

***„Problémás fertőzőes kórképek az intenzív-osztályokon”***  
**- a mikrobiológiai diagnosztika lehetőségei**

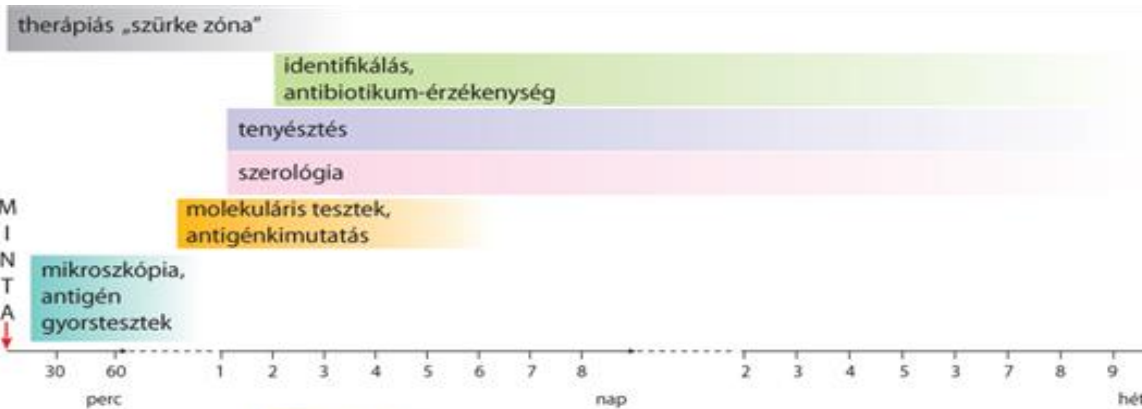
Kristóf Katalin

Semmelweis Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet,  
Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Laboratórium

# Mit várhat a klinikus a mikrobiológustól?

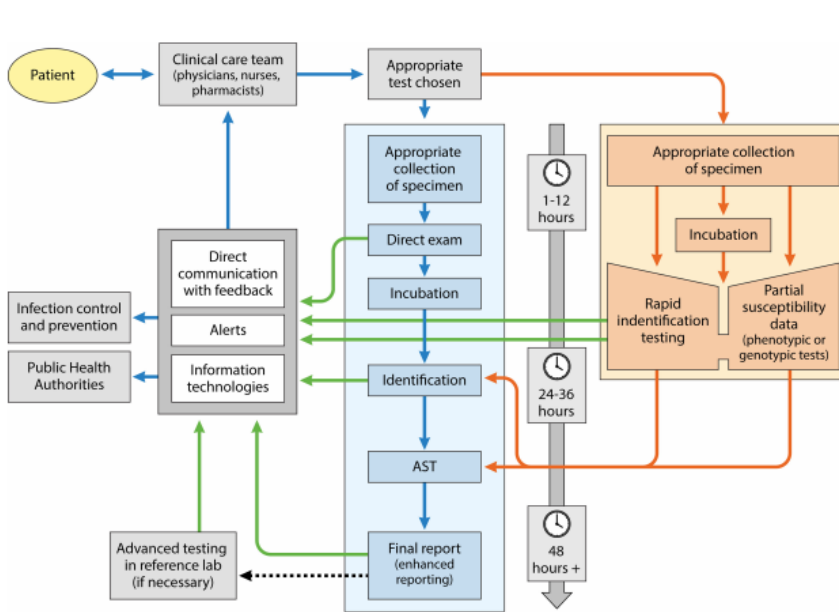
=> **Gyors  
eredmény!**

- kórokozó(k)  
identifikálása + atb.  
érzékenység
- Minél hamarabb,  
korrekt eredmény

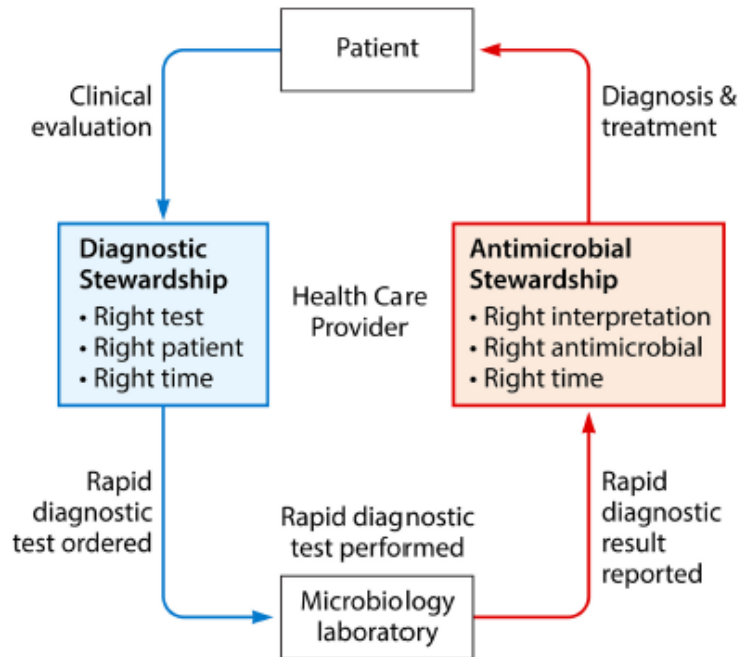


Morency-Potvin et al.

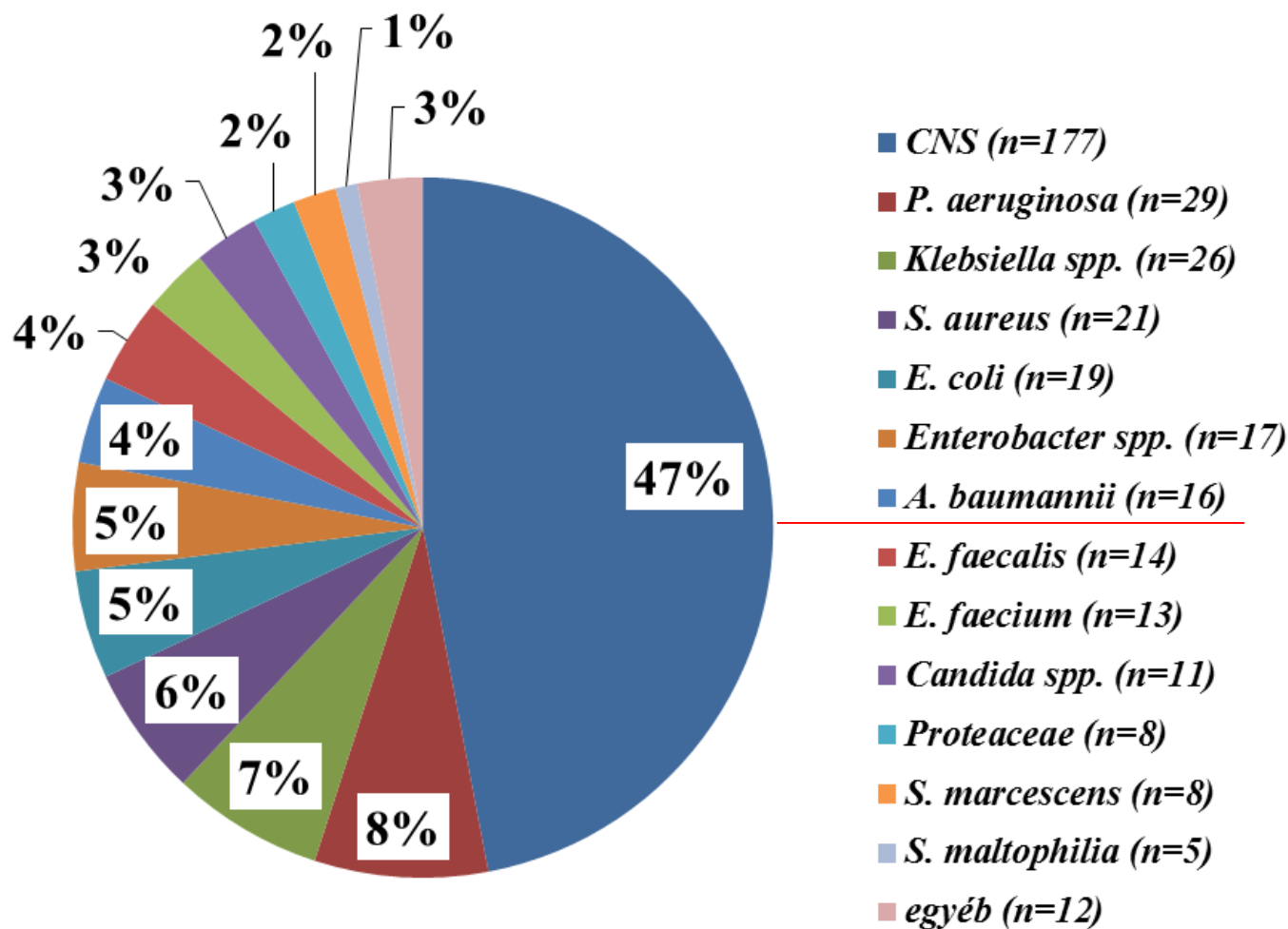
Clinical Microbiology Review



**FIG 1** Workflow pathways for conventional microbiology and RDT. Implementation of RDT increases laboratory workflow complexity but can hasten the availability of results. Communication of results is a key factor. Blue arrows represent the conventional microbiology pathway, orange arrows represent the RDT pathway, and green arrows represent opportunities for the laboratory and antimicrobial stewardship teams to improve communication of results. AST, antimicrobial susceptibility testing.



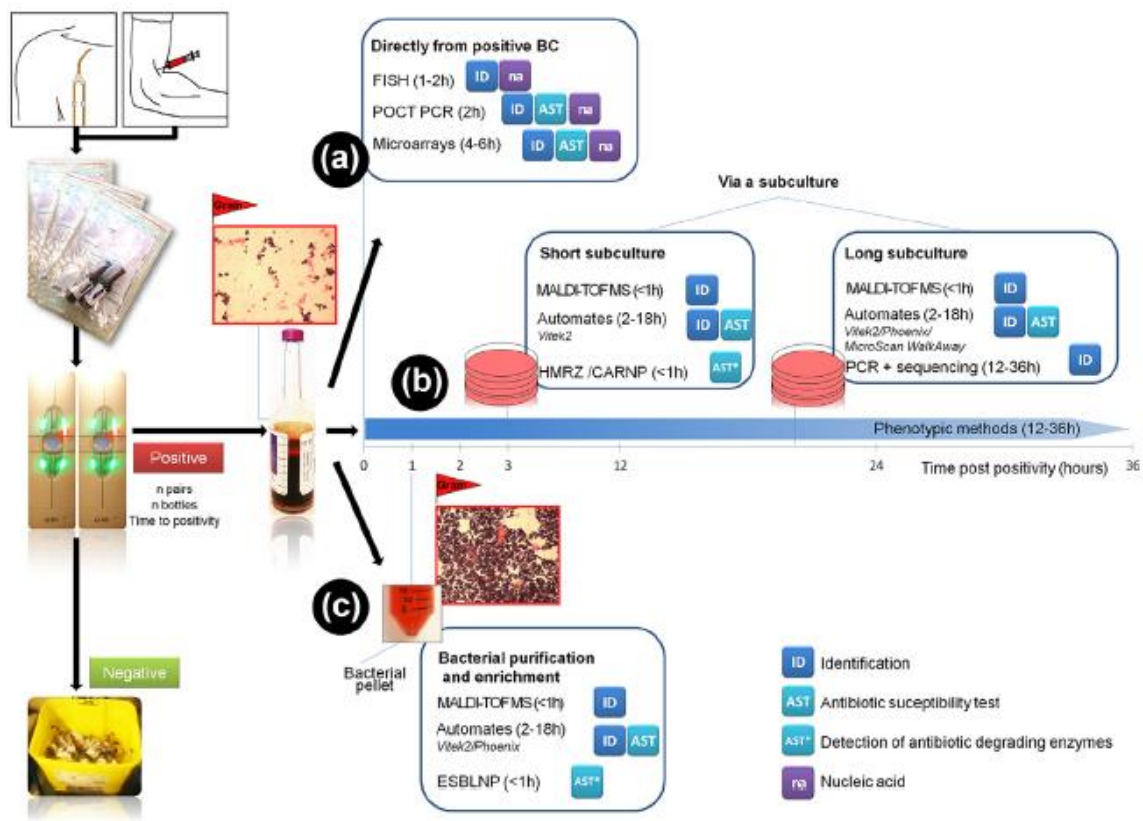
# Hemokultúra izolátumok (%) 2018-ban; ITO, SE; n= 376



- Betegre tisztított adatok
- „biztosan kontaminánsok” nélkül
- ~ kontamináció 16 % !

Egyéb: *S. pneumoniae* (n=2), *S. agalactiae* (n=2), *A. defectiva* (n=1), *Bacteroides spp.* (n=2), egyéb anaerob (n=2), *Burkholderia sp.* (n=1), *Granulicatella adiacens* (n=1), *Lactobacillus sp.* (n=1)

# Bakterémia - Gold standard: Hemokultúra



- „Pozitív jelzés”:
  - Gram-festett kenet:
  - MALDI-TOF MS ID:
  - Gyors AST:
  - Előzetes AST:
  - Végleges eredmény:
- 4 h - 2 nap

30 perc

3 h-24 h

6 – 8 h;

20-24 h;

2 nap

# Bakterémia

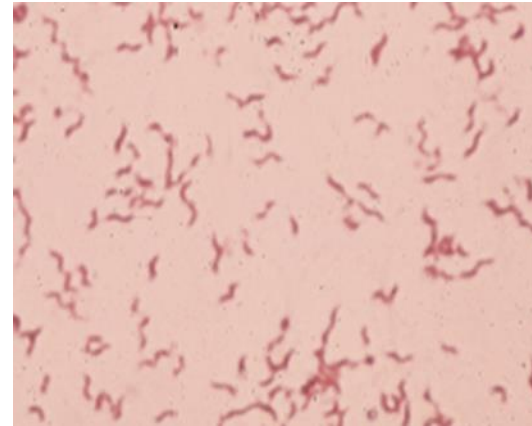
## Gold standard: Hemokultúra

### Hemokultúra automaták:

„pozitív” jelzésig idő: 4h– 2nap

**Gram kenet:** 20 perc

- Hatás a mikrobiológiai folyamatra (idő ↓)
- Hatás a kezelésre



- ⇒ Gyors (20 perc)
- ⇒ Hatással lehet a mikrobiológiai vizsgálati folyamatra => idő rövidítése!
- ⇒ Hatással lehet a kezelésre

### MALDI-TOF MS azonosítás

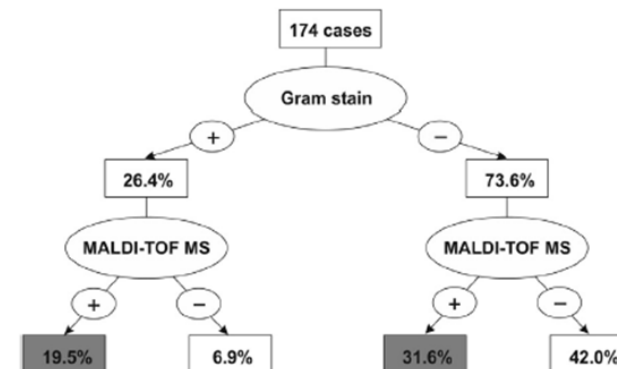
- Legjobb eredmény a tenyészetből (2- 6 h)
  - Gram-negatív: ~ 92 %
  - Gram-pozitív: ~ 88 %

! Koaguláz-negatív staphylococcusok

- Különböző szeparálási eljárásokkal az idő rövidíthető
  - Plusz költség
  - ~ 80-92 % eredmény
  - Nincs FDA engedélyezett

Gyors eredmény kiadás értéke a gyors válaszreakciótól függ!

R. Kohlmann et al. / International Journal of Medical Microbiology 305 (2015) 469–479



+ result facilitated an altered or more precise treatment recommendation

- result did not lead to a change of treatment recommendation

# Molekuláris vizsgálati lehetőségek –főleg identifikálásra

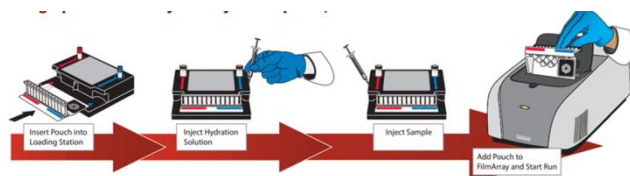
**Pozitív hemokultúra palackból – 1 h!**

**27 targets at once**

TOP

FilmArray® BCID Panel targets:

| Gram+ Bacteria                                                                                                                                                                                                                               | Gram- Bacteria                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Enterococcus</i><br><i>Listeria monocytogenes</i><br><i>Staphylococcus</i><br><i>Staphylococcus aureus</i><br><i>Streptococcus</i><br><i>Streptococcus agalactiae</i><br><i>Streptococcus pyogenes</i><br><i>Streptococcus pneumoniae</i> | <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Haemophilus influenzae</i><br><i>Neisseria meningitidis</i><br><i>Pseudomonas aeruginosa</i><br><i>Enterobacteriaceae</i><br><i>Enterobacter cloacae</i> complex<br><i>Escherichia coli</i><br><i>Klebsiella oxytoca</i><br><i>Klebsiella pneumoniae</i><br><i>Proteus</i><br><i>Serratia marcescens</i> |
| Yeast                                                                                                                                                                                                                                        | Antibiotic Resistance                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <i>Candida albicans</i><br><i>Candida glabrata</i><br><i>Candida krusei</i><br><i>Candida parapsilosis</i><br><i>Candida tropicalis</i>                                                                                                      | <i>mecA</i> - methicillin resistance<br><i>vanA/B</i> - vancomycin resistance<br><i>KPC</i> - carbapenem resistance                                                                                                                                                                                                                        |



**T2 Biosystems (1-8 CFU/ml kimutatási határ)**

**T2 Candida:**

*Candida albicans*, *C. tropicalis*  
*C. krusei*, *C. parapsilosis*,  
*C. glabrata*

**T2 Bacteria:**

*E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*,  
*A. baumannii*, *P. aeruginosa*  
*E. coli*

**Előnyük:**

**Alacsonyabb mortalitás:** (odds ratio, 0.66)

- Csak akkor, ha volt AMS is!

- csak Gram-negatív és Gram-pozitív bakteriális fertőzésekben, fungémiában nem!

Hatékony atb terápia indításig eltelt idő rövidebb (átlagos különbség: 5.03 h)

Rövidebb kórházi tartózkodás (átlagos különbség: 2.48 nap)

Timbrook TT et al. The effect of molecular rapid diagnostic testing on clinical outcomes in bloodstream infections: a systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis 2017

# Kereskedelmi forgalomban kapható molekuláris alapú rendszerek elérhetősége folyamatosan bővül

**TABLE 2.** Characteristics of the commercially available systems for the identification of microbes from positive blood cultures

| System (Manufacturer)                                                 | Methods                    | Time to result | Microorganism coverage                                                                                                                                      | Resistance and virulence markers                               | Sensitivity Specificity Correlation with conventional methods (%) |
|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| <b>PNA FISH and QuickFISH</b><br>(AdvanDx, Woburn, MA, USA)           | FISH                       | <1–3 hours     | 4 Gram positive<br>4 Gram negative<br>5 Fungi                                                                                                               | 0                                                              | 97–100<br>90–100<br>96–99                                         |
| <b>AccuProbe</b><br>(Gen-Probe, San Diego, CA, USA)                   | FISH                       | <1 hour        | <i>Staphylococcus aureus</i><br><i>Enterococcus</i> spp.<br><i>Streptococcus pneumoniae</i><br><i>Streptococcus</i> group A<br><i>Streptococcus</i> group B | 0                                                              | 80.8–100<br>98.7–100<br>nr                                        |
| <b>Verigene</b><br>(Nanosphere, Northbrook, IL, USA)                  | Microarray                 | 2.5 hours      | 12 Gram positive<br>9 Gram negative                                                                                                                         | <i>mecA</i> , <i>vanA/B</i> , KPC, NDM, CTX-M, VIM, IMP, OXA12 | 81–100<br>98–100<br>nr                                            |
| <b>Prove-it Sepsis</b> (Mobidiag, Esbo, Finland)                      | Microarray                 | 3.5 hours      | 60 bacteria<br>13 fungi                                                                                                                                     | <i>mecA</i>                                                    | 95%<br>99%<br>nr                                                  |
| <b>FilmArray</b><br>(Idaho Technology, Salt Lake City, UT, USA)       | Multiplex PCR              | 1 hour         | 8 Gram positive<br>11 Gram negative<br>5 Fungi                                                                                                              | <i>mecA</i> , <i>vanA/B</i> , KPC                              | 97–95<br>91–98<br>nr                                              |
| <b>Xpert MRSA/SA BC</b><br>(Cepheid, Sunnyvale, CA, USA)              | Real-time PCR              | 1 hour         | <i>S. aureus</i>                                                                                                                                            | <i>mecA</i>                                                    | 100<br>99–100<br>nr                                               |
| <b>StaphSR assay</b><br>(BD GeneOhm, San Diego, CA, USA)              | Multiplex PCR              | 1–2 hours      | <i>S. aureus</i>                                                                                                                                            | <i>mecA</i>                                                    | 96–100<br>95–98<br>nr                                             |
| <b>StaphPlex</b><br>(Genaco Biomedical Products, Huntsville, AL, USA) | Multiplex PCR + Microarray | 5 hours        | <i>S. aureus</i>                                                                                                                                            | <i>mecA</i> (+ PVL)                                            | 100<br>95–100<br>92                                               |

FDA engedélyezett:

Biofire BCID (2013)

Verigene Gram pozitív (2012); Gram negatív (2014)

Accelerate Pheno System: gélelektroforézis+FISH

- 7 h-n belül fenotípusos AST



## Narrative review

Contaminants in blood cultures: importance, implications, interpretation and prevention<sup>☆</sup>

S. Dargère<sup>1, \*</sup>, H. Cormier<sup>1</sup>, R. Verdon<sup>1, 2</sup>

HK pozitivitás: 0,6-17%

Kontamináció: környezet, beteg, mintavevő flórája

**Mi a kontamináció definíciója?** Amerikai Patológusok Kollégiuma: (SSS) CNS, *Micrococcus* spp., viridans group streptococci, *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium* spp. És *Bacillus* spp 1/1, 1 /2,3

**Pontos identifikálás segít!** *Cutibacterium* spp., CNS, *Corynebacterium jeikeum* is lehet valós patogén

**Pozitív hemokultúrák száma:** PPV 50% 1/1, 20 % 1 /2, 5% 1 /3; 98% 2/2, 90 % 2 /3 (10-30 %ban 1 hemokultúra palack vétele történik)

**Fertőzésnek van-e forrása?**

**SSS vagy MSS jobb?** Valós patogének megtalálása v. kontamináció megítélése

**Set-en belüli palackok pozitivitásának száma:** CNS valós kórokozó PPV 3.5%, 61%, 78.9% és 100%, ha 1,2,3,4 palackból ua.

**20 h inkubációs idő pozitívvá válás felülvizsgálandó!**

**Fenotipizálás, genotipizálás, új, molekuláris technikák: értékelésük szükséges**

**Kontamináció megelőzése szükséges!**

**Célérték: < 3%**

2017-ig pubmedből publikációk átnézése.  
Kulcsszavak: ‘contaminants,’ ‘blood culture contamination,’ ‘blood cultures’ ‘coagulase negative staphylococci AND bacteraemia.’



## Narrative Review

How to: accreditation of blood cultures' proceedings. A clinical microbiology approach for adding value to patient care

B. Lamy<sup>1, 2, 3, \*</sup>, A. Ferroni<sup>4</sup>, C. Henning<sup>5</sup>, C. Cattoen<sup>6</sup>, P. Laudat<sup>7</sup>

## SE 2018: ITO-kon kezelt betegek alsó légúti mintáiból izolált baktériumok (%)

### Melyek voltak a **leggyakrabban izolált** baktériumok?

- ***P.aeruginosa*** **24 %** (2017: 19%)
- ***Klebsiella spp.*** **14 %** (2017: 13%)
- ***S. aureus*** **11 %** (2017: 14%)
- ***Enterobacter spp.*** **10 %** (2017: 8%)
- ***S. maltophilia*** **8 %** (2017: 6%)
- ***Escherichia coli*** **7%** (2017: 7%)
- ***Egyéb NF*** **4 %** (2017: 6%)
- ***A. baumannii*** **4 %** (2017: 5%)
- ***S. marcescens*** **4 %**
- ***S. pneumoniae*** **4 %**
- ***H. influenzae*** **4 %**
- ***Proteus spp.*** **4 %**

**Table 2 Microbiology grouped by HCAP, HAP, and VAP<sup>a</sup>**

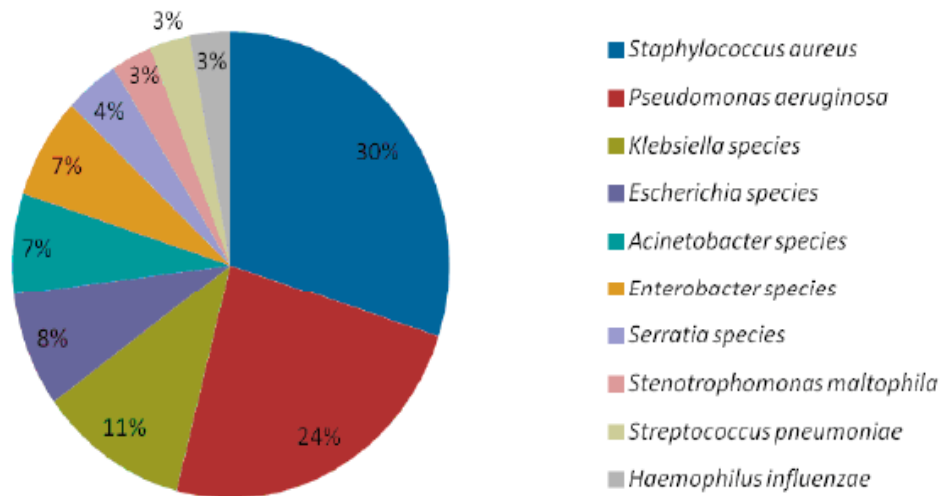
| Microbiology                        | HCAP               | HAP                | VAP                |
|-------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                                     | (n = 199)<br>n (%) | (n = 379)<br>n (%) | (n = 606)<br>n (%) |
| Gram-positive pathogens             | 117 (58.8)         | 226 (59.6)         | 441 (72.8)         |
| MRSA                                | 82 (41.2)          | 125 (33.0)         | 259 (42.7)         |
| MSSA                                | 12 (6.0)           | 51 (13.5)          | 107 (17.7)         |
| <i>Pneumococcus</i>                 | 4 (2.0)            | 10 (2.6)           | 15 (2.5)           |
| Other <i>Streptococcus</i> spp.     | 7 (3.5)            | 15 (4.0)           | 18 (3.0)           |
| Gram-negative pathogens             | 53 (26.6)          | 113 (29.8)         | 222 (36.6)         |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>       | 22 (11.1)          | 28 (7.4)           | 57 (9.4)           |
| <i>Acinetobacter</i> spp.           | 8 (4.0)            | 16 (4.2)           | 44 (7.3)           |
| <i>Haemophilus</i> spp.             | 6 (3.0)            | 5 (1.3)            | 23 (3.8)           |
| <i>Moraxella catarrhalis</i>        | 4 (2.0)            | 1 (0.3)            | 2 (0.3)            |
| <i>Klebsiella</i> spp.              | 5 (2.5)            | 32 (8.4)           | 41 (6.8)           |
| <i>Escherichia coli</i>             | 10 (5.0)           | 19 (5.0)           | 17 (2.8)           |
| <i>Enterobacter</i> spp.            | 3 (1.5)            | 15 (4.0)           | 31 (5.1)           |
| <i>Proteus mirabilis</i>            | 1 (0.5)            | 8 (2.1)            | 13 (2.1)           |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 0 (0)              | 2 (0.5)            | 13 (2.1)           |
| Polymicrobial                       | 111 (55.8)         | 191 (50.4)         | 387 (63.9)         |
| Culture negative                    | 50 (25.1)          | 101 (26.6)         | 79 (13.0)          |
| Bacteremia                          | 28 (14.1)          | 49 (12.9)          | 103 (17.0)         |

### IDSA irányelv

24 vizsgálat (2000 után publikált) meta analízise (É-Amerika, Európa, Ázsia)

- Nem-fermentálók 19% [95% CI, 15%–24%]
- *Pseudomonas species* 13% [95% CI, 10%–17%]
- *Acinetobacter species* 4% [95% CI, 2%–6%],
- Gram-negatív bélbaktériumok 16% [95% CI, 13%–20%]
- *S. aureus* 16% [95% CI, 12%–21%]
  - MRSA 10% ; MSSA 6%

Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society CID 2016:63



Korai – 4. napig

- *S.pneumoniae*
- MSSA
- *H.influenzae*
- anaerobok

Késői - > 5nap

- MRSA
- *Enterobacteriaceae*
- NF
- polimikróbás

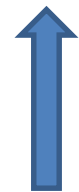
Figure 2. The most commonly identified pathogens in patients with Hospital-Acquired Pneumonia HABP/VABP (SENTRY Study).

HAP/VAP jelentkezésekor:

- Megelőző 90 napban iv. atb. kezelés
- septicus sokk
- ARDS
- 5 v. több napos hospitalizáció
- Dialízis kezelés



Multirezisztens  
kórokozók  
valószínűsége



Polimikróbás: nem krónikus szívbetegnél  
pleurális effúzió

ESBL, MRSA, PRSP  
MRPAE, MACI, MRST  
CRE

**Table 1. Frequency of different ESKAPE pathogens in ventilator-associated pneumonia in different geographical locations**

|                               | SENTRY [4*]                              |                                            | ENVIN [7]<br>Spain (%)<br>n = 788 | Sandiumenge <i>et al.</i> [8**]<br>Tarragona (%)<br>n = 157 |
|-------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------|
|                               | All regions (%)<br>n = 7496 <sup>a</sup> | United States (%)<br>n = 2585 <sup>a</sup> |                                   |                                                             |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | 19.5                                     | 31.9                                       | 17.1                              | 29.6                                                        |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 26.6                                     | 21.4                                       | 17.3                              | 19.7                                                        |
| <i>Enterobacter</i> spp.      | 7.0                                      | 8.8                                        | 6.9                               | 1.3                                                         |
| <i>Klebsiella</i> spp.        | 10.2                                     | 6.6                                        | 7.8                               | 6.4                                                         |
| <i>Serratia</i> spp.          | 4.1                                      | 6.5                                        | 4.0                               | 0.0                                                         |
| <i>Acinetobacter</i> spp.     | 14.3                                     | 5.3                                        | 9.2                               | 8.9                                                         |

<sup>a</sup>Number of total hospital-acquired pneumonia and VAP cases.

**Table 3. Drug resistance in the ESKAPE pathogens causing hospital-acquired bacterial pneumonia and ventilator-associated pneumonia in different parts of the world**

|                                | Antimicrobials with more than 5% increase in resistance                                     | Antimicrobials with more than 10% increase in resistance |
|--------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| <b>North America</b>           |                                                                                             |                                                          |
| <i>Staphylococcus aureus</i>   | –                                                                                           | –                                                        |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>   | Cefepime, ceftazidime, meropenem, doripenem                                                 | Levofloxacin                                             |
| <i>Escherichia coli</i>        | Piperacillin–tazobactam                                                                     |                                                          |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | Levofloxacin, cefepime                                                                      | Meropenem, doripenem                                     |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  | Meropenem                                                                                   |                                                          |
| <i>Enterobacter</i> spp.       |                                                                                             |                                                          |
| <b>Europe</b>                  |                                                                                             |                                                          |
| <i>S. aureus</i>               |                                                                                             |                                                          |
| <i>K. pneumoniae</i>           | Levofloxacin, cefepime, ceftazidime                                                         |                                                          |
| <i>E. coli</i>                 | Gentamicin, levofloxacin, cefepime, ceftazidime, piperacillin–tazobactam                    |                                                          |
| <i>A. baumannii</i>            | Gentamicin, levofloxacin, ceftazidime, piperacillin–tazobactam, doripenem                   |                                                          |
| <i>P. aeruginosa</i>           | –                                                                                           |                                                          |
| <i>Enterobacter</i> spp.       | Levofloxacin                                                                                |                                                          |
| <b>Latin America</b>           |                                                                                             |                                                          |
| <i>S. aureus</i>               | Oxacillin, gentamicin, cefepime, ceftazidime, piperacillin–tazobactam, meropenem, doripenem |                                                          |
| <i>K. pneumoniae</i>           | Levofloxacin, ceftazidime                                                                   | Gentamicin, cefepime, piperacillin–tazobactam            |
| <i>E. coli</i>                 |                                                                                             |                                                          |
| <i>A. baumannii</i>            | Levofloxacin, ceftazidime                                                                   | Piperacillin–tazobactam, meropenem, doripenem            |
| <i>P. aeruginosa</i>           |                                                                                             |                                                          |
| <i>Enterobacter</i> spp.       | Levofloxacin                                                                                | Ceftazidime                                              |

# SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2004-2008)

=> VAP: > 80 %  
 „ESKAPE” mikrobák  
*(Enterococcus faecium)*  
*Staphylococcus aureus*,  
*Klebsiella pneumoniae*,  
*Acinetobacter baumannii*,  
*Pseudomonas aeruginosa*  
*Enterobacter species*

=> Évente általános1 % rezisztencia növekedés

Geográfiai különbségek!  
 - Szerzők 157 betegénél 20 %-ban voltak MDR-ek

=> AMS!

Sandiumenge A and Rello J: Ventilator-associated pneumonia caused by ESKAPE organisms: cause, clinical features, and management; Curr Opin Pulm Med (2012)

## National Healthcare Safety Network (NHSN)

- Surveillance vizsgálat USA, 2009–2010

- **VAP:**

– 20%–40% *Enterobacterales*

– 20-30% *S. aureus*, =>

– 10-20% *P. aeruginosa* =>

– 5%–10% *A. baumannii* =>

- **VAP során izolált mikrobák AST:**

MRSA: 48,4%

Cefepim R: 28%–35%

Karbapenem R: 25-35%

Piperacillin/tazobactam R: 19%–29%

Karbapenem R: 56%–61%

Sievert DM, et al. et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010. Infect Control Hosp Epidemiol 2013;34(1):1–14.

## Francia VAP surveillance vizsgálat, 2007-2014

- 256 intenzív ágy (134,510 beteg)

- VAP csökkenés

- MRSA csökken

- *Enterobacterales* szerepe stagnál

- Cefalosporin rezisztencia nő

- (nagyon) idősök körében csökken, pedig számuk emelkedik

- “how do we know for certain that a patient has VAP?”

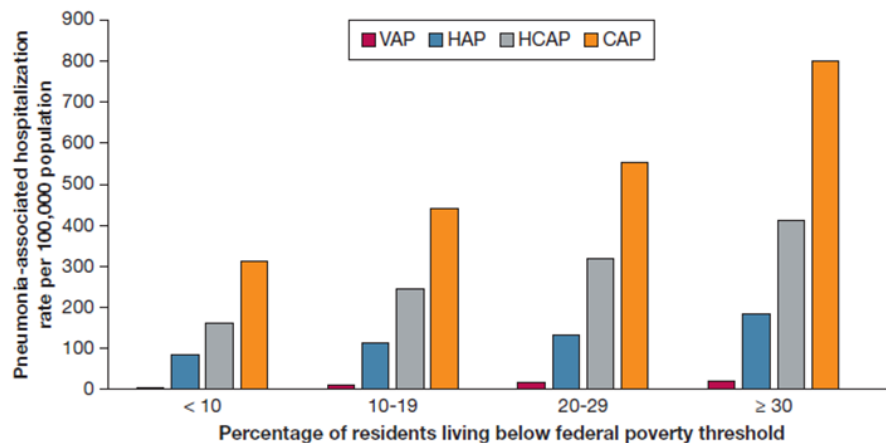


Figure 2 – Mean annual age-adjusted, pneumonia-associated hospitalization rates by area-based poverty level and pneumonia category, New York City, 2010 to 2014. CAP = community-acquired pneumonia; HAP = hospital-acquired pneumonia; HCAP = health-care-associated pneumonia; VAP = ventilator-associated pneumonia.

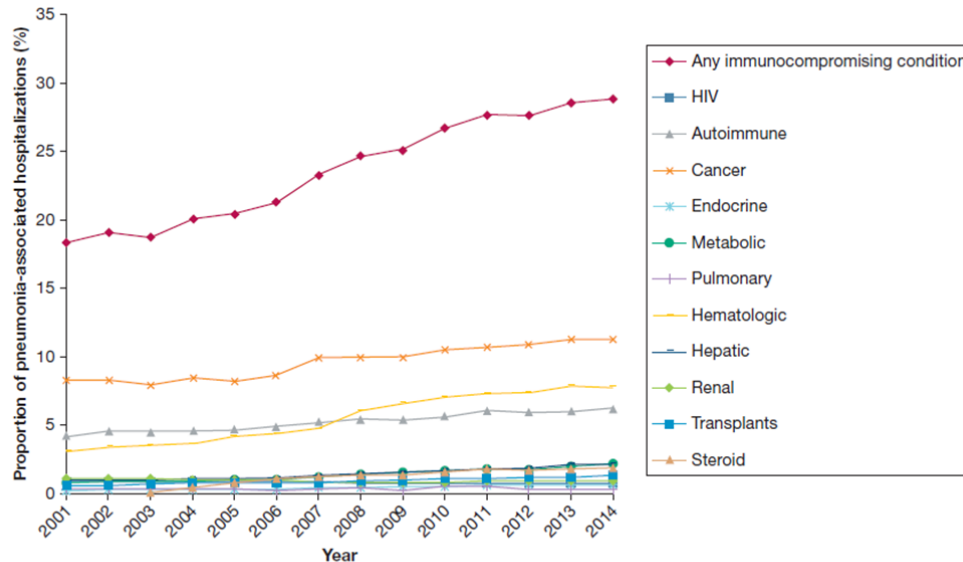


Figure 2 – Proportion of pneumonia-associated hospitalizations colisting an immunocompromising condition: United States, 2001-2014.

- Lényeges különbség van a CAP, HCAP és a VAP/HAP megelőzése és terápiája között

- CAP/HCAP:

- általában atb.érzékeny mikrobák okozzák,
- vakcinációval megelőzhetőek,
- antivirális szert igényelnek,
- krónikus betegségek karbantartásával megelőzhetőek

**VAP/HAP: multirezisztens baktériumok!**

Idős kor:

Alacsony incidencia VAP-ra, de legmagasabb halálozási arány:21.6%

Immunkomprimáltak száma nő

Burden of Adult Community-acquired, Health-care-Associated, Hospital-Acquired, and Ventilator-Associated Pneumonia New York City, 2010 to 2014

Rachel E. Corrado, CHEST 2017; 152(5):930-942

Burden of Pneumonia-Associated Hospitalizations: United States, 2001-2014.

A M. Fry, N M. Vora, CHEST 2018; 153(2):427-437

# Mi a mikrobiológiai laboratórium szerepe?

=> Bakteriális fertőzés kórokozóinak ID&AST

/Terápia az ajánlások alapján, publikált adatok alapján

De: önmagában nem elégséges, különböző földrajzi területeken, különböző profilú osztályokon más a kórokozó spektrum, más lehet az atb. rezisztencia/

=> Szükséges a helyi epidemiológiai adatok beépítése

Ajánlások: a rezisztencia terjedésének megelőzésére számos tartalmaz deescalatio-ra vonatkozó adatot

– ehhez szükséges a gyors mikrobiológiai dg. (minél hamarabb AST, rapid tesztek)

- Surveillance minták
- biomarkerek vizsgálata

Nemzeti/nemzetközi adatbázis a multirezisztensek által okozott fertőzésekről (mikrobiológiai és klinikai adatok!)

# Mikrobiológiai vizsgálatok → nemzetközi, hazai ajánlások figyelembevétele

## Mi az optimális minta?

Table 1. Samples and Diagnostic Testing in Pneumonia.

| Condition of Pneumonia                                                       | Blood Cultures | Respiratory Samples                                                                      | Urinary Antigen Test for Legionella/ Pneumococcus | Comments                                                                    |
|------------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| Outpatient                                                                   |                | Sputum culture                                                                           |                                                   | Serology test when pathogens are suspected through epidemiological evidence |
| Hospitalized patients (ward)                                                 | ×              | ×                                                                                        | ×                                                 | Influenza test during influenza season                                      |
| Hospitalized patients admitted to ICU                                        | ×              | BAL/BAS in intubated patients                                                            | ×                                                 | Serology test when pathogens are suspected through epidemiological evidence |
| Failure of outpatient antibiotic treatment                                   |                | Sputum culture                                                                           | ×                                                 | Serology for intracellular pathogens                                        |
| CAP cases who do not respond to treatment or suspicion of uncommon pathogens | ×              | BAL Mycobacterial and mycological culture<br>Nasopharyngeal swab for respiratory viruses |                                                   |                                                                             |
| Hospital acquired pneumonia                                                  | ×              | ×                                                                                        | ×                                                 | Influenza test during influenza season                                      |
| Ventilator associated pneumonia                                              | ×              | BAS/BAL/mini BAL                                                                         | ×                                                 |                                                                             |

Abbreviations: BAL (bronchoalveolar lavage); BAS (bronchoaspirate); ICU (intensive care unit); CAP (community-acquired pneumonia) [3,53].

## Milyen légúti minta?

### Guideline-ok

- Javasolt minta VAP diagnosztikájára:
  - **non-invazív minta** (köpet, indukált köpet, légúti leszívás, ETA) **szemikvantitatív tenyésztése** („kvázi” surveillance)
  - inkább, mint az invazív minta (BAL, PSB, mini-BAL) kvantitatív tenyésztése,
  - inkább, mint a non-invazív minták kvantitatív tenyésztése

=> **AST jelentősége**

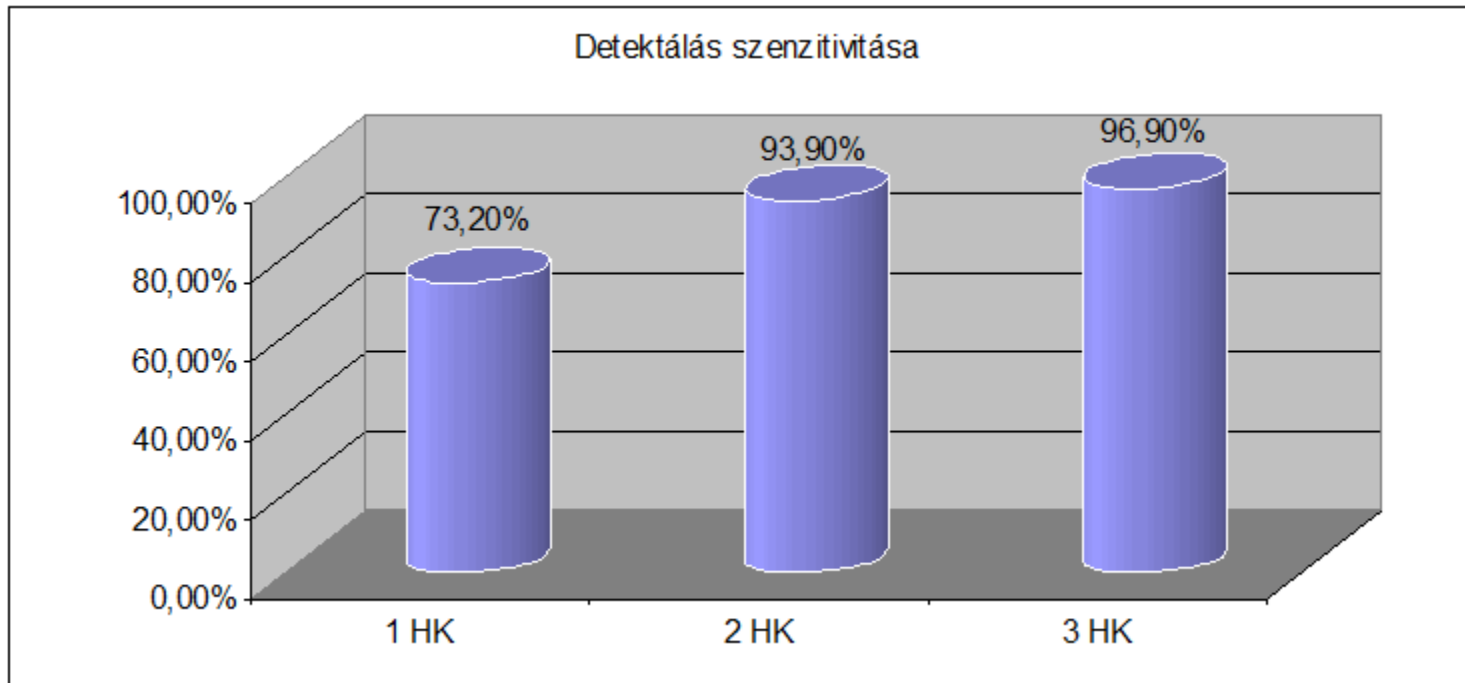
=> **Multirezisztens mikrobák vizsgálatának jelentősége**

## Milyen mikrobiológiai eredmények szükségesek a terápiához?

### Guideline-ok

- HAP (nem-VAP) kezelése a non-invazív légúti minták eredményei alapján, és nem empirikusan
- VAP empirikus terápia alapja: a lokális adatok (optimálisan osztály-specifikus, VAP-specifikus)
- HAP empirikus terápia alapja: a lokális adatok (optimálisan osztály-specifikus, HAP-specifikus)
- Patogén-specifikus ajánlások ~ antibiogram alapján
  - MRSA
  - *P. aeruginosa*: antibiogram alapján
  - ESBL: antibiogram alapján
  - *A. baumannii*
  - CRE

# Hemokultúra



Weinstein et al. Detection of bloodstream infection in adults: How many blood cultures are needed J Clin Microbiol 2007; 45:3546-3548

## VAP:

- betegek 10-15%-a bakterémiás (magasabb mortalitás, morbiditás)
- pozitív esetek 25%-ában nem légúti eredetű!

## HAP:

Betegek <10 %-a bakterémiás

- még kevesebb adat

⇒ terápia  
optimalizálása  
⇒ deeszkaláció

# Identifikálás alsó-légúti mintákból?

## Gram-festett kenet: (30 perc)

**Citológiai értékelés** (FVS, LHS, bronchus-hámsejtek)

**Bakteriológiai értékelés** (Gram negatív/pozitív, morfológia)

**Szenzitivitás:** ( $10^3$ ),  $10^4$  CFU/ml

Felső-légúti kontamináció!

Antibiotikum-kezelés!

## Identifikálásra vonatkozó adatok:

**Szenzitivitás : 0.79; Specificitás : 0.75**

**NPV : 91%; PPV : 40%**

Tenyésztés = kenet

Cohen's Kappa statistic ( $\kappa$ ); 0.31–0.60 mérsékelt egyezés)

**Gram-pozitív baktérium => 0.42**

(*Staphylococcusok*)

Gram-negatív baktérium => 0,34



## Tenyésztés: (24-48/...h)+ ID

**Kvantitatív eredmény +/- kontamináció kérdése**

**Köpet (ET):**  $> 10^5$  ( $10^7$ ) CFU/ml

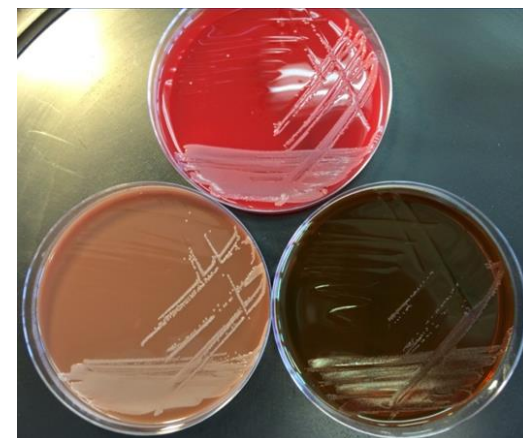
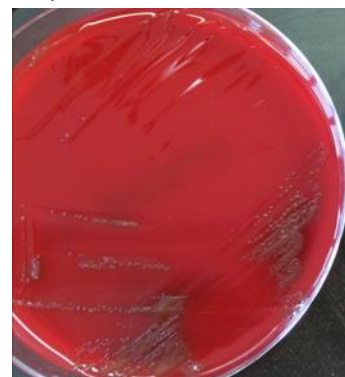
**BAL :**  $\geq 10^4$  CFU/ml

**PSB :**  $\geq 10^3$  CFU/ml

**Befolyásoló tényezők:**

Antibiotikum-terápia

Mikrobák biológiai tulajdonságai

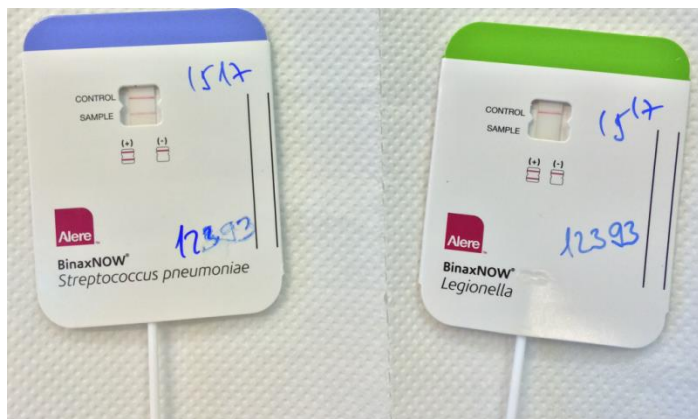


Is the Gram Stain Useful in the Microbiologic Diagnosis of VAP? A Meta-analysis (O'Horo et al. CID 2012)

# *Streptococcus pneumoniae*

## vizeletből

- Szenzitivitás: 36-86%
- Specificitás: 89-95 %
- Negatív eredmény nem zárja ki a fertőzést
- < 5 év nem javasolt (hordozó)
- Atb.kezeltekre nem validáltak a tesztek (3 napig +?)



# *Legionella pneumophila*

## 1.szerotípus - vizeletből

- Szenzitivitás: 55.5-66.6% - 86.6-91.6% (cf. vizelet)
- Specificitás: > 99 %
- Negatív eredmény nem zárja ki a fertőzést
- A betegek 80 %-ánál lesz a vizeletben excretált Ag
- Első 5 nap negatív lehet! – ismételts harmadik napon a szenzitivitást 10%-al növeli
- Adekvát terápia mellett/után is napokig/hetekig pozitív lehet (~ 2hét)
- Pozitív eredmény = jelenlegi fertőzés (nem biztosan akut)

⇒ Értékeléskor „Gold standard”: tenyésztés  
⇒ Antibiotikum kezelés az eredményt befolyásolja

# Légúti minták molekuláris vizsgálati lehetőségei

Számos egyedi, részben multiplex rendszerek

- *Influenza A,B +/- RSV*,
- *S. pyogenes*
- *Mycobacterium tuberculosis* (+/- rifampicin R)



Influenzavírus detektálási lehetőségei:

- Tenyésztés
- Antigénkimutatás:
  - Immunkromatográfia
    - 90-95%-os specifikitás,
    - 40-70%-os szenzitivitás
  - IF:(szenzitivitás:50->90%)
- Antitest vizsgálatok
- PCR (változatos szenzitivitás) – rövid idő: 20perc-1h



Költségelemzések, hasznosságot vizsgáló irodalmi adatok főleg Influenza vírusok, RSV, Parainfluenza 1,3-al kapcsolatban vannak:

- **Beteg izolálás ideje csökken**
- **Kórházi tartózkodás ideje csökken** (5,7 nap/6,7 nap)
- **Antivirális szer használata nő** (91%/65%)
- **Felesleges atb. kezelés mértéke csökken** (Brendish et al. 2017)
- *Klinikusra hatás „fullfilment and closure”*

# Légúti minták multiplex molekuláris vizsgálati lehetőségei

TABLE 3 FDA-approved/cleared multiplex respiratory panels<sup>a</sup>

| Parameter                                                          | FilmArray                           | Verigene        | x-TAG RVP       | x-TAG RVP Fast  | NxTAG-RPP      | eSensor RVP                            | ePlex        |
|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------------------------------|--------------|
| Analysis platform                                                  | FilmArray system or FilmArray Torch | Verigene system | Luminex 100/200 | Luminex 100/200 | Luminex Magpix | eSensor                                | ePlex system |
| No. of targets                                                     | 20                                  | 16              | 12              | 8               | 20             | 14                                     | 17           |
| Ability to detect pathogen                                         |                                     |                 |                 |                 |                |                                        |              |
| Viruses                                                            |                                     |                 |                 |                 |                |                                        |              |
| Adenovirus                                                         | ✓                                   | ✓               | ✓               | ✓               | ✓              | ✓ (differentiates subgroup B/E from C) | ✓            |
| Coronavirus                                                        |                                     |                 |                 |                 |                |                                        | ✓            |
| Coronavirus HKU1                                                   | ✓                                   |                 |                 |                 | ✓              |                                        |              |
| Coronavirus NL63                                                   | ✓                                   |                 |                 |                 | ✓              |                                        |              |
| Coronavirus 229E                                                   | ✓                                   |                 |                 |                 | ✓              |                                        |              |
| Coronavirus OC43                                                   | ✓                                   |                 |                 |                 | ✓              |                                        |              |
| Human bocavirus                                                    |                                     |                 |                 |                 | ✓              |                                        |              |
| Human metapneumovirus                                              | ✓                                   | ✓               | ✓               | ✓               |                | ✓                                      | ✓            |
| Influenza A virus                                                  | ✓                                   | ✓               | ✓               | ✓               | ✓              | ✓                                      | ✓            |
| Subtype H1                                                         | ✓                                   | ✓               | ✓               | ✓               | ✓              | ✓                                      | ✓            |
| Subtype H3                                                         | ✓                                   | ✓               | ✓               | ✓               | ✓              | ✓                                      | ✓            |
| Subtype 2009 H1N1                                                  | ✓                                   |                 |                 |                 | ✓              | ✓                                      | ✓            |
| Influenza B virus                                                  | ✓                                   | ✓               | ✓               | ✓               | ✓              | ✓                                      | ✓            |
| Parainfluenza virus 1                                              | ✓                                   | ✓               | ✓               |                 | ✓              | ✓                                      | ✓            |
| Parainfluenza virus 2                                              | ✓                                   | ✓               | ✓               |                 | ✓              | ✓                                      | ✓            |
| Parainfluenza virus 3                                              | ✓                                   | ✓               | ✓               |                 | ✓              | ✓                                      | ✓            |
| Parainfluenza virus 4                                              | ✓                                   | ✓               |                 |                 | ✓              |                                        | ✓            |
| Respiratory syncytial virus                                        | ✓                                   |                 |                 | ✓               |                |                                        |              |
| Respiratory syncytial virus A                                      |                                     | ✓               | ✓               |                 | ✓              | ✓                                      | ✓            |
| Respiratory syncytial virus B                                      |                                     | ✓               | ✓               |                 | ✓              | ✓                                      | ✓            |
| Rhinovirus/enterovirus                                             | ✓                                   | ✓               | ✓               | ✓               | ✓              | ✓                                      | ✓            |
| Bacteria                                                           |                                     |                 |                 |                 |                |                                        |              |
| <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>                                   | ✓                                   |                 |                 |                 | ✓              |                                        | ✓            |
| <i>Mycoplasma pneumoniae</i>                                       | ✓                                   |                 |                 |                 | ✓              |                                        | ✓            |
| <i>Bordetella pertussis</i>                                        | ✓                                   | ✓               |                 |                 |                |                                        |              |
| <i>Bordetella parapertussis</i> - <i>Bordetella bronchiseptica</i> |                                     | ✓               |                 |                 |                |                                        |              |
| <i>Bordetella holmesii</i>                                         |                                     | ✓               |                 |                 |                |                                        |              |
| Time to result (h)                                                 | ~1                                  | ~2-3            | ~8              | ~6              | ~4             | ~6                                     | ~1.5         |

<sup>a</sup>The acceptable specimen type for all panels is a nasopharyngeal swab. RVP, respiratory virus panel; RPP, respiratory pathogen panel.

=> Vírusokra és „atípusos” baktériumokra célzottak

=> „Típusos” baktériumoknál

identifikálásra célzottak

- CAP kórokozóira

## Seegene Respiratory Panel 4 (n=287)

27 *S. pneumoniae* (10 esetben tenyésztett)

26 *H. influenzae*

5 *Legionella pneumophila* (1 esetben „melléklet” volt)

*Bordetella pertussis*: 2 eset

Több, mint egy kórokozó:

*L. pneumophila* + *H. influenzae*: 1 eset

*S. pneumoniae* + *H. influenzae*: 17 eset

*M. pneumoniae* + *H. influenzae*: 1 eset



### Panel 4CE-IVD Marked

- *Mycoplasma pneumoniae* (MP)
- *Chlamydomphila pneumoniae* (CP)
- *Legionella pneumophila* (LP)
- *Haemophilus influenzae* (HI)
- *Streptococcus pneumoniae* (SP)
- *Bordetella pertussis* (BP)
- *Bordetella parapertussis* (BPP)





## The FilmArray® Pneumonia Panel

Investigational Use Only

Sample Type: Sputum, Endotracheal Aspirate, and Bronchoalveolar Lavage

### 34 Targets in One Test

The FilmArray Pneumonia Panel will test for a comprehensive set of 27 pathogens and 7 antibiotic resistance markers. The FilmArray Pneumonia Panel will identify the most common bacterial, viral, and fungal pathogens associated with various types of community/hospital-acquired pneumonia. Quickly identifying the probable causative agent helps determine how a healthcare provider chooses to treat a lower respiratory tract infection.

### Panel Menu

#### Bacteria

##### Semi-Quantitative Bacteria

*Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex  
*Serratia marcescens*  
*Proteus* spp.  
*Klebsiella pneumoniae* group  
*Enterobacter aerogenes*  
*Enterobacter cloacae*  
*Escherichia coli*  
*Haemophilus influenzae*  
*Moraxella catarrhalis*  
*Pseudomonas aeruginosa*  
*Staphylococcus aureus*  
*Streptococcus pneumoniae*  
*Klebsiella oxytoca*  
*Streptococcus pyogenes*  
*Streptococcus agalactiae*

#### Atypical Bacteria

##### Qualitative Bacteria

*Legionella pneumophila*  
*Mycoplasma pneumoniae*  
*Chlamydia pneumoniae*

#### Viruses

Influenza A  
Influenza B  
Respiratory Syncytial Virus  
Human Rhinovirus/Enterovirus  
Human Metapneumovirus  
Parainfluenza virus  
Adenovirus  
Coronavirus  
Middle East Respiratory  
Syndrome Coronavirus

#### Antimicrobial

##### Resistance Genes

*mecA/C* and *MREJ*  
KPC  
NDM  
OXA48-like  
CTX-M  
VIM  
IMP

# Biztató újdonság!

| Result Summary                |                                                      |
|-------------------------------|------------------------------------------------------|
| Bacteria                      |                                                      |
| Not Detected                  | <i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex |
| Not Detected                  | <i>Chlamydia pneumoniae</i>                          |
| Not Detected                  | <i>Enterobacter aerogenes/cloacae</i> complex        |
| Not Detected                  | <i>Escherichia coli</i>                              |
| Not Detected                  | <i>Haemophilus influenzae</i>                        |
| Not Detected                  | <i>Klebsiella oxytoca</i>                            |
| Not Detected                  | <i>Klebsiella pneumoniae</i> group                   |
| Not Detected                  | <i>Legionella pneumophila</i>                        |
| Detected                      | <i>Moraxella catarrhalis</i> (>10 <sup>3</sup> )     |
| Not Detected                  | <i>Mycoplasma pneumoniae</i>                         |
| Not Detected                  | <i>Proteus</i> spp.                                  |
| Not Detected                  | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                        |
| Not Detected                  | <i>Serratia marcescens</i>                           |
| Not Detected                  | <i>Staphylococcus aureus</i>                         |
| Not Detected                  | <i>Streptococcus agalactiae</i>                      |
| Not Detected                  | <i>Streptococcus pneumoniae</i>                      |
| Not Detected                  | <i>Streptococcus pyogenes</i>                        |
| Viruses                       |                                                      |
| Not Detected                  | Adenovirus                                           |
| Not Detected                  | Coronavirus                                          |
| Not Detected                  | Human Metapneumovirus                                |
| Not Detected                  | Human Rhinovirus/Enterovirus                         |
| Not Detected                  | Influenza A                                          |
| Not Detected                  | Influenza B                                          |
| ↔                             | Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus         |
| Not Detected                  | Parainfluenza Virus                                  |
| Not Detected                  | Respiratory Syncytial Virus                          |
| Fungi                         |                                                      |
| Not Detected                  | <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>                |
| Not Detected                  | <i>Pneumocystis jirovecii</i>                        |
| Antibiotic Resistance Markers |                                                      |
| Detected                      | CTX-M                                                |
| N/A                           | IMP                                                  |
| N/A                           | KPC                                                  |
| N/A                           | <i>mecA/C</i> and <i>MREJ</i>                        |
| N/A                           | NDM                                                  |
| N/A                           | OXA-48-like                                          |
| N/A                           | VIM                                                  |

- **HAP** kórokozók kimutatási lehetősége is
- **Kvantitatív** eredmény a „típusos” baktériumoknál
- **Rezisztencia gének**
  - **ESBL** (CTX-M)
  - **Karbapenemáz** (IMP, KPC, NDM, VIM, OXA-48-like)
  - **MRSA** (*mecA/C* + *MREJ*)



## Mit várhat a klinikus a mikrobiológustól?

=> **Háttér  
biztosítása!**

Terápia az ajánlások alapján, publikált adatok alapján

- De! különböző földrajzi területeken, különböző profilú osztályokon más a kórokozó spektrum, más lehet az atb. rezisztencia

=> Szükséges a **helyi epidemiológiai** adatok ismerete

=> Kórokozó-spektrum

=> Rezisztencia tulajdonságok

=> **Nemzeti/nemzetközi adatbázis** ismerete a multi-rezisztensek által okozott fertőzésekről (mikrobiológiai és klinikai adatok!)

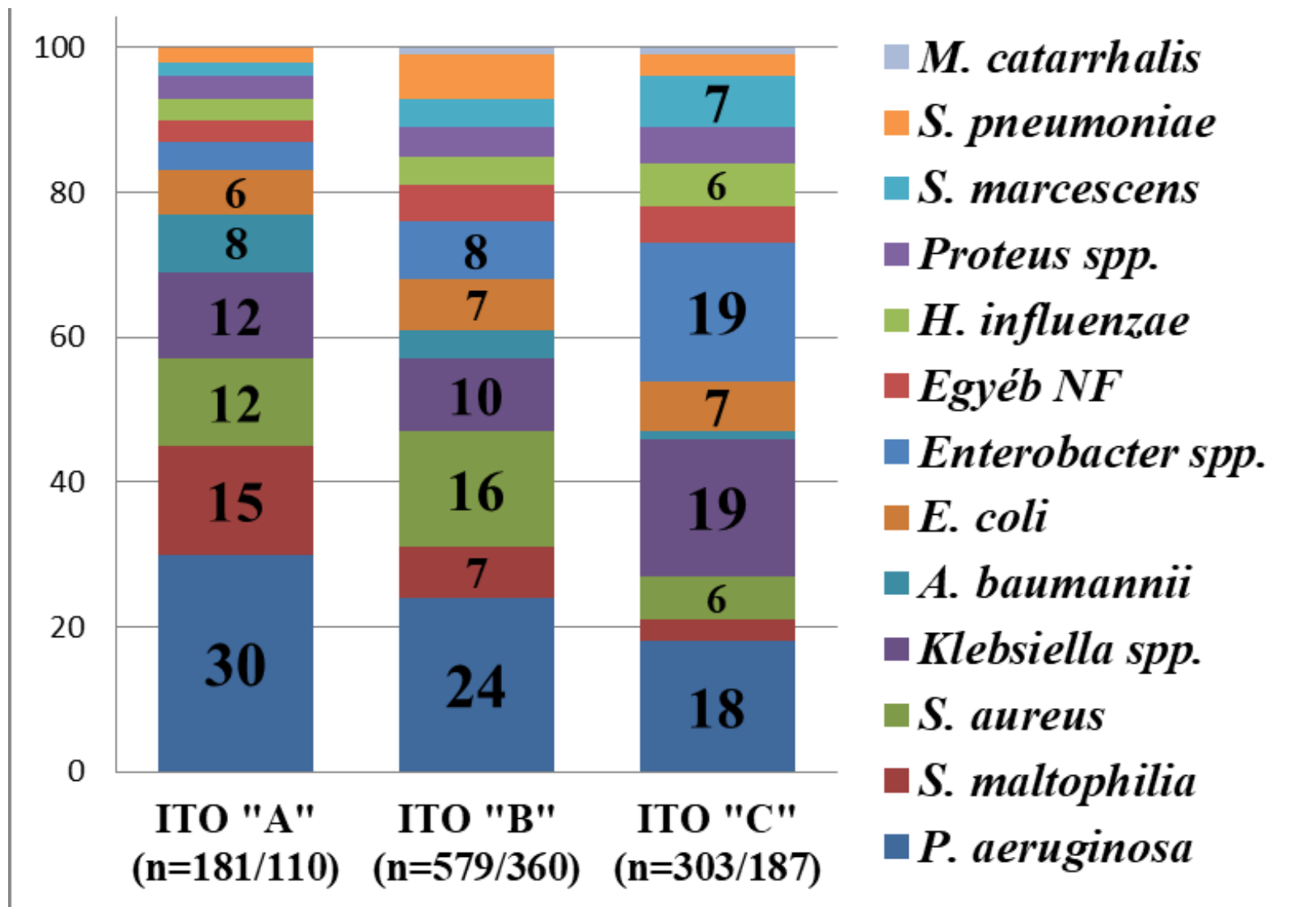
=> **Újonnán** bevezetésre kerülő lehetőségek elérhetőségének biztosítása

=> Diagnosztikai módszer

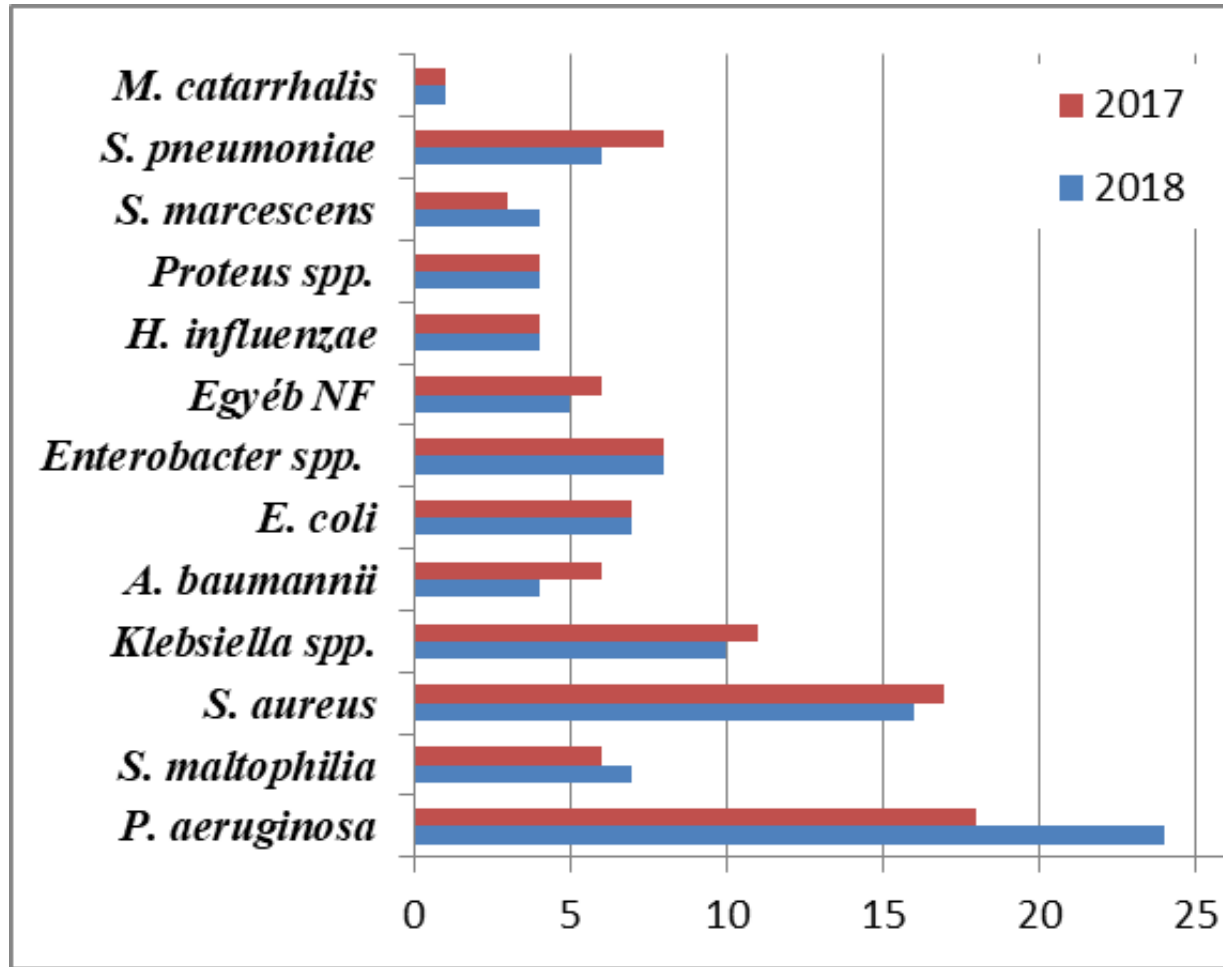
=> Új antimikrobás szer

=> **Surveillance minták** végzése, eredmények értékelése

## SE 2018: ITO-kon kezelt betegek alsó légúti mintáiból izolált baktériumok (%)



**SE 2018:** ITO-kon kezelt betegek alsó légúti mintáiból izolált baktériumok (%)  
Melyek a **leggyakoribb** baktériumok?



⇒ Nem egy állandó,  
hanem **állandóan**  
**változó képet**  
látunk!

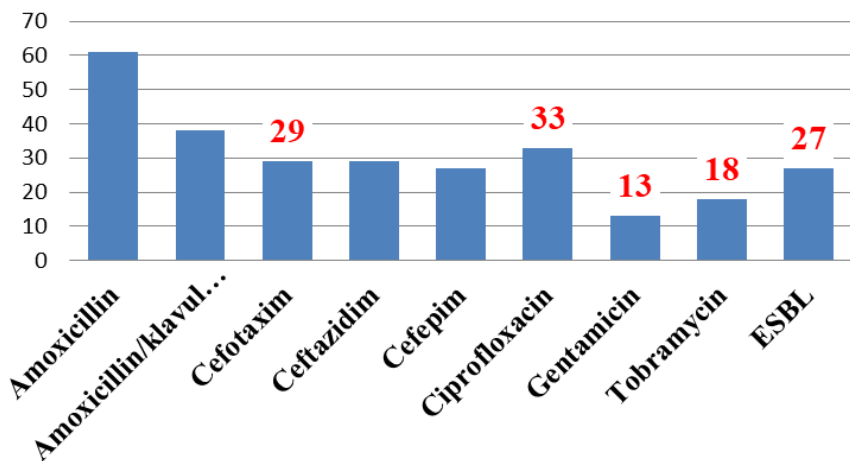
⇒ *Pseudomonas*  
*aeruginosa*  
jelentősége!

ITO „B”: légúti patogének izolálási gyakorisága %-  
ban

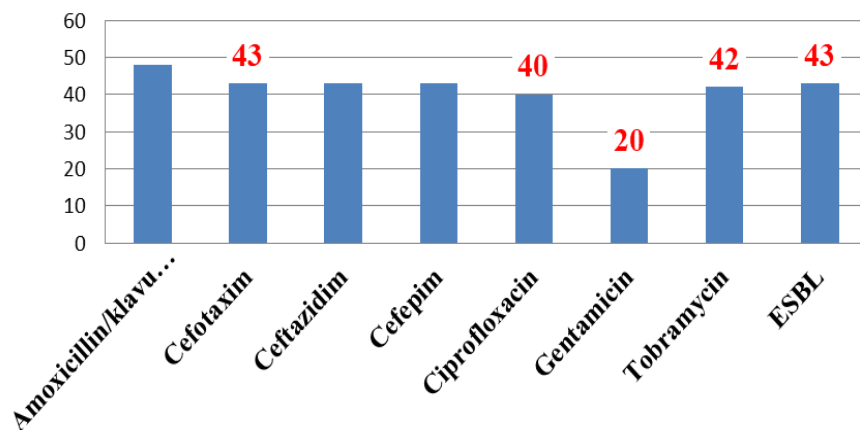
2017: 541 (343); 2018: 579 (360)

## SE 2018: ITO-kon kezelt betegek mintáiból izolált baktériumok rezisztenciája (%)

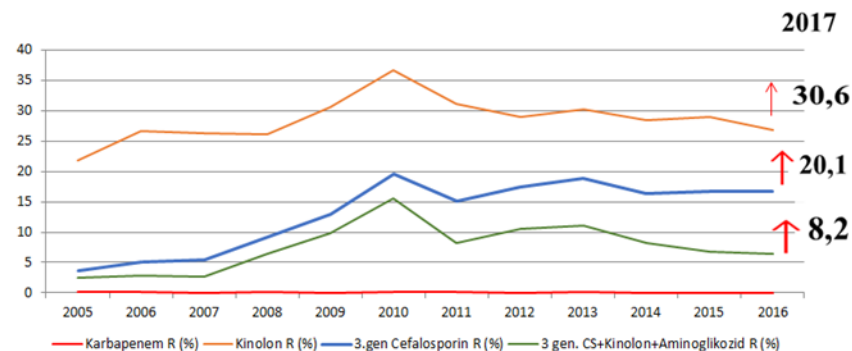
### *E. coli* atb. rezisztenciája (%) (n=211; 2018)



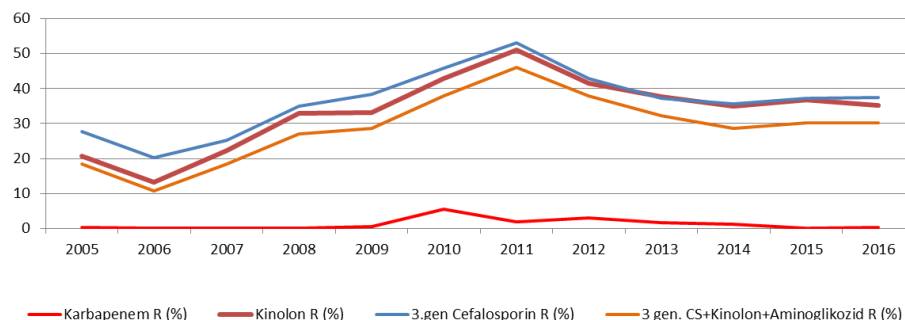
### *K. pneumoniae* atb. rezisztenciája (%) (n=153; 2018)



## EARS-NET hazai adatai



**NBS (2017): HK izolátumok 21 %-a 3CS R**

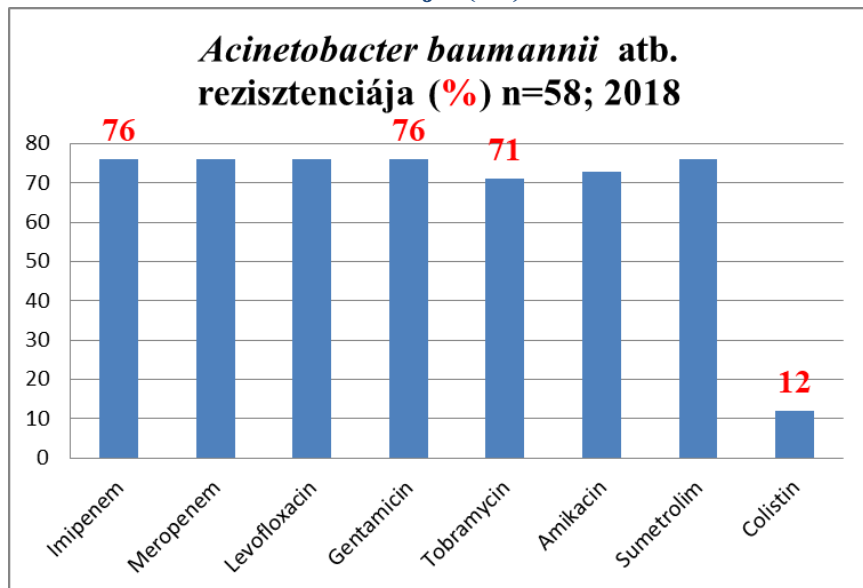


Európában (2014-2017):

Rezisztencia nem változott:

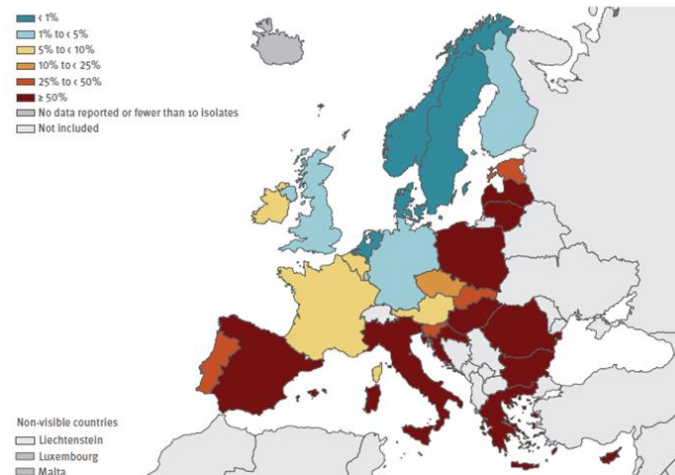
- FK – nálunk nőtt! 41.5%
- 3CS - nálunk nőtt! 41.1%
- AG – nálunk nőtt! 37.8 %
- Karbapenemekre
  - KPC, NDM, OXA-48 like, VIM
  - Nálunk csökkent!

## SE 2018: ITO-kon kezelt betegek mintáiból izolált baktériumok rezisztenciája (%)

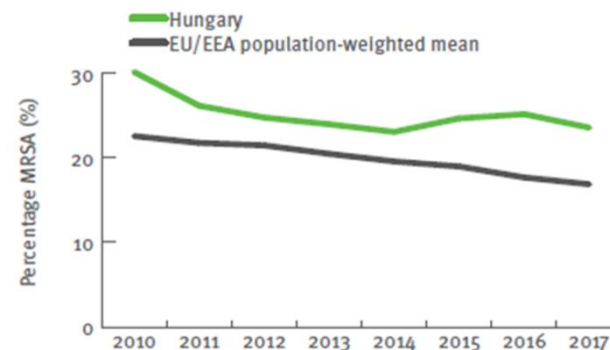


## EARS-NET hazai adatai

Figure 3.22. *Acinetobacter* spp. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to carbapenems, by country, EU/EEA countries, 2017

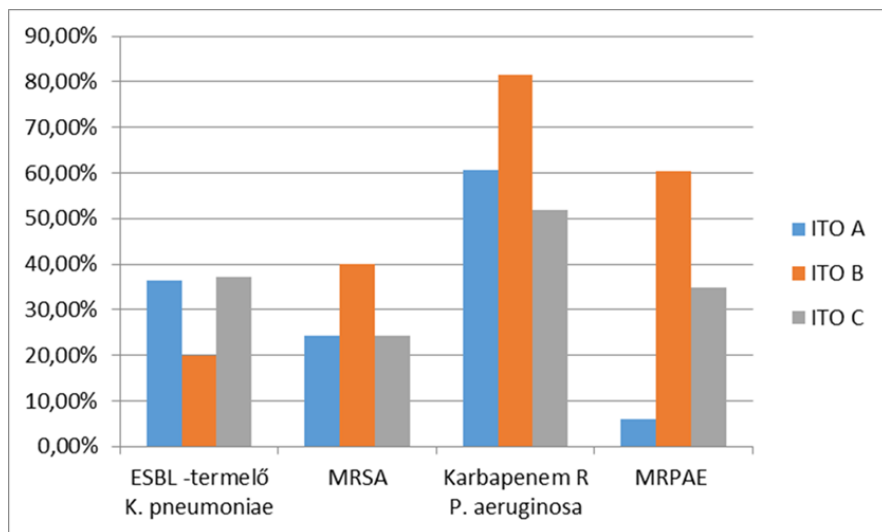


*Staphylococcus aureus*. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to methicillin (MRSA), Hungary and EU/EEA population-weighted mean, 2010–2017



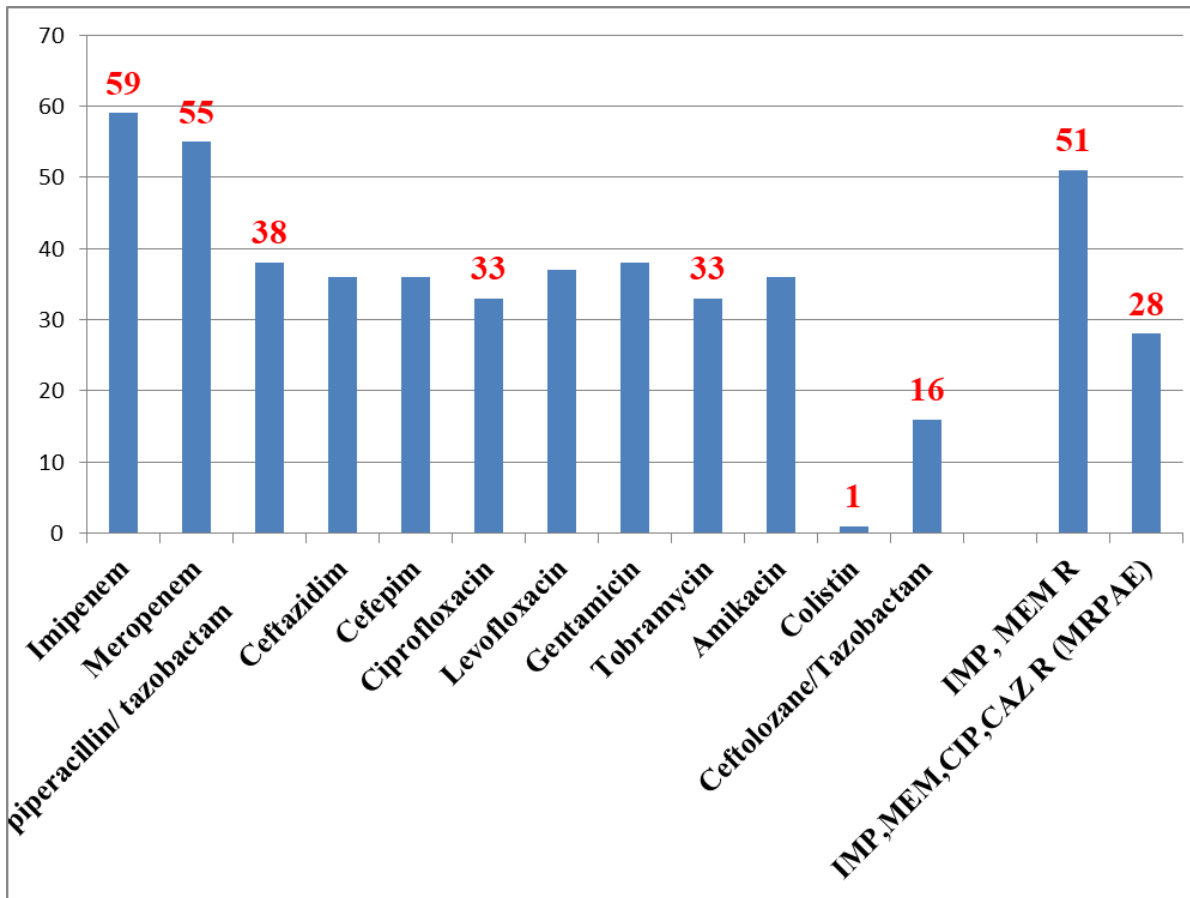
**2017: 23,6 % (az európai átlag:16,9)**

## *S. aureus* : 26 % MRSA



Alsólégúti mintákból izolált multirezisztens baktériumok (betegre tisztítva) – SE 2017

*Pseudomonas aeruginosa* izolátumok rezisztenciája (%)  
2018 – SE, ITO-k (n = 328 beteg)



Európában rezisztencia csökkenés

Hazai adatok: nem változott!

TZP: 24.3% (eu átl.18,3%)

FK: 23.4% (eu átl.20,3 %)

CAZ: 23.9% (eu átl.14.7%)

Karbapenemekre (eu átl.17,4%)

– nálunk emelkedés! 36,6%

NBS adatai szerint HK  
izolátumoknál  
**szignifikánsan emelkedett a  
karbapenem rezisztencia az  
utóbbi 4 évben**, de klonális terjedés  
nem volt a háttérben kimutatható

=> A *P. aeruginosa* antibiotikum rezisztencia  
mechanizmusai a legkevésbé kiszámíthatóak...

# Multirezisztens baktériumok mikrobiológiai azonosítása

**$\beta$ -laktám rezisztencia => 3 CS**

**Rezisztencia háttere**

- ESBL
- IRT
- **Kromoszomális/plazmidos *ampC* túltermelés (DHA)**

**Karbapenemáz-termelés**

**Efflux-mechanizmusok**

**Porin-defektusok**

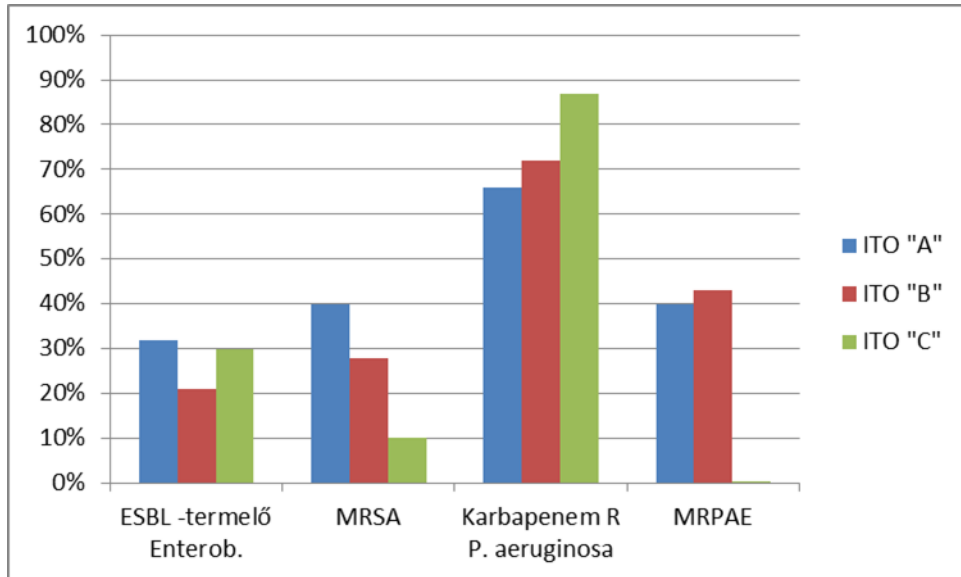
**Methicillin rezisztencia**

**Glikopeptid rezisztencia**

**MIÉRT FONTOS?**

**=> Biztonsággal milyen atb. lesz a legmegfelelőbb választás!**

- **AST** – 2 nap
- **Fenotípusos szűrő-, megerősítő vizsgálatok** -/+ 1 nap
- **Genotípusos megerősítő vizsgálatok** +/- 1 nap
- **Speciális krómagarak alkalmazása** +/- 1 nap



Alsólégúti mintákból izolált multirezisztens baktériumok (betegre tisztítva) – SE 2018

# Nem-fermentáló baktériumok jelentősége

2. táblázat | Egyéb nem fermentáló Gram-negatív pálcák száma a teljes négyéves (2013–2016) periódusban

|                                   | n   |                             | n  |                                    | n |
|-----------------------------------|-----|-----------------------------|----|------------------------------------|---|
| <i>Acinetobacter</i> spp.         | 142 | <i>Delftia acidovorans</i>  | 16 | <i>Brevundimonas diminuta</i>      | 4 |
| <i>Pseudomonas</i> spp.           | 166 | <i>Elizabethkingia</i> spp. | 11 | <i>Comamonas</i> spp.              | 2 |
| <i>Achromobacter xylosoxidans</i> | 171 | <i>Sphingomonas</i> spp.    | 10 | <i>Roseomonas</i> spp.             | 2 |
| <i>Burkholderia</i> spp.          | 117 | <i>Alcaligenes faecalis</i> | 7  | <i>Cupriavidus</i> spp.            | 2 |
| <i>Chryseobacterium</i> spp.      | 41  | <i>Ralstonia</i> spp.       | 7  | <i>Pandorea</i> spp.               | 1 |
| <i>Rhizobium</i> spp.             | 35  | <i>Ochrobactrum</i> spp.    | 6  | <i>Selenomonas sputigena</i>       | 1 |
|                                   |     |                             |    | <i>Sphingobacterium multivorum</i> | 1 |

A félkövér betűvel kiemelt baktériumokat tárgyaljuk lentebb.

3. táblázat | Néhány kiemelt baktériumfaj antibiotikumrezisztencia-vizsgálatának összefoglaló eredménye

|                                   | IMP  | MEM  | TZP  | CAZ | FEP | GE  | TO  | AN  | CIP  | LEV  | SXT  |
|-----------------------------------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|
| <i>Achromobacter xylosoxidans</i> | 50%  | 86%  | 90%  | 38% | R   | R   | R   | R   | R    | 30%  | 83%  |
| <i>Chryseobacterium</i> spp.      | R    | R    | 88%  | 83% | 93% | R   | R   | R   | 90%  | 90%  | 93%  |
| <i>Delftia acidovorans</i>        | 88%  | 81%  | 88%  | 94% | 69% | R   | R   | R   | 69%  | 69%  | 62%  |
| <i>Elizabethkingia</i> spp.       | R    | R    | 18%  | R   | R   | 45% | 9%  | 18% | 82%  | 91%  | 100% |
| <i>Ochrobactrum anthropi</i>      | 83%  | 100% | R    | R   | R   | 66% | 50% | 50% | 100% | 100% | 66%  |
| <i>Ralstonia</i> spp.             | R    | 57%  | 86%  | 28% | 57% | R   | R   | R   | 100% | 100% | 100% |
| <i>Rhizobium radiobacter</i>      | 88%  | 94%  | 60%  | 51% | 71% | 6%  | R   | R   | 94%  | 88%  | 80%  |
| <i>Sphingomonas</i> spp.          | 70%  | 70%  | 60%  | 60% | 70% | 90% | 90% | 90% | 80%  | 70%  | 70%  |
| <i>Alcaligenes faecalis</i>       | 100% | 100% | 100% | 86% | 71% | R   | R   | R   | 57%  | 57%  | 71%  |

|      |        |        |        |      |
|------|--------|--------|--------|------|
| >90% | 75–90% | 50–75% | 25–50% | <25% |
|------|--------|--------|--------|------|

R: A baktérium természetes rezisztenciája.

A %-os értékek az adott antibiotikumra érzékeny izolátumok arányát jelölik.

Juhász E, Iván M, Pongrácz J, Kristóf K. [Uncommon non-fermenting Gram-negative rods as pathogens of lower respiratory tract]. Orv Hetil. 2018; 159(1): 23–29.

# Új antibiotikumok Gram-negatív baktériumok ellen?

## Ceftazidim/avibactam

- **Avibactam**
  - Kivédi Ambler Class A, C, valamint D közül számos  $\beta$ -laktamáz enzim hatását
    - **ESBL, AmpC-termelő, KPC, OXA-48 like**
  - Kovalens kötéstől felszabadul (A – kivéve KPC, D – OXA típusú)
- Ceftazidim/avibactam in vitro eredmények:
  - 20709 klinikai izolátum (*Enterobacteriaceae*) – 99.9% É (Castanheira ;AAC 2015)
    - ESBL, AmpC termelők
  - Karbapenemáz- termelők vizsgálata – 93 % É (Vasoo; AAC 2015)
    - jó KPC, OXA-48 típusú enzimtermelőkre
      - Rezisztencia: efflux-pumpa túltermelése, csökkent porin expresszió
    - Nem jó metallo-  $\beta$ - laktamáz termelőkre
  - Pseudomonasok vizsgálata
    - Ceftazidimhez képest jelentős MIC csökkenés – területi variabilitás!
    - Karbapenem+ceftazidim rezisztens izolátumok - területi variabilitás!
  - *Acinetobacter* spp.-re  
Nem hatékony

EUCAST breakpoint-ok

| Cephalosporins <sup>1</sup> | MIC breakpoint |     | Disk<br>content<br>( $\mu$ g) | Zone diameter |     |
|-----------------------------|----------------|-----|-------------------------------|---------------|-----|
|                             | S $\leq$       | R > |                               | S $\geq$      | R < |
| Ceftazidime-avibactam       |                |     |                               |               |     |
| <i>Enterobacteriaceae</i>   | 8              | 8   | 10-4                          | 13            | 13  |
| <i>P. aeruginosa</i>        | 8              | 8   | 10-4                          | 17            | 17  |
| <i>Acinetobacter</i> spp.   | -              | -   | -                             | -             | -   |

## Ceftolozan/tazobactam

- **Ceftolozan**
  - Új oxyimino-aminothiazolyl cefalosporin
  - Kiváló hatás *P. aeruginosa* ellen
    - Magas affinitással kötődik PBP1b, PBP1c, PBP3-hez
    - AmpC enzimeknek ellenáll
    - Porinvesztés (OprD) nem befolyásolja
    - Efflux- pumpa nem befolyásolja
- Ceftolozan/ tazobactam
  - Hatékony: ESBL, AmpC termelő baktériumok ellen
  - Nem hatékony: KPC, metallo-  $\beta$ - laktamáz termelőkre

„Könnyen” vizsgálható, a rutin AST vizsgálatokba beilleszthető

|                         | MIC határértékek mg/L |     |     | Korong hatóanyag<br>tartalma (mg) | Gátlási zóna határértékek<br>(mm) |     |     |
|-------------------------|-----------------------|-----|-----|-----------------------------------|-----------------------------------|-----|-----|
|                         | S $\geq$              | R < | ATU |                                   | S $\geq$                          | R < | ATU |
| <i>Enterobacterales</i> | 1                     | 1   |     | 30-10                             | 23                                | 23  |     |
| <i>P. aeruginosa</i>    | 4                     | 4   |     |                                   | 24                                | 24  |     |

EUCAST breakpoint-ok

| Antimicrobial agent        | MIC range<br>(mg/l)  | MIC <sub>50</sub><br>(mg/l) | MIC <sub>90</sub><br>(mg/l) | EUCAST<br>Susceptibility<br>Breakpoint (mg/l) | Resistance<br>(%) |
|----------------------------|----------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------------------------|-------------------|
| Ceftazidime-avibactam      | 1 to $\geq$ 256      | 8                           | $\geq$ 256                  | 8                                             | 33.6              |
| Ceftolozane-<br>tazobactam | 0.5 to<br>$\geq$ 256 | 4                           | $\geq$ 256                  | 4                                             | 32.4              |
| Ceftazidime                | 2 to >256            | 64                          | 256                         | 8                                             | 93.2              |
| Cefepime                   | 8 to >256            | 64                          | >256                        | 8                                             | 99.2              |
| Piperacillin-tazobactam    | 4 to >256            | 128                         | >256                        | 16                                            | 97.2              |

**Juhász Emese** (Budapest, Semmelweis Egyetem, LMI, Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Laboratórium, **Katona Katalin** (Budapest, MH EK Honvédkórház), **Melegh Szilvia** (Pécsi Orvostudományi Egyetem, ÁOK, Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani intézet), **Szabó Judit** (Debreceni Egyetem, Orvosi Mikrobiológiai Intézet), **Tóth Ákos** (Budapest, Országos Közegészségügyi Intézet), **Urbán Edit** (Szegedi Tudományegyetem, Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézet)

# Növeli-e multirezisztens mikrobákkal való kolonizáltság az általuk okozott fertőzés valószínűségét? – surveillance jelentősége

Számos vizsgálat...

- Empirikus terápiában figyelembe kell venni
- Egyéb predisponáló tényezők mellett
- El kell kerülni a túlzott atb. alkalmazást, mely rezisztenciát generálhat

**ESBL-termelő *Enterobacterales* kolonizáltság ICU-n**

~ 10 %

~ átlagos idő: 11,4 nap

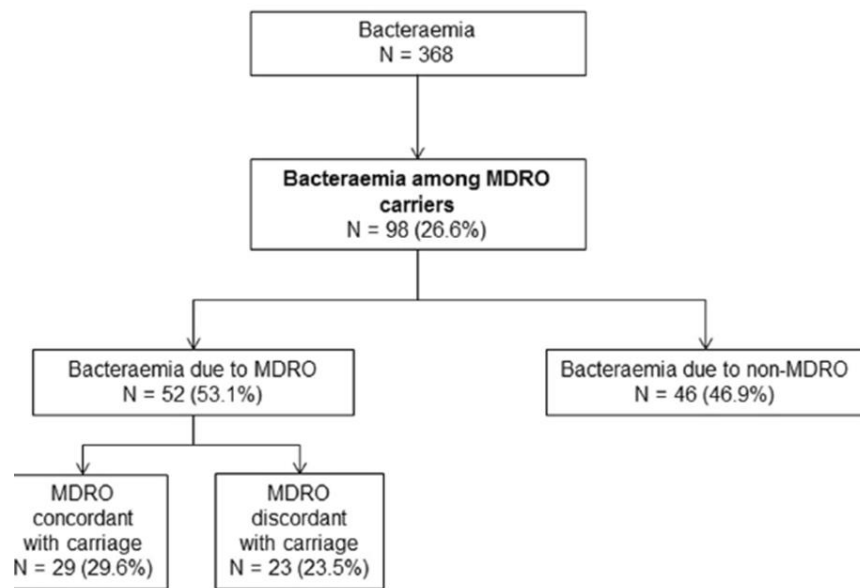
~ előzetes atb.

- $\beta$ -laktám+ $\beta$ -laktamáz kombináció: RR 1,78
- karbapenem:RR 2,13
- Megelőző évben atb.:RR 1,65

Átlagos idő a GI kolonizáltság és infekció megjelenése között: 5.9 nap

49.62 – szor nagyobb a valószínűsége!

Detsis et al. Critical Care Medicine 2017 (metaanalízis)



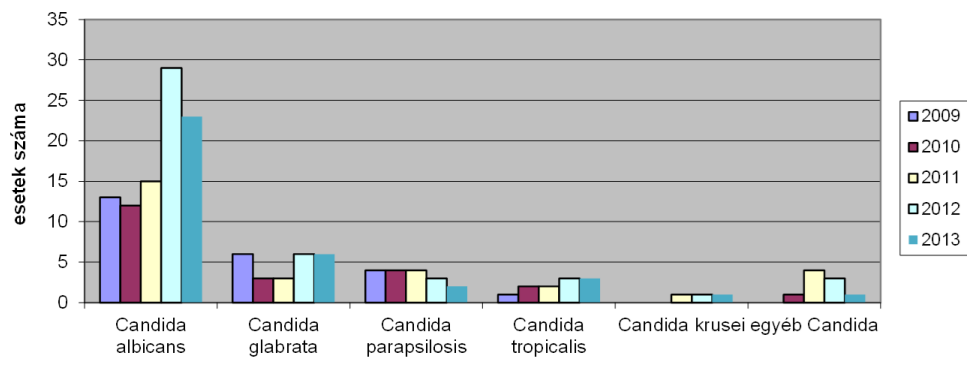
- **Immunszupresszió** [OR 2.86],
- Állapot súlyossága [OR 3.13],
- *P. aeruginosa* kolonizáltság [OR 5.24],
- **Nozokomiális fertőzés** [OR 2.49].

Mascitti et al. Antimicrobial Resistance and Infection Control (2018)

## Javasolt a szűrés (infekció-kontrol)

- **felvételnél:** előzetes kórházi kezelés, ápolási otthonból érkező betegek, előzetesen ismert kolonizáltság esetén
- **Hetente ICU-n, speciális osztályokon, sebészeten**

# Invazív mikózisok kórokozói- nő a faji diverzitás



SE

Változó faj- megoszlás

Új, „szokatlan” fajok megjelenése

(*C. lusitaniae*

*C. guilliermondii*

*C. inconspicua*

*C. orthopsilosis*

*C. kefyr*)

Polimikróbás esetek

**Table 1**

Geographic distribution of organisms collected during 2013 in medical centers participating in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program.

| Organism/organism group                    | No. of isolates in each indicated geographic region: |        |               |              | Total |
|--------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------|---------------|--------------|-------|
|                                            | North America                                        | Europe | Latin America | Asia-Pacific |       |
| Total yeasts and molds                     | 695                                                  | 511    | 185           | 222          | 1613  |
| Yeasts                                     |                                                      |        |               |              |       |
| All <i>Candida</i> spp.                    | 522                                                  | 427    | 142           | 209          | 1320  |
| <i>C. albicans</i>                         | 231                                                  | 228    | 62            | 100          | 621   |
| <i>C. glabrata</i>                         | 133                                                  | 46     | 9             | 47           | 235   |
| <i>C. parapsilosis</i>                     | 64                                                   | 81     | 36            | 16           | 197   |
| <i>C. tropicalis</i>                       | 38                                                   | 33     | 16            | 23           | 110   |
| <i>C. krusei</i>                           | 21                                                   | 9      | 3             | 4            | 37    |
| <i>C. lusitaniae</i>                       | 19                                                   | 3      | 4             | 7            | 33    |
| <i>C. dubliniensis</i>                     | 17                                                   | 8      | 1             | 5            | 31    |
| <i>C. guilliermondii</i>                   | 4                                                    | 7      | 1             | 3            | 15    |
| <i>C. orthopsilosis</i>                    | 3                                                    | 1      | 5             | 1            | 10    |
| Other <i>Candida</i> spp. <sup>a</sup>     | 12                                                   | 11     | 5             | 3            | 31    |
| <i>C. neoformans</i>                       | 21                                                   | 29     | 16            | 3            | 69    |
| Other yeasts <sup>b</sup>                  | 14                                                   | 9      | 4             | 7            | 34    |
| Molds                                      |                                                      |        |               |              |       |
| All <i>Aspergillus</i> spp.                | 100                                                  | 42     | 10            | 3            | 155   |
| <i>A. fumigatus</i>                        | 73                                                   | 40     | 5             | 2            | 120   |
| <i>A. flavus</i> SC                        | 8                                                    | 1      | 4             |              | 13    |
| Other <i>Aspergillus</i> spp. <sup>c</sup> | 19                                                   | 1      | 1             | 1            | 22    |
| <i>S. kiliense</i>                         |                                                      |        | 10            |              | 10    |
| Other molds <sup>d</sup>                   | 18                                                   | 4      | 3             |              | 25    |

<sup>a</sup> Other *Candida* spp. include *C. auris* (1 strain), *C. bracarensis* (1 strain), *C. fabiani* (4 strains), *C. fermentati* (3 strains), *C. haemulonii* (1 strain), *C. kefyr* (7 strains), *C. lipolytica* (1 strain), *C. metapsilosis* (7 strains), *C. norvegensis* (1 strain), *C. parapsilosis* (2 strains), *C. pelliculosa* (2 strains), and *C. thermophila* (1 strain).

# Egyéb vizsgálatok

## Candidaemia, invazív candidiasis

Mannan (Ag) és antimannan (Ab) vizsgálata szérumból – monitorozás (Platelia Candida Antigen Plus, Antibody Plus – BioRad)

szenzitivitás:80%, specificitás:85%

**magas negatív prediktív érték (NPV)**

## B-1,3-D-glucan meghatározás szérumból (Fungitell)

nem candida specifikus (pl.aspergillus, fusarium, trichosporon)

*C. parapsilosis*ra nem jó

fals pozitivitás!

szenzitivitás:>65%, specificitás >80%, **NPV >85%**

## Aspergillosis

Galaktomannan detektálás (Platelia Aspergillus EIA – BioRad)

Szérum

- szenzitivitása függ a vizsgált betegcsoporttól: 30-90%
- Monitorozás!
- Fals pozitivitás (AMC, TZP, aspergillus spórákkal kontaminált étel-mucositis; Bifidobacteriumokkal közös epitópok – csecsemők!)

BAL

CSF

**Mit várhat a klinikus a mikrobiológustól?**

**=> Háttér  
biztosítása!**

**=>ID&AST gyorsan, pontosan**

**=>Szükséges a helyi epidemiológiai** adatok ismerete

**=>Kórokozó-spektrum**

**=>Rezisztencia tulajdonságok**

**=>Nemzeti/nemzetközi adatbázis** ismerete a multi-rezisztensek által okozott fertőzésekről (mikrobiológiai és klinikai adatok!)

**=>Újonnan** bevezetésre kerülő lehetőségek elérhetőségének biztosítása

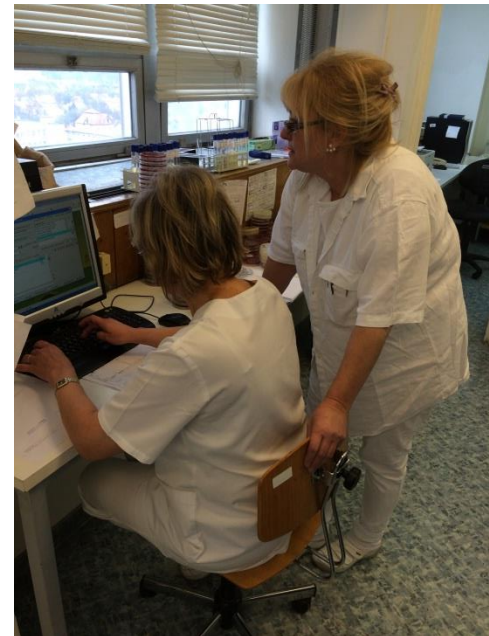
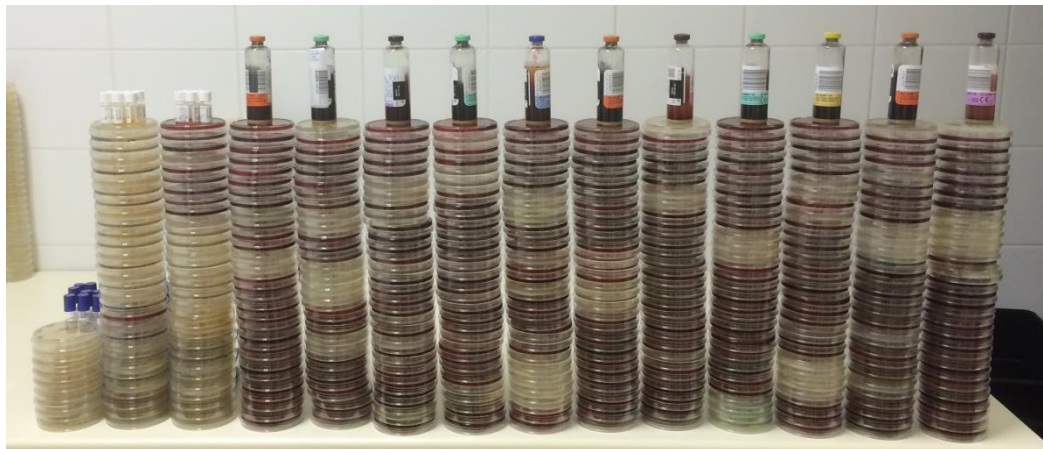
**=>Diagnosztikai módszer**

**=>Új antimikrobás szer**

**=>Surveillance minták** végzése, eredmények értékelése

**=>Információ-csere**

*Köszönjük a figyelmet!*





- Milyen adatokat tartalmaz az NBS (Nemzeti Bakteriális Surveillance)
  - Az antibiotikum rezisztencia vizsgálati eredmények minden hazai mikrobiológiai laboratóriumból egy központi adatbázisba kerülnek, mely adatok elemzésével követni lehet a hazai trendeket
- Mit jelent az „ESCAPE” rövidítés
  - Napjainkban problémát jelentő multirezisztens mikrobák nevéből képzett rövidítés, melybe tartoznak: *E. faecium*, *S. aureus*, *C. difficile*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, és *Enterobacteriaceae*
- Melyik a legbiztosabb, rutinban alkalmazható mikrobiológiai módszer a methicillin-rezisztens (MRSA) kimutatására?
  - EUCAST szabályrendszerének megfelelően kivitelezetten és értékelten végzett korongdiffúziós antibiotikum érzékenységi vizsgálat, szükség esetén molekuláris vizsgálattal kiegészítve
- Mit jelent a multirezisztens mikrobák kimutatásának irányában végzett aktív surveillance?
  - Bizonyos kockázati tényezők esetén (beteg anamnézise, speciális betegosztályok) esetén a beteg megfelelően specifikált szűrővizsgálati mintáiból (pl. légúti minta, rektális törlet) szabályozott mikrobiológiai vizsgálati módszerekkel történő kimutatásuk
- Antibiotikum rezisztencia vizsgálatok, rezisztencia mechanizmusok igazolására milyen mikrobiológiai vizsgálati módszerek állnak rendelkezésre?
  - Korongdiffúziós vizsgálatok
  - Minimális gátlókoncentráció meghatározás
  - Kiegészítő fenotípusos és genotípusos megerősítő vizsgálatok

- Mit forradalmasított a mikrobiológiai munkában a MALDI-TOF MS bevezetése
  - kitenyésztett baktériumok, gombák azonosítása pár perc alatt lehetséges
- Atípusos pneumónia gyanúja esetén milyen mikrobiológiai vizsgálati lehetőségeink vannak?
  - Vizelet-antigén vizsgálat (*Legionella pneumophila*), légúti minták molekuláris vizsgálata (*M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *Legionella sp*, *C. psittaci*), direkt immunfluoreszcens eljárások (pl. vírusok), savópár vizsgálata kórokozótól függő módszerrel
- Milyen szempontokat vegyünk figyelembe gyors tesztek bevezetésénél
  - Megfelelő teszt: Klinikumnak megfelelő választ ad-e? (szenzitivitás, specificitás, prediktivitás, teszt(ek) mennyisége, diagnosztikai lehetőségek, laboratórium kapacitása, költség, klinikai érték)
  - Megfelelő beteg: Az eredmény befolyásolja a beteg sorsát? (indokolt kérés megfelelő kritériumok alapján, sürgősség eldöntése)
  - Megfelelő időben: A beteg életkimenetele szempontjából időben elérhető az eredmény? (transzport idő, központi laboratórium vs. POCT, egyedi vs. "összegyűjtött" vizsgálat, vizsgálati idő: előkészítési + mérési , eredmény közlési idő)
- Klinikai mintából megfelelő módszerrel elvégezzük valamilyen specifikus antibiotikum rezisztencia gén kimutatását (pl. *mecA* – methicillin rezisztencia; *vanA*-vankomycin rezisztencia; bla<sub>VIM1-13</sub>, bla<sub>IMP1-22</sub>, bla<sub>oxa</sub> – karbapenemáz-termelésért felelős gének), melynek eredménye negatív. Mit jelent ez számunkra?
  - a kórokozó mikroba biztosan érzékeny lesz az adott antibiotikumra
  - empirikus terápiában nem kell figyelembe venni a vizsgált rezisztenciákat
  - valamilyen más rezisztencia-mechanizmussal rendelkező mikroba által okozott fertőzés valószínű
  - önmagában egyik állítás sem igaz
- Melyek az infekció-specifikus multiplex molekuláris vizsgálatok előnyei?
  - Az eredményt nem befolyásolja a mintavétel idején alkalmazott antibiotikum terápia, egyes esetekben mennyiségi meghatározásra is van lehetőség (pl. alsó-légúti fertőzésnél a valódi infekció/kolonizáció megítéléséhez)