

Rekomendacje Zespołu Roboczego ds. wprowadzania zaleceń Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości EUCAST

Wiosną 2010 roku został powołany przez Konsultanta Krajowego w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej prof. dr hab. n. med. Walerię Hryniewicz Zespół Roboczy ds. wprowadzania zaleceń Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości EUCAST w składzie:

prof. dr hab. n. med. Waleria Hryniewicz (Przewodnicząca) – Narodowy Instytut Leków, Warszawa, Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej, Warszawa

dr n. med. Dorota Żabicka (Sekretarz) – Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów, Narodowy Instytut Leków, Warszawa

dr n.med. Marzenna Bartoszewicz - Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich, Wrocław

dr n. med. Krzysztof Burdynowski - Publiczny - Samodzielny Zespół Opieki Zdrowotnej, Wojewódzkie Centrum Medyczne, Opole

dr n. med. Aleksander Deptuła - Uniwersytet Mikołaja Kopernika; Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera, Bydgoszcz

dr hab. n. med. Katarzyna Dzierżanowska-Fangrat – Instytut "Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka", Warszawa

dr n. med. Krzysztof Filczak - Szpital MSWiA, Warszawa

dr hab. n. med. Marek Gniadkowski – Narodowy Instytut Leków, Warszawa

dr n. med. Krzysztof Golec - Szpital Wojewódzki nr. 2, Rzeszów

mgr Paweł Gruszczyński - Wielkopolskie Centrum Pulmonologii i Torakochirurgii im. E. J. Zeylandów, Poznań

dr n. med. Jolanta Kędzierska - Szpital Uniwersytecki, Kraków

lek. med. Jolanta Komarnicka - Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Gdańsk

prof. dr hab. n.med. Maria Koziół-Montewka - Uniwersytet Medyczny, Lublin

prof. dr hab. n. med. Eugeniusz Małafiej Instytut - "Centrum Zdrowia Matki Polki", Łódź

prof. dr hab. n.med. Gayane Martirosian - Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice

mgr Ewa Młodzińska - Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej, Warszawa

dr n. med. Elżbieta Stefaniuk - Narodowy Instytut Leków, Warszawa, Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej, Warszawa

mgr Anna Szkudlarek - Pomorski Uniwersytet Medyczny, Szczecin

dr hab.n. med. Elżbieta Tryniszewska - Uniwersytet Medyczny, Białystok

Powołany Zespół Roboczy jest zaangażowany w proces wprowadzenia zaleceń EUCAST we wszystkich medycznych laboratoriach mikrobiologicznych w Polsce z dniem 1 kwietnia 2011 roku. Zadaniem Zespołu było opracowanie, we współpracy z Konsultantem Krajowym w dziedzinie mikrobiologii lekarskiej oraz Krajowym Ośrodkiem Referencyjnym ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów (KORLD), strategii wprowadzania w Polsce zaleceń EUCAST dotyczących metodyki i interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów. Ponadto członkowie Zespołu zostali także zaangażowani w edukację lekarzy i mikrobiologów.

Poniżej przedstawiono rekomendacje Zespołu dotyczące kilku zagadnień związanych ze stosowaniem zaleceń EUCAST i wzbudzających największe kontrowersje.

I. Wykrywanie beta-laktamaz u pałeczek Gram-ujemnych

Działając na podstawie Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 11 marca 2005 roku w sprawie rejestrów zakażeń zakładowych oraz raportów o występowaniu tych zakażeń (Dz. U. Nr 05.54.484), laboratoria mikrobiologiczne w Polsce zobowiązane są do wykrywania szeregu groźnych mechanizmów lekooporności w szczepach klinicznych drobnoustrojów. Do mechanizmów tych należy wytwarzanie różnych rodzajów beta-laktamaz przez pałeczki Gram-ujemne (pałeczki Enterobacteriaceae i niefermentujące), w tym ESBL, MBL i KPC. Zgodnie z najnowszymi koncepcjami, propagowanymi zarówno przez EUCAST, jak i CLSI, wykrywanie tych enzymów wykonuje się wyłącznie do celów epidemiologicznych i kontroli zakażeń. W ostatnim czasie oba komitety na tyle zastrzyły kryteria oceny wrażliwości szczepów pałeczek Gram-ujemnych na beta-laktamy, że zdecydowana większość szczepów ESBL⁺ powinna z definicji wykazywać oporność na cefalosporyny wyższych generacji lub aztreonam, a przeważającą większość szczepów MBL⁺ i KPC⁺ powinno się automatycznie klasyfikować jako szczepy niewrażliwe na karbapenemy. Dzięki temu unikamy sytuacji, będących w przeszłości źródłem wielu problemów, zwłaszcza w kontaktach między mikrobiologami i lekarzami, w których ze względu na obecność ESBL w szczepie bakteryjnym dokonywano reinterpretacji oznaczenia jego wrażliwości z „wrażliwy” na „oporny”. **Podsumowując, wprowadzane właśnie w Polsce zalecenia EUCAST nakazują raportować wyniki oznaczenia lekowrażliwości szczepu zgodnie z uzyskanymi**

wartościami, interpretowanymi wg tabel wartości granicznych EUCAST, wykrywanie beta-laktamaz zaś wykonywać wyłącznie do celów epidemiologicznych.

Ia. Wykrywanie ESBL u pałeczek z rodziny Enterobacteriaceae

Teoretycznie wykrywanie ESBL ma sens wyłącznie w przypadku tych izolatów z rodziny Enterobacteriaceae, u których stwierdzi się niewrażliwość (średnią wrażliwość lub oporność) na cefalosporyny wyższych generacji lub aztreonam. Takie podejście oznacza jednak opóźnienie w uzyskaniu informacji o obecności ESBL w szczepie bakteryjnym i identyfikacji patogenu alarmowego. Ze względów ekonomicznych, wykrywanie ESBL jedynie u szczepów niewrażliwych na cefalosporyny wyższych generacji lub aztreonam może być szczególnie uzasadnione w krajach lub ośrodkach, w których częstość występowania ESBL jest niewielka. **W sytuacji jednak szerokiego rozprzestrzenienia drobnoustrojów ESBL⁺, tak jak w większości szpitali w Polsce, wskazanym jest wykonywanie testu na obecność ESBL wraz z antybiogramem dla każdego szczepu pałeczki jelitowej.** Zawężenie się do szczepów o wcześniej stwierdzonej niewrażliwości na leki wskaźnikowe dla ESBL może być wskazane w przypadku pacjentów ambulatoryjnych (nieprzebywających jednak w domach opieki społecznej, hospicjach itp.).

KORLD zaleca wykrywanie ESBL tzw. metodą „dwóch krążków” (DDST), z zastosowaniem krążków z antybiotykami wskaźnikowymi – ceftazydymem (30 µg) i cefotaksymem (30 µg) oraz krążka zawierającego inhibitor ESBL, którym jest krążek z amoksyycyliną z kwasem klawulanowym (20/10 µg).. Metodyka DDST oraz interpretacja wyników opisana jest w „Rekomendacjach doboru testów do oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki 2009. Oznaczanie wrażliwości pałeczek Gram-ujemnych”, do pobrania ze strony internetowej KORLD www.korld.edu.pl.

Ze względu na zmiany w dotychczasowym postępowaniu ze szczepami ESBL⁺, wynikające z przyjęcia zaleceń EUCAST, Zespół zaproponował następujący komentarz do wyniku oznaczania lekowrażliwości:

„Według aktualnych standardów EUCAST wykrycie ESBL nie wyklucza zastosowania cefalosporyn III i IV generacji oraz aztreonamu w przypadku stwierdzenia na nie wrażliwości.

Uwaga! Wrażliwość kliniczna zgodnie z wynikiem antybiogramu. Wynik epidemiologiczny: patogen alarmowy ESBL-dodatni”.

Jednocześnie w przypadku szczepów ESBL⁺ Zespół zaleca oznaczenie MIC cefalosporyny wyższej generacji (lub aztreonamu), jeśli jest ona planowana do leczenia, a także monitorowanie skuteczności stosowanej terapii.

Ib. Wykrywanie karbapenemaz MBL i KPC u Enterobacteriaceae

U Enterobacteriaceae należy wykrywać **jednocześnie oba typy karbapenemaz MBL i KPC** u wszystkich izolatów niewrażliwych (średnio-wrażliwych i opornych) przynajmniej na jeden karbapenem (imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem).

Do wykrywania MBL KORLD zaleca stosowanie testu dwóch krążków (DDST), z użyciem krążka z EDTA (10 µl 0,5M EDTA), inhibitorem MBL, i ułożonych po obu jego stronach krążków z ceftazydymem (30 µg) i imipenemem (10 µg). Do wykrywania KPC z kolei, zaleca się tzw. test kombinowany (CDT), w którym na krążki z imipenemem (10 µg) i meropenemem (10 µg), lub tylko z meropenemem, podaje się kwas boronowy (300 µg), będący inhibitorem KPC. Szczegółowy opis tych metod oraz interpretacja wyników są podane w „Rekomendacjach doboru testów do oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki 2009. Oznaczanie wrażliwości pałeczek Gram-ujemnych.”, do pobrania ze strony internetowej KORLD www.korld.edu.pl.

Ic. Wykrywanie MBL u pałeczek niefermentujących

W przypadku pałeczek niefermentujących najważniejszym problemem epidemiologicznym jest występowanie karbapenemaz typu MBL lub CHDL. Obecność MBL stwierdza się przede wszystkim u *Pseudomonas aeruginosa*, przy czym jest to tylko jeden z wielu mechanizmów oporności tego drobnoustroju na karbapenemy. Diagnostykę MBL u *P. aeruginosa* (i innych pałeczek niefermentujących) zaleca się w przypadku szczepów niewrażliwych na karbapenemy (średnio-wrażliwych i opornych) i jednocześnie opornych na tikarcylinę z kwasem klawulanowym.

Do wykrywania MBL u pałeczek niefermentujących KORLD zaleca wykonywanie wspomnianego wyżej testu dwóch krążków z użyciem EDTA, zgodnie z metodyką opisaną w „Rekomendacjach doboru testów do oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki 2009. Oznaczanie wrażliwości pałeczek Gram-ujemnych.”, do pobrania ze strony www.korld.edu.pl. Do wykrywania MBL u *P. aeruginosa* można również stosować Etest MBL.

II. Oznaczanie lekowrażliwości pałeczek *Acinetobacter* spp.

W zaleceniach EUCAST dla pałeczek *Acinetobacter* spp. w tabelach podano wartości graniczne dla bardzo niewielkiej grupy leków. W przypadku stwierdzenia braku wrażliwości na leki standardowo oznaczane wg zaleceń EUCAST i tym samym braku opcji terapeutycznych możliwe jest oznaczanie wrażliwości na leki objęte rekomendacjami CLSI (zaleca się oznaczenie MIC) i interpretacja wyniku oznaczania wrażliwości na te leki zgodnie z wartościami granicznymi aktualnych z 2011 roku zaleceń CLSI. Na wyniku należy zaznaczyć, dla których leków stosowano interpretację wyniku zgodnie z zaleceniami CLSI.

III. Oznaczanie lekowrażliwości *Staphylococcus* spp.

IIIa. Wykrywanie oporności na metycylinę

Zarówno CLSI jak i EUCAST zalecają wykrywanie oporności na metycylinę u wszystkich izolatów z rodzaju *Staphylococcus* z użyciem krążka z cefoksytiną 30 µg.

IIIb. Wykrywanie mechanizmu MLS_B

Do wykrywania mechanizmu oporności MLS_B i interpretacji wyniku oznaczania wrażliwości na makrolidy, linkosamidy i streptograminy B KORLD zaleca stosowanie metody opisanej w „Rekomendacjach doboru testów do oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki 2009. Oznaczanie wrażliwości ziarniaków Gram-dodatnich z rodzaju *Staphylococcus* spp.”, do pobrania ze strony www.korld.edu.pl.

IIIc. Oznaczanie wrażliwości na aminoglikozydy

EUCAST wprowadził różne wartości graniczne aminoglikozydów dla *S.aureus* i dla gronkowców koagulazo-ujemnych.

IV. Oznaczanie lekowrażliwości *Enterococcus* spp.

IVa. Oznaczanie wrażliwości na penicylinę benzylową

W zaleceniach EUCAST brak jest wartości granicznej dla penicyliny benzylowej. W przypadku konieczności zastosowania penicyliny w terapii należy wykonać oznaczenie (metodą dyfuzyjno-krażkową lub oznaczenie MIC) i interpretować wynik zgodnie z aktualnymi rekomendacjami CLSI.

IVb. Oznaczanie wrażliwości na glikopeptydy

Do wykrywania wrażliwości na wankomycynę EUCAST zaleca stosowanie krążka z wankomycyną 5 µg. Nadal dopuszczalne jest stosowanie metody przeglądowej wg CLSI z wankomycyną 6 µg/ml w podłożu BHIA opisanej w „Rekomendacjach doboru testów do oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki 2009. Oznaczanie wrażliwości ziarniaków Gram-dodatnich z rodzaju *Enterococcus* spp.”, do pobrania ze strony www.korl.d.edu.pl.

IVc. Oznaczanie oporności wysokiego stopnia na aminoglikozydy

Do wykrywania oporności wysokiego stopnia na gentamycynę EUCAST zaleca stosowanie krążka z gentamycyną 30 µg. Metoda przeglądowa wg CLSI nie jest zalecana.

IVd. Oznaczanie wrażliwości na trimetoprim-sulfametoksazol

W tabelach EUCAST zaproponowano wartości graniczne dla trimetoprimu-sulfametoksazolu, natomiast należy pamiętać, że szczepy dzikie *Enterococcus* spp., czyli szczepy bez nabytych droga mutacji lub transferu mechanizmów oporności, charakteryzują się wartościami MIC kwalifikującymi je do kategorii „średnio wrażliwy”.

V. Oznaczanie lekowrażliwości *Streptococcus pneumoniae*.

Va. Oznaczanie wrażliwości na penicylinę benzylową

Zgodnie z zaleceniami EUCAST w przypadku izolacji *Streptococcus pneumoniae* od pacjenta z zapaleniem płuc istnieje możliwość kwalifikacji jako wrażliwy szczepów o wartościach MIC w zakresie od $\leq 0,5$ mg/L do ≤ 2 mg/L w zależności od tego, jaka dawka penicyliny benzylowej będzie stosowana w leczeniu.

Na wyniku oznaczania lekowrażliwości należy wpisać wartość MIC penicyliny benzylowej bez interpretacji („wrażliwy”, „średniowrażliwy” lub „oporny”), a wskazówki dotyczące interpretacji wyniku w zależności od dawki leku umieścić w komentarzu do wyniku.

Zgodnie z zaleceniami EUCAST w przypadku izolacji *Streptococcus pneumoniae* od pacjenta z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych stosuje się następujące wartości graniczne penicyliny benzylowej: wrażliwy $\leq 0,064$ mg/L, oporny $>0,064$ mg/L.

Należy pamiętać, że w przypadku wszystkich innych zakażeń niż zapalenie płuc i zakażenia w ośrodkowym układzie nerwowym stosuje się następujące wartości graniczne penicyliny benzylowej: wrażliwy $\leq 0,064$ mg/L, średniowrażliwy 0,125 – 2, oporny > 2 mg/L.

Vb. Wykrywanie mechanizmu MLS_B

Do wykrywania mechanizmu oporności MLS_B i interpretacji wyniku oznaczania wrażliwości na makrolidy, linkosamidy i streptograminy B KORLD zaleca stosowanie metody opisaną w „Rekomendacjach doboru testów do oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki i chemioterapeutyki 2009. Oznaczanie wrażliwości ziarniaków Gram-dodatnich z rodzaju *Streptococcus* spp.”, do pobrania ze strony www.korld.edu.pl.

VI.Oznaczanie lekowrażliwości drobnoustrojów, dla których brak jest rekomendacji EUCAST

Rekomendacje EUCAST nie podają wartości granicznych dla wielu rzadziej izolowanych rodzin i gatunków drobnoustrojów. Do czasu opublikowania rekomendacji EUCAST dla tych drobnoustrojów można stosować aktualne rekomendacje CLSI z 2011 roku. Na wyniku oznaczenia lekowrażliwości należy zaznaczyć, że do interpretacji wyniku oznaczania lekowrażliwości stosowano zalecenia CLSI. Możliwe jest również zastosowanie zalecanych przez EUCAST wartości granicznych nie związanych z określonym gatunkiem drobnoustrojów (patrz pkt VII).

W przygotowaniu są zalecenia EUCAST interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości dla *Campylobacter* spp., *Burkholderia cepacia*, *Corynebacterium* spp., *Helicobacter pylori*, *Listeria monocytogenes*, *Nocardia* spp. oraz *Pasteurella* spp.

VII.Stosowanie zalecanych przez EUCAST wartości granicznych nie związanych z określonym gatunkiem drobnoustrojów

Wartości graniczne nie związane z określonym gatunkiem drobnoustrojów są zaproponowane przez EUCAST jedynie w oparciu o dane farmakokinetyczne i farmakodynamiczne. Wartość graniczną dla kategorii „wrażliwy” i „średniowrażliwy” (S/I) zaproponowano w oparciu o standardowe dawkowanie leku, natomiast wartość graniczną dla kategorii „średniowrażliwy” i „oporny” (I/R) w oparciu o maksymalną dawkę leku. Wartości te stanowią podstawę do zaproponowania wartości granicznych dla poszczególnych gatunków lub rodzajów drobnoustrojów, ale mogą ulegać modyfikacji w oparciu o dane kliniczne.

Wartości graniczne nie związane z określonym gatunkiem drobnoustrojów mogą być używane w rutynowych oznaczeniach do interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości dla rzadko izolowanych drobnoustrojów, dla których nie zaproponowano wartości granicznych w obecnie obowiązującej wersji 1.3 z 5 stycznia 2011 roku „Tabel interpretacji wartości granicznych minimalnych stężeń hamujących (MIC) oraz wielkości stref zahamowania wzrostu”.

Należy zawsze oznaczyć MIC leku i interpretować wynik zgodnie zaproponowanymi wartościami granicznymi nie związanymi z określonym gatunkiem drobnoustrojów. Warto również porównać otrzymaną wartość MIC z dystrybucją wartości MIC dla szczepów dzikich danego gatunku, czyli szczepów bez nabytych droga mutacji lub transferu mechanizmów oporności, dostępnych na stronie internetowej EUCAST www.eucast.org w zakładce „MIC- distribution”, aby sprawdzić, czy wyhodowany szczep nie wykazuje wartości MIC wskazującej na możliwość nabycia oporności na badany lek.

VIII.Oznaczenie lekowrażliwości grzybów

EUCAST opublikował rekomendacje interpretacji wyników oznaczania wrażliwości na flukonazol i itrakonazol dla grzybów drożdżopodobnych. W trakcie konsultacji są propozycje wartości granicznych amfoterycyny B, pozakonazolu i anidulafunginy dla grzybów drożdżopodobnych. Do czasu opublikowania rekomendacji EUCAST dla większej liczby leków przeciwgrzybiczych do interpretacji oznaczania lekowrażliwości grzybów należy stosować aktualne rekomendacje CLSI lub rekomendacje towarzystw naukowych.

31 marca 2011 roku