

44^o Congresso Brasileiro de Análises Clínicas

11 a 14 de Junho de 2017 no Centro de Convenções de João Pessoa (PB)



O diagnóstico contemporâneo da resistência bacteriana Métodos tradicionais

ALESSANDRO C. O. SILVEIRA



ANTIBIOGRAMA

- Qual a importância?
- Quando fazemos?
- Como fazemos?
- Como interpretar?
- Pode salvar a vida do paciente?



QUAL O LABORATÓRIO QUE DISPOMOS?

ANTIBIOGRAMA

MATERIAL COLETADO : SECREÇÃO TRAQUEAL

PROLIFERACAO:

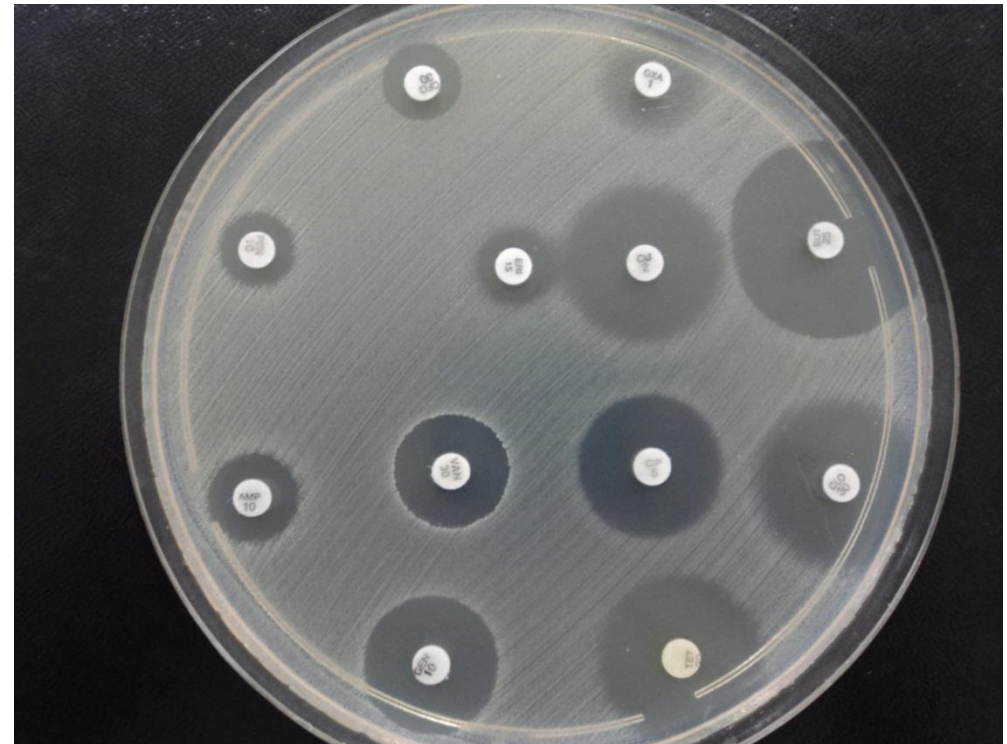
de Staphylococcus aureus

SENSIBILIDADE TESTADA COM:

1-Ac.Nalidixico.: NAO TEST	21-Neomicina.....: NAO TEST
2-Gatifloxacina.: NAO TEST	22-Nitrofurantoin: NAO TEST
3-Amicacina..... SENS +++	23-Norfloxacin...: NAO TEST
4-Amoxicilina...: NAO TEST	24-Oxacilina.....: RESIST.
5-Ampicilina...: SENS ++	25-Penicilina.....: RESIST.
6-Ofloxacin.....: NAO TEST	26-Perfloxacin...: NAO TEST
7-Cefaclor.....: NAO TEST	27-Tetraciclina...: NAO TEST
8-Cefalexina...: RESIST.	28-Trim.+Sulfamet: RESIST.
9-Cefalotina...: RESIST.	29-Vancomicina...: SENS +++
10-Cefixima.....: NAO TEST	30-Amox.+Ac..Clav: SENS +++
11-Cefotaxima...: RESIST.	31-Piperac+Tazoba: SENS +++
12-Ceftazidima...: NAO TEST	32-Sulbac./Ampic.: SENS +++
13-ceftriaxona...: RESIST.	33-Meropenem.....: NAO TEST
14-ciprofloxacina.: RESIST.	34-Cefepima.....: RESIST.
15-Clindamicina..: RESIST.	
16-Cloranfenicol.: NAO TEST	
17-Eritromicina..: NAO TEST	
18-Gentamicina...: SENS +++	
19-Imipenem.....: NAO TEST	
20-Cefoxitina....: RESIST.	

ANTIBIOGRAMA

- ❑ Disco difusão
 - ❑ CLSI
 - ❑ BrCAST
- ❑ Concentração inibitória mínima
 - ❑ Automação
 - ❑ Etest
 - ❑ Vitek
- ❑ Testes fenotípicos
 - ❑ D teste
 - ❑ Disco aproximação
- ❑ Testes confirmatórios
 - ❑ ESBL
 - ❑ Carbapenemases



PROTOCOLOS INTERNACIONAIS



Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidade aos Antimicrobianos

Glicopeptídeos ¹	Ponto de corte p/ CIM (mg/L)			Conteúdo do disco (µg)	Ponto de corte p/ diâmetro do halo (mm)		
	S ≤	I	R >		S ≥	I	R ≤
Teicoplanina, <i>S. aureus</i>	2	-	>2		Nota ^A	Nota ^A	Nota ^A
Teicoplanina, estafilococos coagulase negativo	4	-	>4		Nota ^A	Nota ^A	Nota ^A
Vancomicina, <i>S. aureus</i>	2	-	>2		Nota ^A	Nota ^A	Nota ^A
Vancomicina, estafilococos coagulase negativo	4	-	>4		Nota ^A	Nota ^A	Nota ^A

1. A CIM de glicopeptídeos é dependente do método e deve ser determinada por diluição em caldo (referência ISO 20776). *S. aureus* com CIM de 2 mg/L para vancomicina estão no limite da distribuição da CIM do tipo selvagem e pode haver diminuição da resposta clínica. O ponto de corte foi diminuído para 2 mg/L para evitar que isolados intermediários "GISA" sejam reportados, já que infecções graves por "GISA" não são tratáveis com doses elevadas de vancomicina ou teicoplanina.

2. Isolados não sensíveis são raros ou ainda não foram reportados. A identificação e o teste de sensibilidade em isolados não sensíveis deve ser confirmada em centro de referência.

A. O método de disco-difusão não é confiável e não distingue entre isolados selvagens e aqueles com resistência não mediada pelo gene *vanA*.

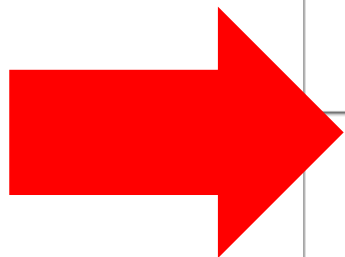
GISA: *S. aureus* intermediário aos glicopeptídeos:

Isolados de *S. aureus* com resistência de baixo nível à vancomicina (CIM 4-8 mg/L).

hGISA: *S. aureus* com heterorresistência intermediária aos glicopeptídeos:

Isolados de *S. aureus* sensíveis à vancomicina (CIMs ≤2 mg/L), mas com populações minoritárias (1 em cada 10⁶ células) com CIM de vancomicina > 2 mg/L, a julgar pela investigação do perfil por análise populacional.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)			MIC Interpretive Criteria ($\mu\text{g/mL}$)		
			S	I	R	S	I	R
GLYCOPEPTIDES								
(18) For <i>S. aureus</i> , vancomycin-susceptible isolates may become vancomycin intermediate during the course of prolonged therapy								
B	Vancomycin (For <i>S. aureus</i>)	-	-	-	-	≤ 2	4-8	≥ 16
B	Vancomycin (For CoNS)	-	-	-	-	≤ 4	8-16	≥ 32
Inv.	Teicoplanin	30 μg	≥ 14	11-13	≤ 10	≤ 8	16	≥ 32



CONDIÇÕES

Disco-difusão (Métodos padronizados de disco-difusão EUCAST)

Meio de cultura: Ágar Mueller-Hinton + sangue de cavalo desfibrinado 5% e 20 mg/L β -NAD (MH-F)

Inóculo: McFarland 0,5 a partir do ágar sangue ou McFarland 1,0 a partir do ágar chocolate

Incubação: 5% CO₂, 35±1°C, 18±2h

Leitura: Ler as bordas dos halos de inibição como o ponto em que não há mais crescimento, visto da parte anterior da placa, com a tampa removida e luz refletida.

Testing Conditions

- Medium:** Disk diffusion: MHA with 5% sheep blood
Broth dilution: CAMHB with LHB (2.5% to 5% v/v)
(see M07-A10 for instructions for preparation of LHB)
Agar dilution: MHA with sheep blood (5% v/v); recent studies using the agar dilution method have not been performed and reviewed by the subcommittee.
- Inoculum:** Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard, prepared using colonies from an overnight (18- to 20-hour) sheep blood agar plate
- Incubation:** 35°C ± 2°C
Disk diffusion: 5% CO₂; 20–24 hours
Dilution methods: ambient air; 20–24 hours (CO₂ if necessary for growth with agar dilution)

CASO 1

Staphylococcus aureus Lavado bronco-alveolar

Penicilina R
Oxacilina R
Cefoxitina S
Clindamicina S
Eritromicina R
Sulfametoxazol-trimetoprim R
Levofloxacino R
Linezolida S
Amicacina S
Gentamicina R
Tigeciclina S
Vancomicina CIM 1 µg/mL

Uso de penicilina ?
Divergência entre oxacilina e cefoxitina?
Nota sobre resistência à beta-lactâmicos?
Há resistência induzível à clindamicina?
Divergência entre aminoglicosídeos?
A tigeciclina poderia ser testada?
Médico questiona sobre o teste de teicoplanina

Isolado produtor de penicilinase e sensível à oxacilina

CASO 2

Staphylococcus aureus **Hemocultura**

Penicilina R
Oxacilina R
Clindamicina S
Eritromicina S
Sulfametoxazol-trimetoprim S
Norfloxacino S
Linezolida S
Amicacina S
Gentamicina S
Tigeciclina S
Vancomicina CIM 3 µg/mL (Etest)

Detecção de PBP2a e/ou *mecA*?
Nota sobre uso de beta-lactâmicos?
Alguma sugestão de epidemiologia?
Uso de tigeciclina?
CIM de vancomicina?
Testes de triagem para hVISA?

**MRSA, susceptível à vancomicina,
possivelmente com *SCCmec* do tipo IV
(comunitário)**

CASO 3

Staphylococcus aureus **Osteomielite**

Penicilina R
Oxacilina R
Clindamicina R
Eritromicina R
Sulfametoxazol-trimetoprim R
Norfloxacino R
Linezolida S
Amicacina R
Gentamicina R
Tigeciclina S
Vancomicina CIM 1 µg/mL

OBS: Uso de prévio de vancomicina

Opções terapêuticas disponíveis?
Testar daptomicina?
Epidemiologia?
Triagem para hVISA?

MRSA, com hetero-resistência à vancomicina

CASO 4

Staphylococcus aureus **Hemocultura**

Oxacilina R – CIM 4 µg/mL
Clindamicina R
Eritromicina R
Sulfametoxazol-trimetoprim S
Norfloxacino S
Linezolida S
Amicacina S
Gentamicina S
Tigeciclina S
Vancomicina CIM 0,5 µg/mL

PCR para *mecA* negativo

Oxa R com *mecA* negativo?

Quais testes poderiam ser utilizados para confirmação do fenótipo?

Pode ser utilizado beta-lactâmico para tratamento?

E inibidores de beta-lactamase?

S. aureus com hiperprodução de beta-lactamases

CASO 5

Estafilococo coagulase negativo Infecção relacionada ao catéter

Penicilina R
Oxacilina R
Clindamicina R
Eritromicina R
Sulfametoxazol-trimetoprim R
Moxifloxacino R
Linezolida S
Amicacina R
Gentamicina R
Vancomicina CIM 4 µg/mL

É importante identificar a bactéria?
Pode ser considerado um VRSCN?
Quais as alternativas terapêuticas?

MRSE com susceptibilidade à vancomicina

CASO 6

Klebsiella pneumoniae **Lavado bronco-alveolar**

Ampicilina R
Ceftriaxona S
Cefotaxima S
Cefepime S
Amox. + Clav. S
Imipenem S
Levofloxacin S
Amicacina S
Gentamicina S

Qual o fenótipo de resistência?
Há necessidade de liberação de todos esses antibióticos?

***Klebsiella pneumoniae* com resistência constitutiva**

CASO 7

Escherichia coli
Urina

Ampicilina R
Amox. + Clav. S
Cefazolina R
Cefoxitina S
Ceftriaxona R
Cefepime S
Aztreonam S
Imipenem S
Polimixina B CIM 1 µg/mL (Etest)
Ciprofloxacin R
Fosfomicina S
Amicacina S

O que chama a atenção nesse antibiograma?
Quais testes poderiam ser realizados?
Há necessidade de colocar alguma nota no laudo?
Pode ser utilizada a combinação de penicilinas +
inibidores de beta-lactamases para tratamento?

Escherichia coli produtora de ESBL

CASO 8

Klebsiella pneumoniae Hemocultura

Ampicilina R
Amox. + Clav. R
Cefazolina R
Cefoxitina R
Ceftriaxona R
Cefepime S
Aztreonam S
Imipenem S
Ciprofloxacina R
Amicacina S
Gentamicina S

Qual o provável fenótipo de resistência?
Quais testes podem indicar tal fenótipo?
Há necessidade de edição de resultados?
Deve ser colocada uma nota no laudo?

K. pneumoniae com *ampC* plasmidial

CASO 9

Klebsiella pneumoniae Hemocultura

Ampicilina R
Amox. + Clav. R
Cefoxitina R
Ceftriaxona R
Cefepime R
Aztreonam S
Imipenem S
Meropenem R
Polimixina B CIM 2 µg/mL
Ciprofloxacina R
Amicacina S

É possível imipenem S e meropenem R? E a recíproca?
Há necessidade de pesquisar carbapenemase?
Esse paciente poderia ser tratado com imipenem?

K. pneumoniae com bomba de efluxo

CASO 10

Enterobacter cloacae Hemocultura

Ampicilina R
Amox. + Clav. R
Cefoxitina R
Ceftriaxona R
Cefepime R
Aztreonam R
Imipenem CIM > 32 µg/mL
Meropenem CIM > 32 µg/mL
Ertapenem CIM > 32 µg/mL
Polimixina B CIM 16 µg/mL
Levofloxacin R
Amicacina R
Gentamicina R

Quais as alternativas terapêuticas para este paciente?
Há mais algum antibiótico a ser testado?

E. cloacae pan-resistente

CONCLUSÕES

- ❑ A realização do antibiograma é fundamental, não só para o monitoramento da antibioticoterapia mas também para fornecer dados epidemiológicos relevantes;**
- ❑ Existem dois principais protocolos disponíveis, cabe ao microbiologista discernir qual é o mais adequado para sua rotina;**
- ❑ Os resultados do antibiograma podem ser interpretados e gerar informações muito importantes para o tratamento.**

OBRIGADO!

alessandrocosilveira@gmail.com

