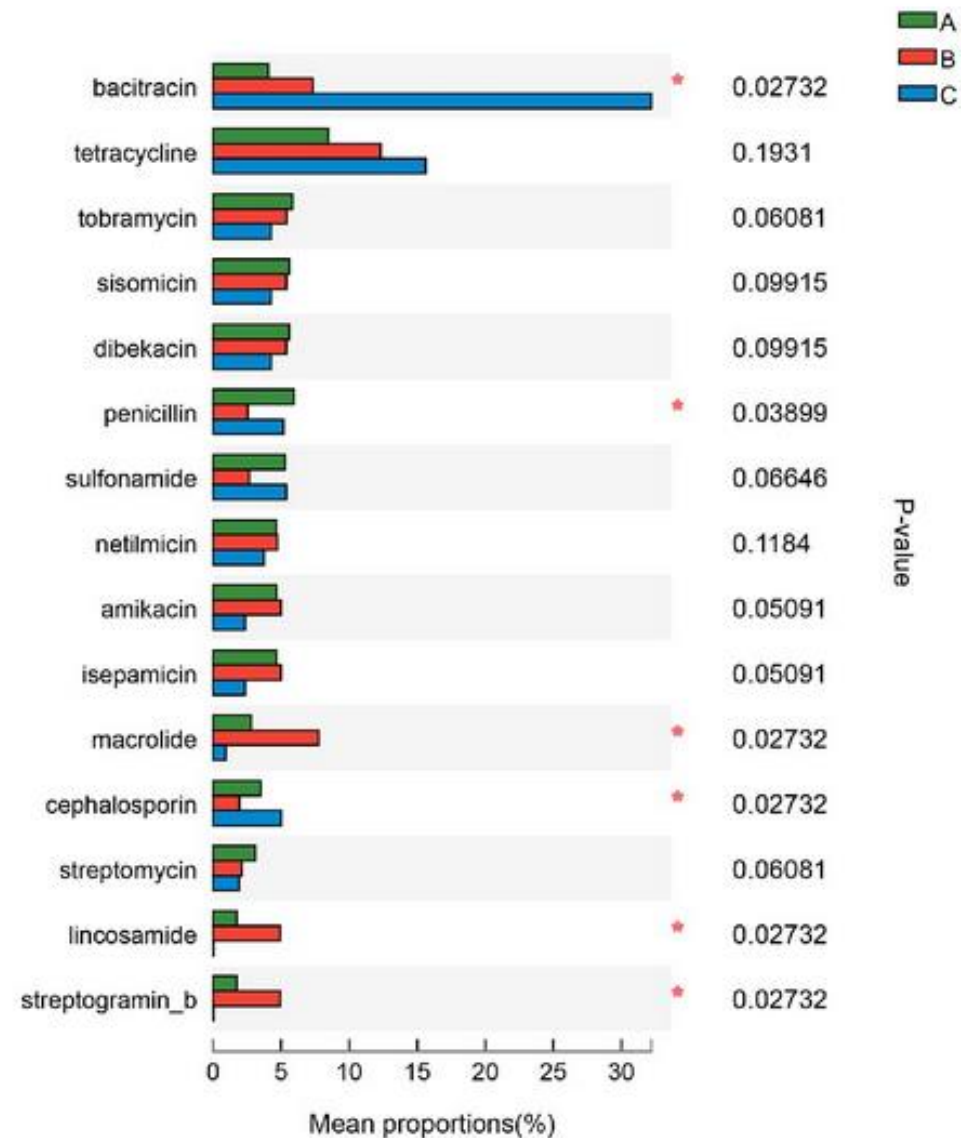
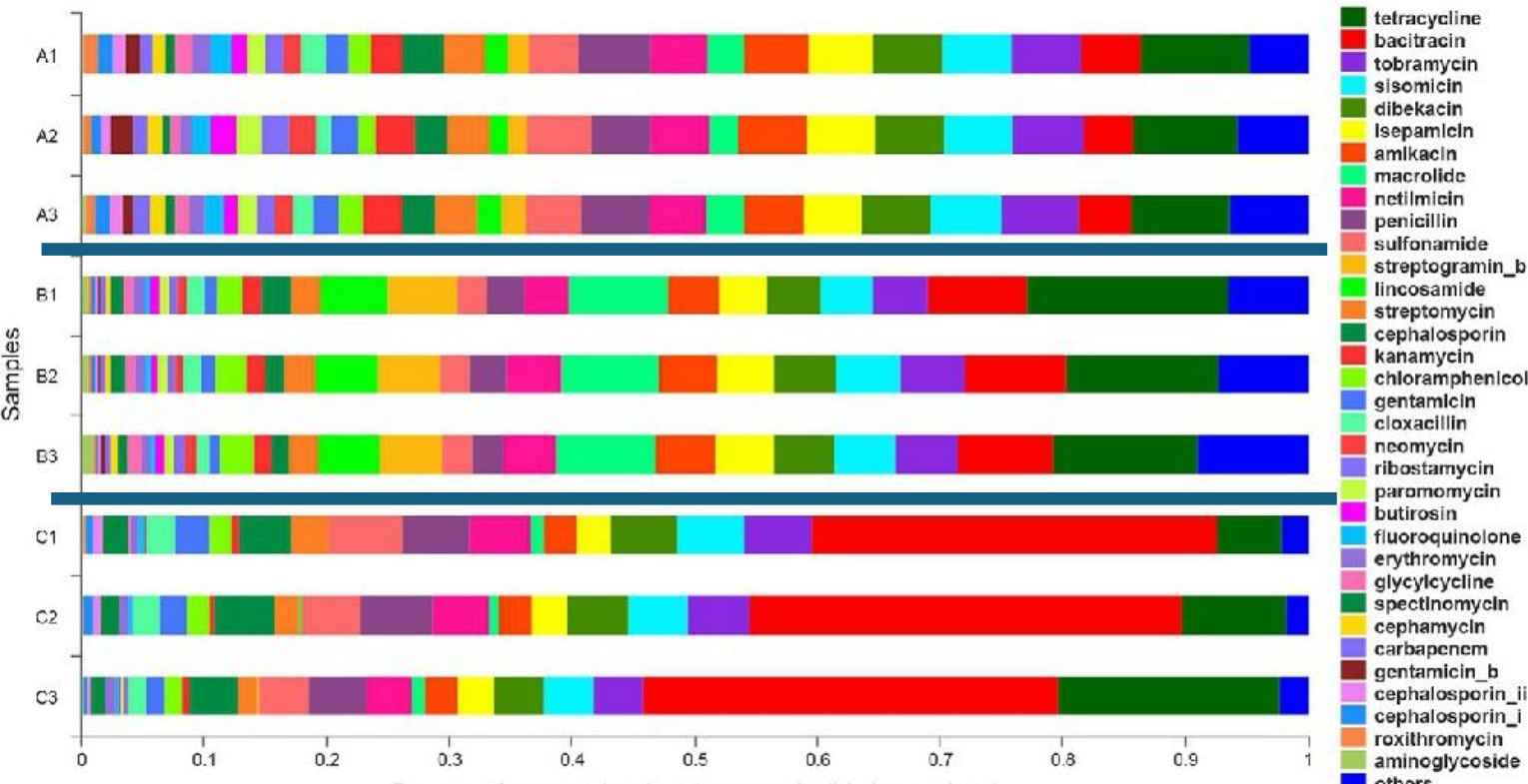
Rezystom – co to takiego?



Rezystom to **całość genów kodujących oporność na antybiotyki obecnych w mikrobiomie** danego ekosystemu biologicznego – np. w jelicie człowieka, w glebie, w szpitalu, w ściekach czy w populacji bakterii patogennych.



Celem badania było porównanie rezystomów w ściekach pomiędzy trzema szpitalami: szpital uniwersytecki - Chiny (A); szpital tradycyjnej chińskiej medycyny (B); klinika stomatologiczna (C)



Analiza rezystomów wskazuje zupełnie inne profile genów AMR w każdym ze szpitali





Co może dać mapowanie rezystomów w szpitalu?

1. **Wczesne wykrywanie i mapowanie rezerwuarów genów oporności**
2. **Lepsze dopasowanie strategii kontroli zakażeń i dezynfekcji**
3. **Wsparcie nadzoru epidemiologicznego – identyfikacja trendów oporności**
4. **Zrozumienie kierunków i mechanizmów szerzenia się genów oporności**
5. **Ocena wpływu środowiskowego i infrastrukturalnego na oporność**
6. **Umożliwienie podejścia One Health – środowisko–pacjent–szpital**
7. **Wsparcie decyzji klinicznych i polityki antybiotykowej**
8. **Potencjalna redukcja kosztów dzięki prewencji zakażeń**





Co oferuje mikrobiolog/laboratorium

1. Wczesne wykrycie i potwierdzenie nosicielstwa/zakażenia wywołanego przez CPE
2. Analiza trendów: wzrostu częstości izolacji konkretnego gatunku/szczepu CPE w danym oddziale
3. Alarmowanie ZKZS i lekarzy oddziału o podejrzanych izolatach
4. Weryfikacja, czy izolaty są klinicznie istotne (zakażenie vs kolonizacja).
5. Ocena jakości pobrania materiałów i ich reprezentatywności





Co oferuje mikrobiolog/laboratorium

6. Szybka diagnostyka mikrobiologiczna i potwierdzenie czynnika etiologicznego

7. Identyfikacja izolatu (np. MALDI-TOF, biochemia, PCR)

8. W przypadku zakażenia CPE

- Ocena fenotypu lekooporności (EUCAST/CLSI/KORLD)
- Oznaczanie mechanizmów oporności:

- ESBL, AmpC, KPC, OXA-48, NDM, MBL

9. Rekomendowanie dodatkowych badań





MAŁOPOLSKI
URZĄD WOJEWÓDZKI W KRAKOWIE



UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM MEDICUM

Dziękuję za uwagę

