

O Estado da Arte Na Detecção de Resistência Microbiana: Glicopeptídeos

51^o Congresso Brasileiro
de Patologia Clínica
Medicina Laboratorial

3^o Congresso Brasileiro de
Informática Laboratorial

A Medicina Laboratorial na assistência à saúde

26 a 29 de setembro de 2017

Palácio das Convenções do Anhembi Parque

São Paulo SP

www.cbpcml.org.br

Alessandro C. O. Silveira

acosilveira@furb.br

26/9/2017

Realização

SBPC · ML

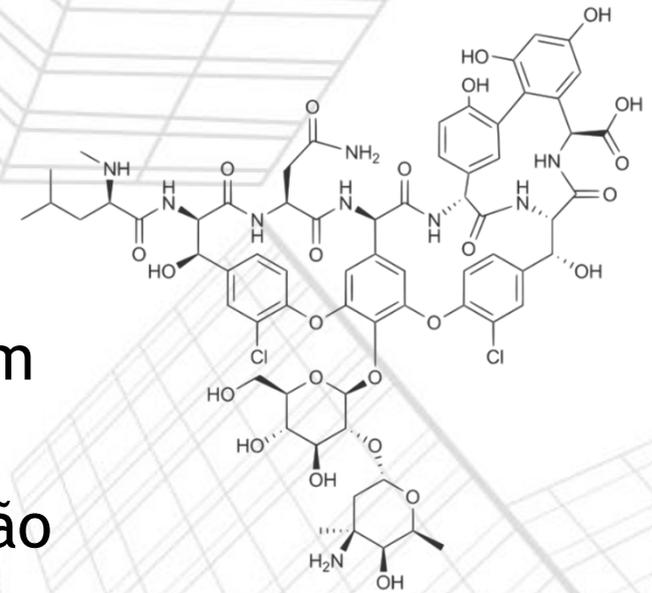
Sociedade Brasileira
de Patologia Clínica
Medicina Laboratorial

Conflito de interesse

**Declaro não possuir conflitos de
interesse**

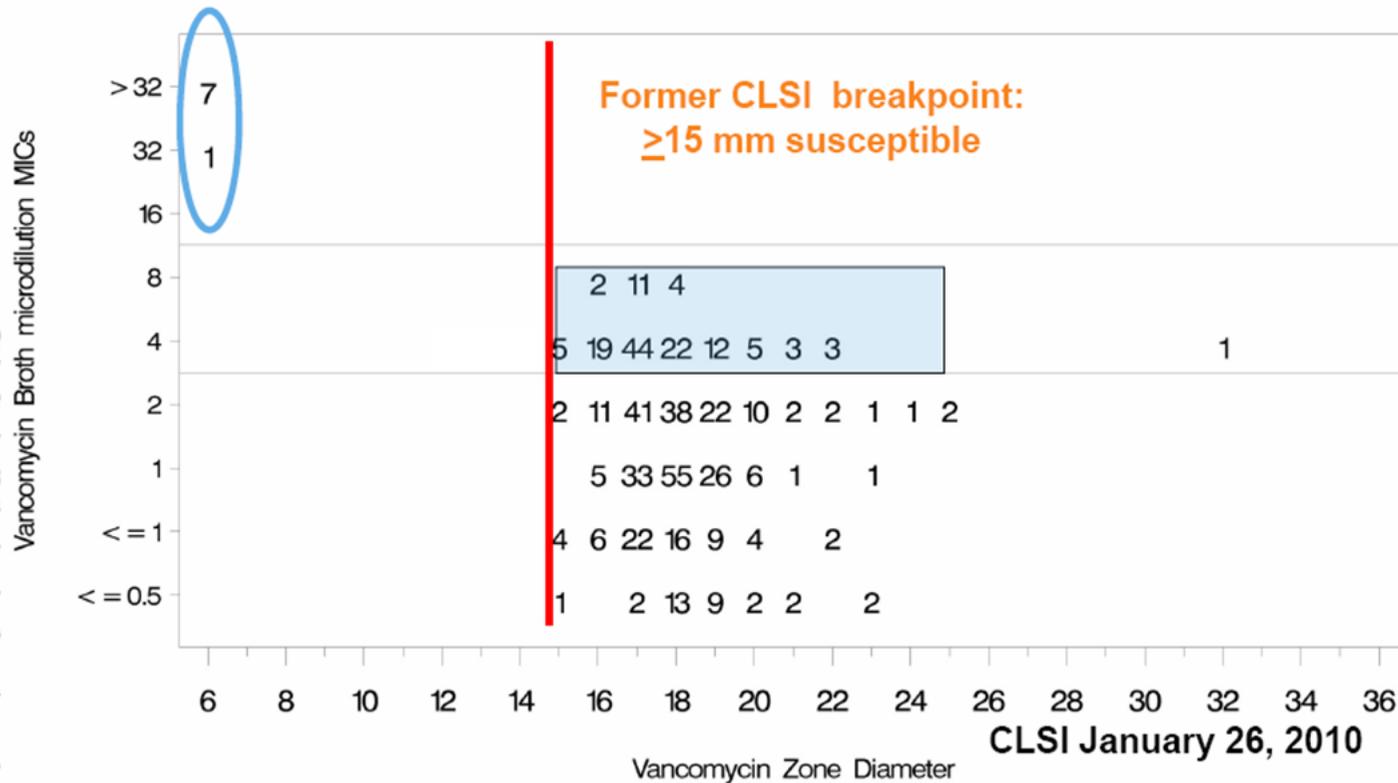
Vancomicina

- ❑ ainda é a terapia mais utilizada para tratamento de infecções por MRSA
- ❑ glicopeptídeo que age na parede celular
- ❑ elevada nefrotoxicidade
- ❑ farmacocinética ruim
- ❑ apresentações comerciais disponíveis com qualidades heterogêneas
- ❑ exige um protocolo próprio para utilização
- ❑ não apresenta pontos de corte para disco difusão no CLSI e BrCAST



Scattergram of *S. aureus* and Vancomycin; Disk breakpoint Eliminated in 2008

vanA-VRSA



CLSI

Table 2C. *Staphylococcus* spp. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Interpretive Categories and Zone Diameter Breakpoints (nearest whole mm)			Interpretive Categories and MIC Breakpoints (µg/mL)			Comments
			S	I	R	S	I	R	
GLYCOPEPTIDES									
(19) 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	For use with <i>S. aureus</i> . (20) MIC tests should be performed to determine the susceptibility of all isolates of staphylococci to vancomycin. The disk test does not differentiate vancomycin-susceptible isolates of <i>S. aureus</i> from vancomycin-intermediate isolates, nor does the test differentiate among vancomycin-susceptible, -intermediate, and -resistant isolates of CoNS, all of which give similar size zones of inhibition. (21) Send any <i>S. aureus</i> for which the vancomycin is ≥ 8 µg/mL to a reference laboratory. See Appendix A. Also refer to Table 3G for <i>S. aureus</i> , Subchapter 3.13.1.7 in M07-A10, and Subchapter 3.9.1.7 in M02-A12.
B	Vancomycin (For CoNS)	-	-	-	-	≤4	8-16	≥32	For use with CoNS. See comment (20). (22) Send any CoNS for which the vancomycin MIC is ≥32 µg/mL to a reference laboratory. See Appendix A. See also Subchapter 3.13.1.7 in M07-A10, and Subchapter 3.9.1.7 in M02-A12.
Inv.	Teicoplanin	-	-	-	-	≤8	16	≥32	

BrCAST

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 ² , <i>S. aureus</i>	2	-	>2		Nota ^A	Nota ^A	Nota ^A
Teicoplanina ² , estafilococos coagulase negativo	4	-	>4		Nota ^A	Nota ^A	Nota ^A
Vancomicina ² , <i>S. aureus</i>	2	-	>2		Nota ^A	Nota ^A	Nota ^A
Vancomicina ² , estafilococos coagulase negativo	4	-	>4		Nota ^A	Nota ^A	Nota ^A

Notas

Números para comentários gerais e/ou pontos de corte para CIM.

Letras para comentários sobre disco-difusão.

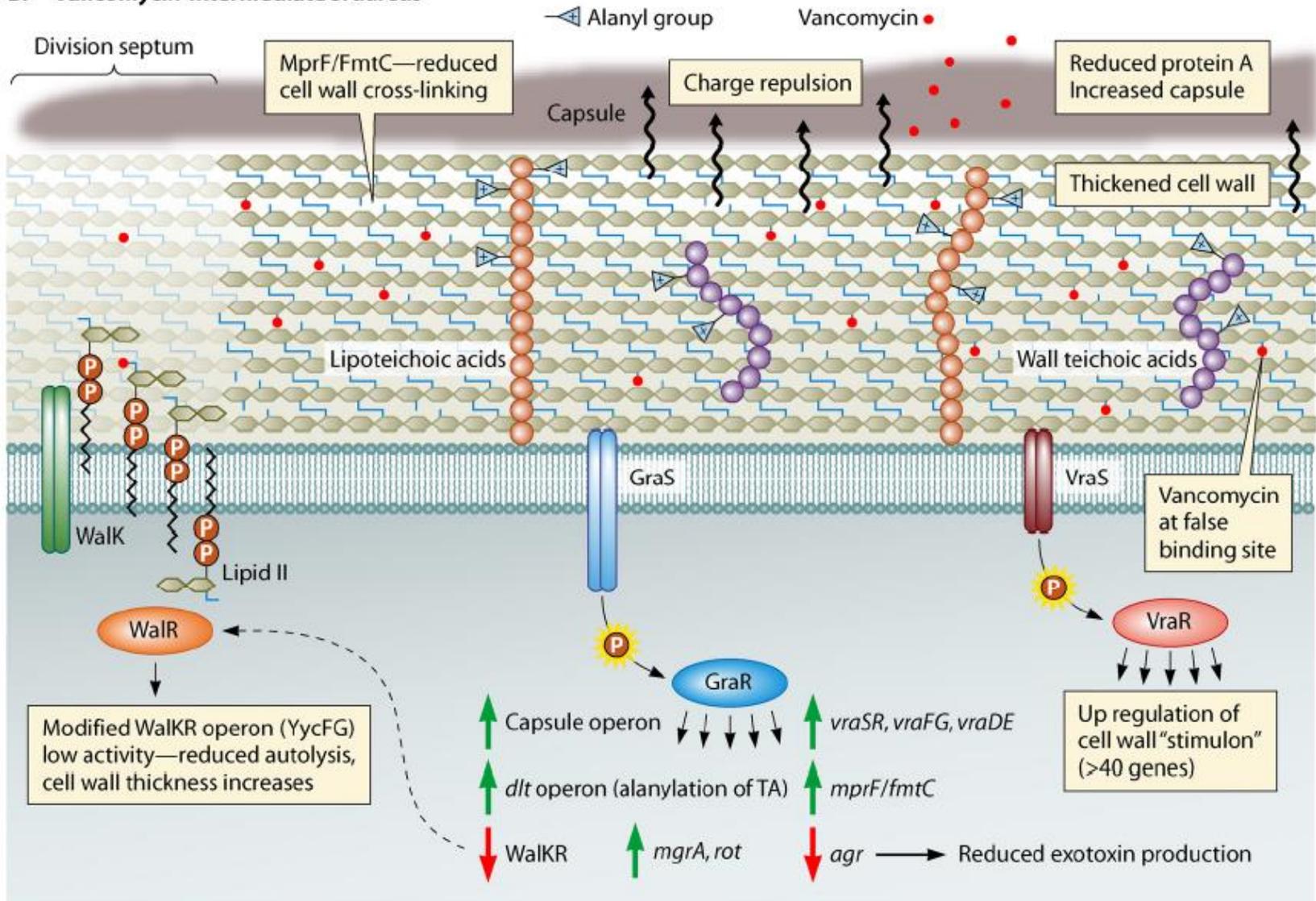
1. A CIM de glicopeptídeos é dependente do método e deve ser determinada por diluição em caldo (referência ISO 20776). *S. aureus* com CIM de 2 mg/L para vancomicina estão no limite da distribuição da CIM do tipo selvagem e pode haver diminuição da resposta clínica. O ponto de corte foi diminuído para 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 devem ser confirmados em centro de referência.

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

VISA

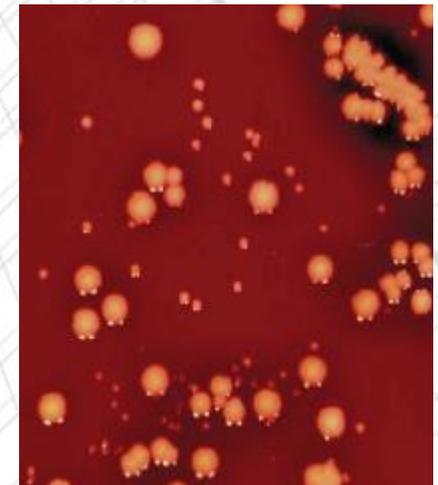
B. Vancomycin-intermediate *S. aureus*



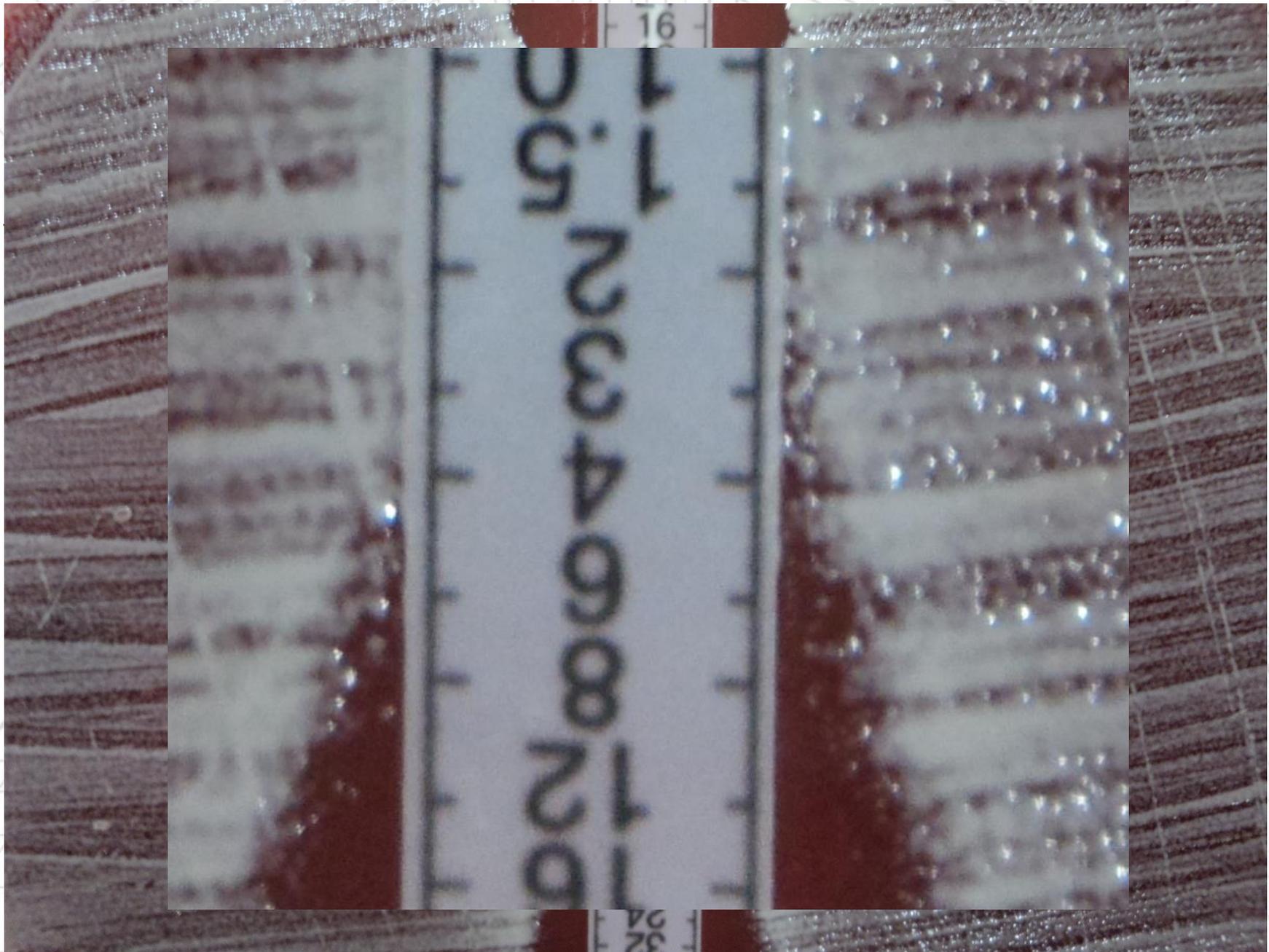
Howden et al., 2010

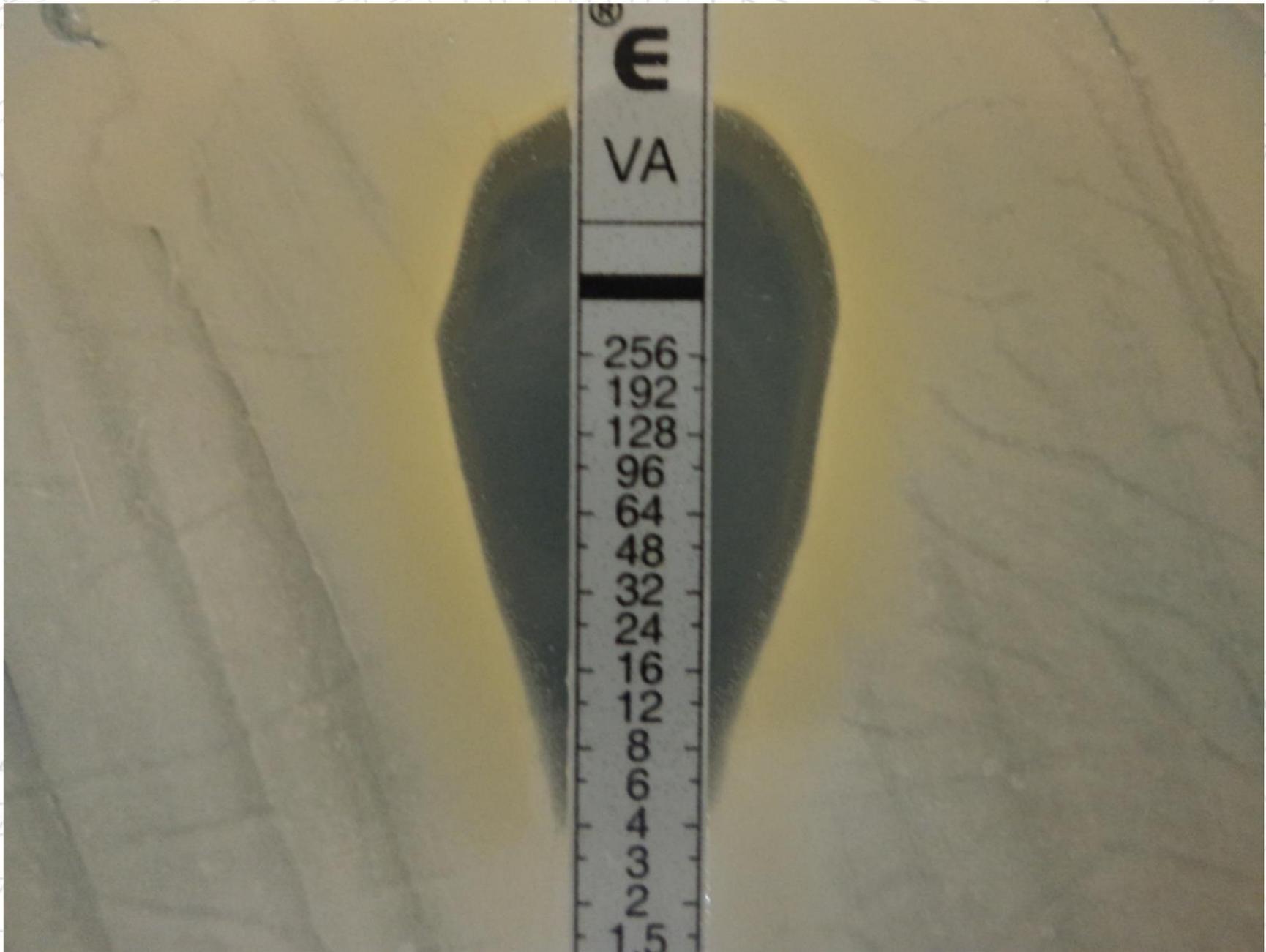
hVISA

- ❑ resistência heterogênea
- ❑ manifesta-se em sub-populações (1 em 10⁶)
- ❑ independe da CIM e outros mecanismos
- ❑ *Small Colony Variants (SCV)*
- ❑ nutricionalmente exigentes
- ❑ crescimento mais lento
- ❑ necessidade de pressão seletiva
- ❑ estágio intermediário para VISA







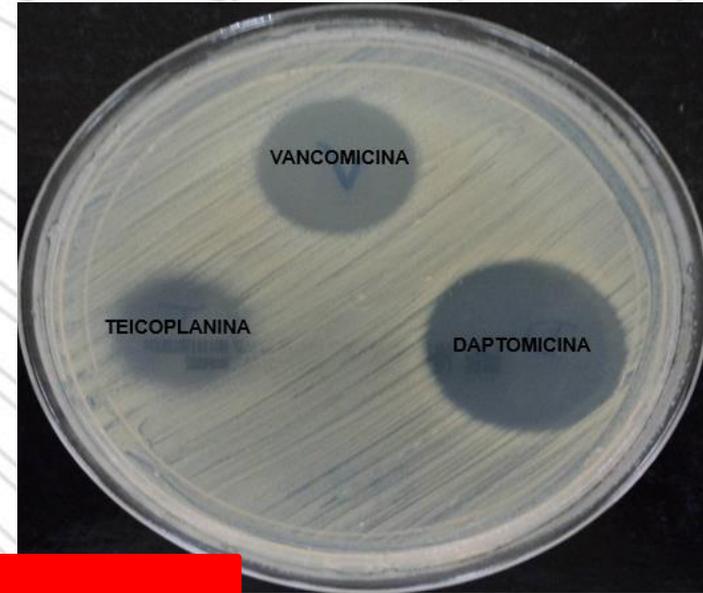




Contents lists available at ScienceDirect

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease

journal homepage: www.elsevier.com/locate/diagmicrobio



Bacteriology

Is prediffusion test an alternative to improve accuracy in screening hVISA strains and to detect susceptibility to glycopeptides/lipopeptides?

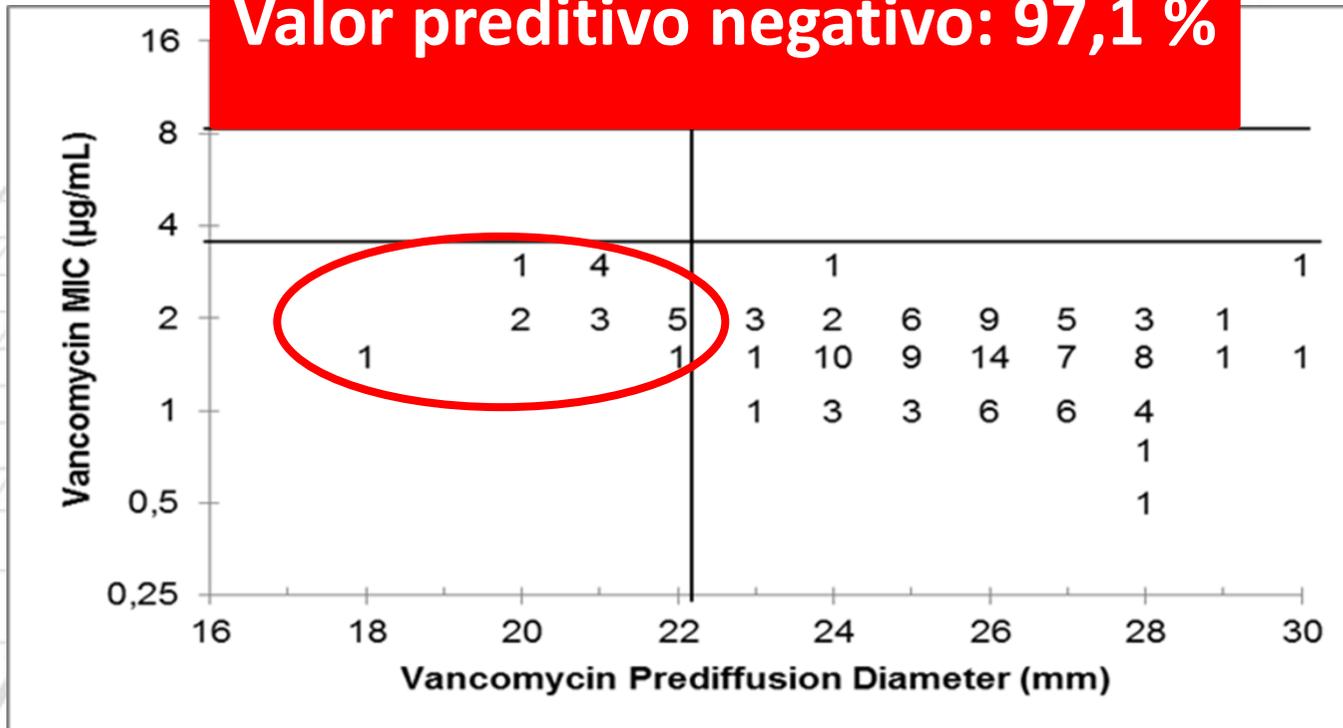


Alessandro Conrado de Oliveira Silveira ^{a,b,*}, Gustavo Enck Sambrano ^a, Thiago Galvão da Silva Paim ^a, Juliana Caierão ^a, Caio Mauricio Mendes de Cordova ^b, Pedro Alves d'Azevedo ^a

^a Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, RS, Brazil

^b University Regional of Blumenau, SC, Brazil

Valor preditivo negativo: 97,1 %



Avaliação das metodologias

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Apr. 2011, p. 1489–1494

0095-1137/11/\$12.00 doi:10.1128/JCM.02302-10

Copyright © 2011, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 49, No. 4

Performance of Various Testing Methodologies for Detection of Heteroresistant Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus* in Bloodstream Isolates[∇]

Sebastian J. van Hal,^{1,2,†*} Michael C. Wehrhahn,^{1,†} Thelma Barbagiannakos,¹ Joanne Mercer,¹
Dehua Chen,¹ David L. Paterson,³ and Iain B. Gosbell^{1,2}

Department of Microbiology & Infectious Diseases, Sydney South West Pathology Service-Liverpool Hospital, Locked Bag 7090, Liverpool BC NSW 1871,¹ Antibiotic Resistance & Mobile Elements Group, School of Medicine, University of Western Sydney, Sydney,² and University of Queensland Centre for Clinical Research (UQCCR), Brisbane,³ Australia

TABLE 2. Comparison of hVISA detection methods to PAP-AUC at hVISA prevalence of 12%^c

Method (MIC cutoff [$\mu\text{g/ml}$])	No. of isolates ^a		Sensitivity (%)	Specificity (%)	NPV (%)	PPV (%)	% Accuracy ^b
	hVISA (TP = 55)	VSSA (TN = 399)					
Etest (≥ 1.5)	50	263	91	66	98	27	69
BMD (≥ 1.5)	49	335	89	84	98	43	85
MET	49	218	89	55	97	21	59
BMD (≥ 2)	45	388	82	97	97	80	95
Etest (≥ 2)	39	375	71	94	96	62	91
GRD Etest	39	375	71	94	96	62	91
Vitek2 (≥ 2)	14	382	25	96	90	45	87

TABLE 3. Sensitivity and specificity values for the different methods in determining hVISA

Method	Correct no. of hVISA isolates identified (<i>n</i> = 21)	No. of false positives	No. of false negatives	% sensitivity	% specificity
Etest macromethod, 24 h	3	0	18	14	100
Etest macromethod, 48 h	12	5	9	57	96
Etest GRD, 24 h	9	1	12	43	99
Etest GRD, 48 h	12	3	9	57	97
BHI screen agar, 0.5 McFarland, 24 h	9	0	12	43	100
BHI screen agar, 0.5 McFarland, 48 h	19	8	2	91	94
BHI screen agar, 2 McFarland, 24 h	16	13	5	76	89
BHI screen agar, 2 McFarland, 48 h	17	39	0	100	67

and

Ava

Research Article

Evaluation of the Accuracy of Phenotypic Methods for the Detection of Heteroresistant Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus* (hVISA)

Silveira ACO^{1,2*}, Da Cunha GR¹, Caierão J¹, De Cordova CMM², and d'Azevedo PA¹

¹Department of Health Sciences, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Brazil

²Department of Pharmaceutical Sciences, Regional University of Blumenau, Brazil

Table 2: Parameters of the main screening tests for the detection of hVISA.

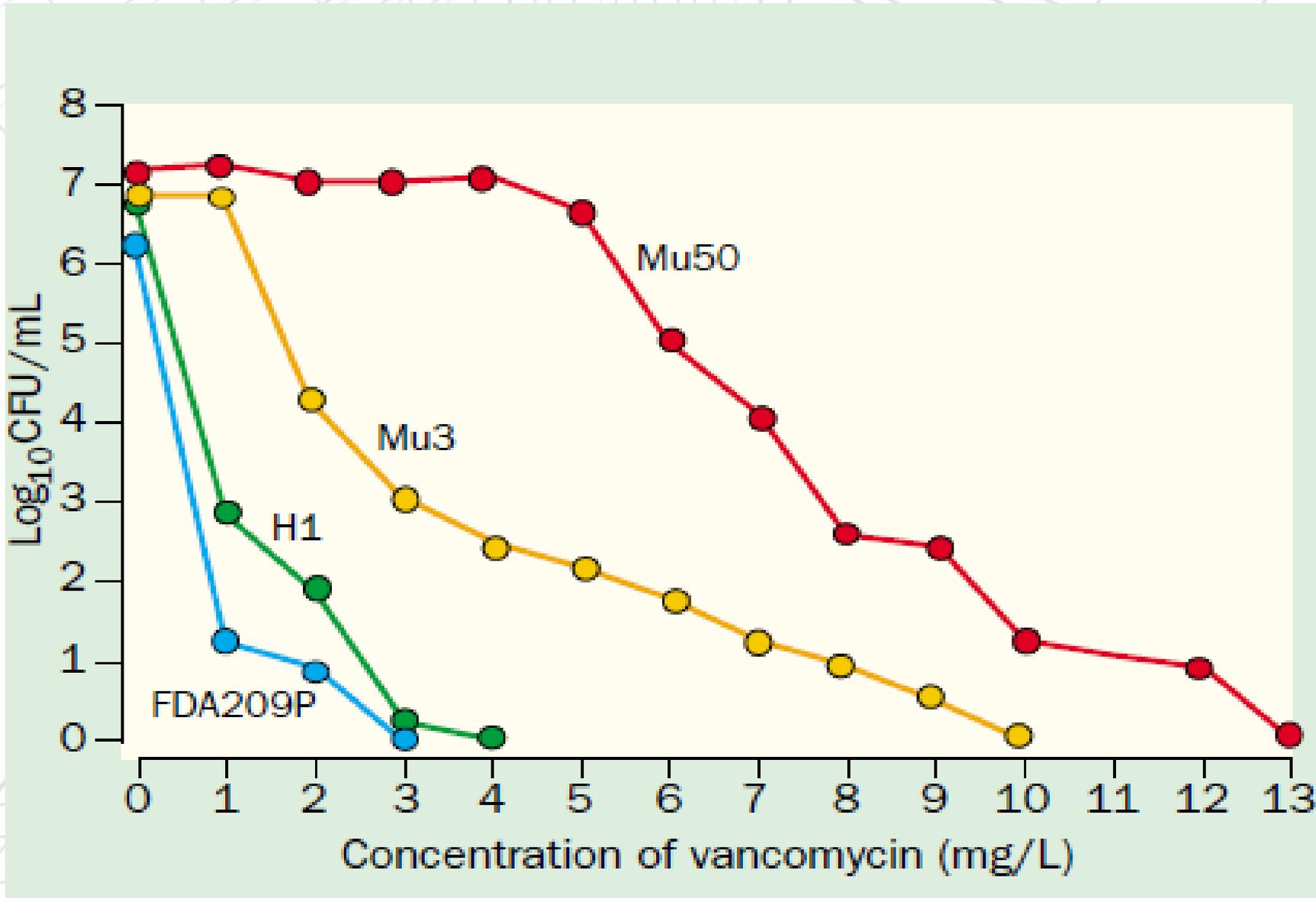
Methodology	Sensitivity	Specificity	PPV ^a	NPV ^b	Accuracy
Etest GRD ^c	66.7%	97.3%	72.3%	96.5%	94.3%
Etestmacromethod	75%	94.6%	60%	97.2%	92.7%
Agar screening ^d	90.9%	93.8%	58.8%	99.1%	93.5%

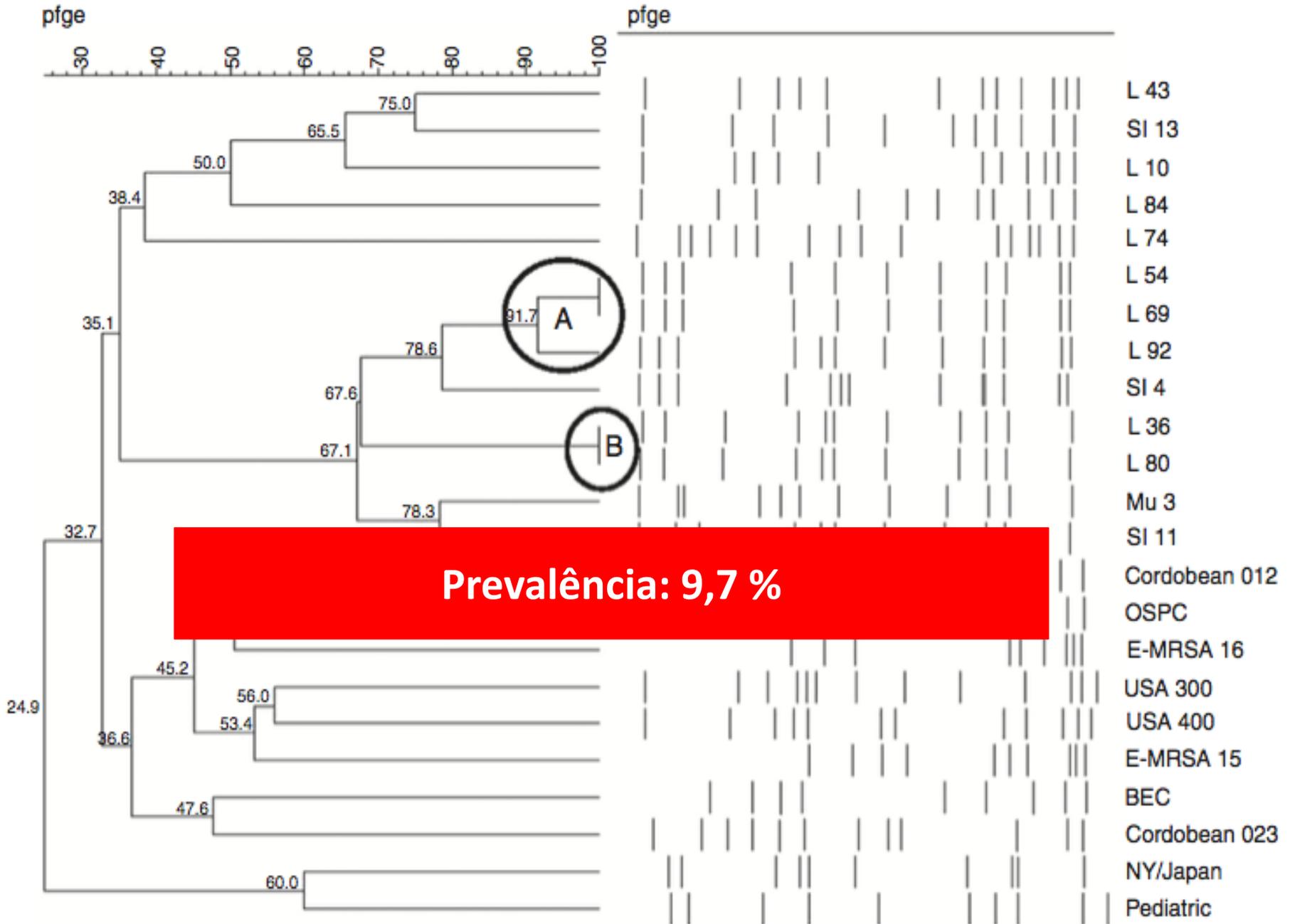
^a- Positive predictive value

^b- Negative predictive value

^c- Etest glycopeptides resistance detection[®]

^d- Agar screening in brain-heart infusion (BHI) with 4 µg/mL vancomycin and 16 g/L pancreatic digest of casein





RESEARCH ARTICLE

Clinical and Microbiological Characteristics of Heteroresistant and Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus* from Bloodstream Infections in a Brazilian Teaching Hospital

Thaina Miranda da Costa¹, Priscylla Guimarães Miguereles Morgado¹, Fernanda Sampaio Cavalcante¹, Andreia Paredes Damasco¹, Simone Aranha Nouér², Kátia Regina Netto dos Santos^{1*}

¹ Laboratório de Infecção Hospitalar, Departamento de Microbiologia Médica, Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, ² Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

Table 4. Microbiological characteristics of six *Staphylococcus aureus* isolates presenting vancomycin MIC of 2 mg/L with at least one screening test positive to detect heterogeneous vancomycin intermediate resistance (hVISA).

Isolatenumber	Methicillin resistance/SCCmec type	Broth microdilution test MIC (mg/L) ^a			Screening plates (48h of incubation)				Etest macro ^b (µg/mL)		Etest GRD ^b (µg/mL)		PAP-AUC ratio ^c	Interpretation (Clonality)
		TEI	OXA	DAP	BHla3	BHla4	BHl4ca	BHla6	VAN	TEI	VAN	TEI		
1594	SCCmecII	0.5	128	2	+	+	+	-	3	16	1	3	1.15	hVISA (USA100/ST5/CC5)
1636	SCCmecIV	0.25	8	1	+	-	-	-	4	4	1	1.5	0.50	False positive
1588	MSSA	0.25	0.5	1	-	-	-	-	4	12	1	3	ND	NA
1595	MSSA	0.5	0.5	2	-	-	-	-	3	16	0.5	3	ND	NA
1622	MSSA	0.25	0.25	1	+	-	-	-	2	2	0.75	1.5	ND	NA
1691	MSSA	0.25	≤0.2	1	+	-	-	-	6	4	0.75	3	ND	NA

Sequenciamento



Complete Genome Sequence of *Staphylococcus aureus* FCFHV36, a Methicillin-Resistant Strain Heterogeneously Resistant to Vancomycin

John Anthony McCulloch,^a Alessandro Conrado de Oliveira Silveira,^b Aline da Costa Lima Moraes,^c Paula Juliana Pérez-Chaparro,^d Manoella Ferreira Silva,^a Lara Mendes Almeida,^a Pedro Alves d'Azevedo,^e Elsa Masae Mamizuka^a

Department of Clinical and Toxicological Analyses, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, Brazil^a; Department of Pharmaceutical Sciences, Regional University of Blumenau, Blumenau, Santa Catarina, Brazil^b; Department of Plant Biology, Biology Institute, State University of Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil^c; Department of Periodontology, Dental Research Division, University of Guarulhos, Guarulhos, São Paulo, Brazil^d; Department of Microbiology and Parasitology, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil^e

We report here the sequence of the entire chromosome of *Staphylococcus aureus* strain FCFHV36, a methicillin-resistant strain heterogeneously intermediate to vancomycin, bearing a type II staphylococcal chromosome cassette *mec* element (SCC*mec*), belonging to multilocus sequence type (MLST) 105, and isolated from a vertebra of a patient with osteomyelitis.

Impacto

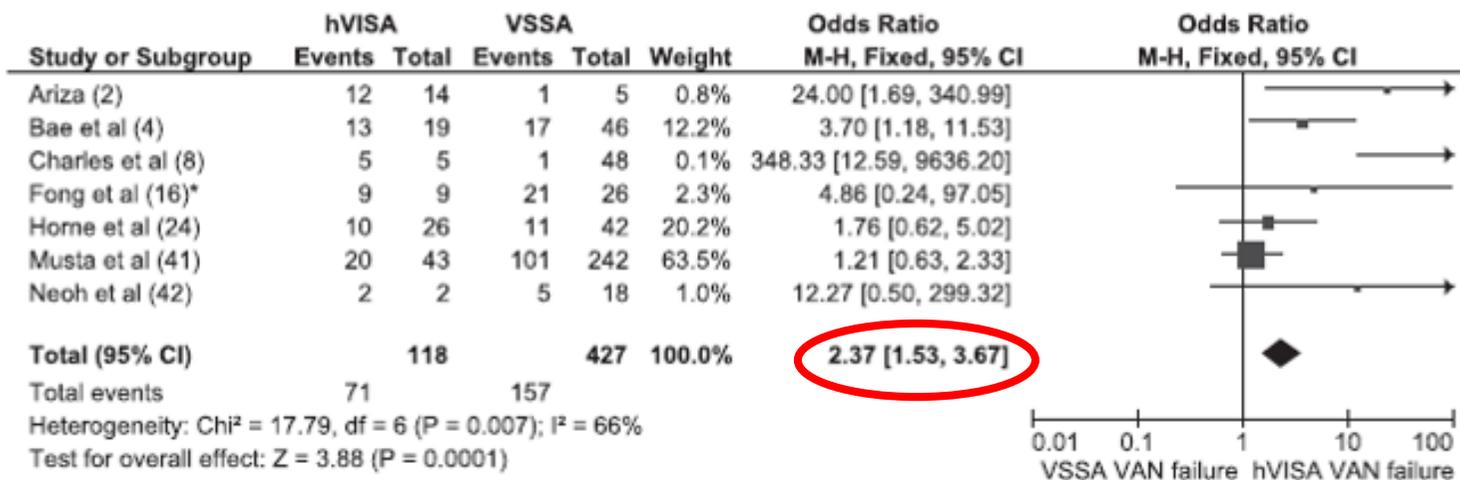
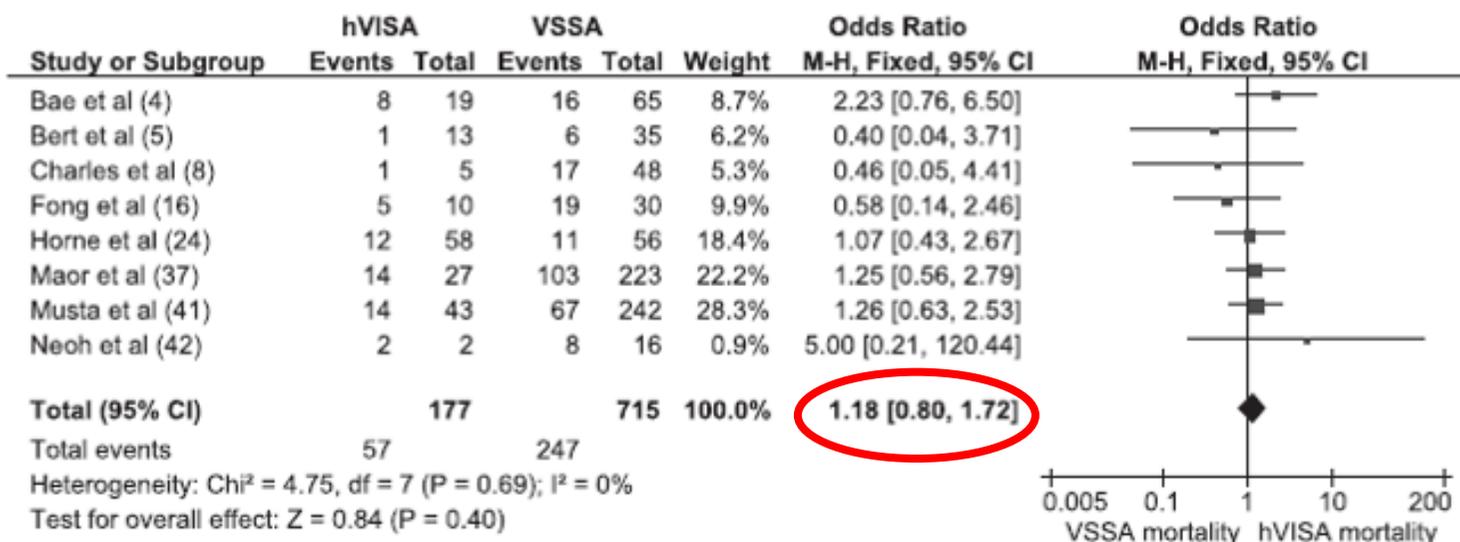


FIG. 1. Forest plot (using Mantel-Haenszel analysis) of events denoting vancomycin (VAN) treatment failure (with all definitions regarded the same) in hVISA- compared to VSSA-infected patients. Squares indicate point estimates, and the size of the square indicates the weight of each study. *, data obtained by personal communication.



VRSA

A PFGE and Dendrogram of *S. aureus* Strains

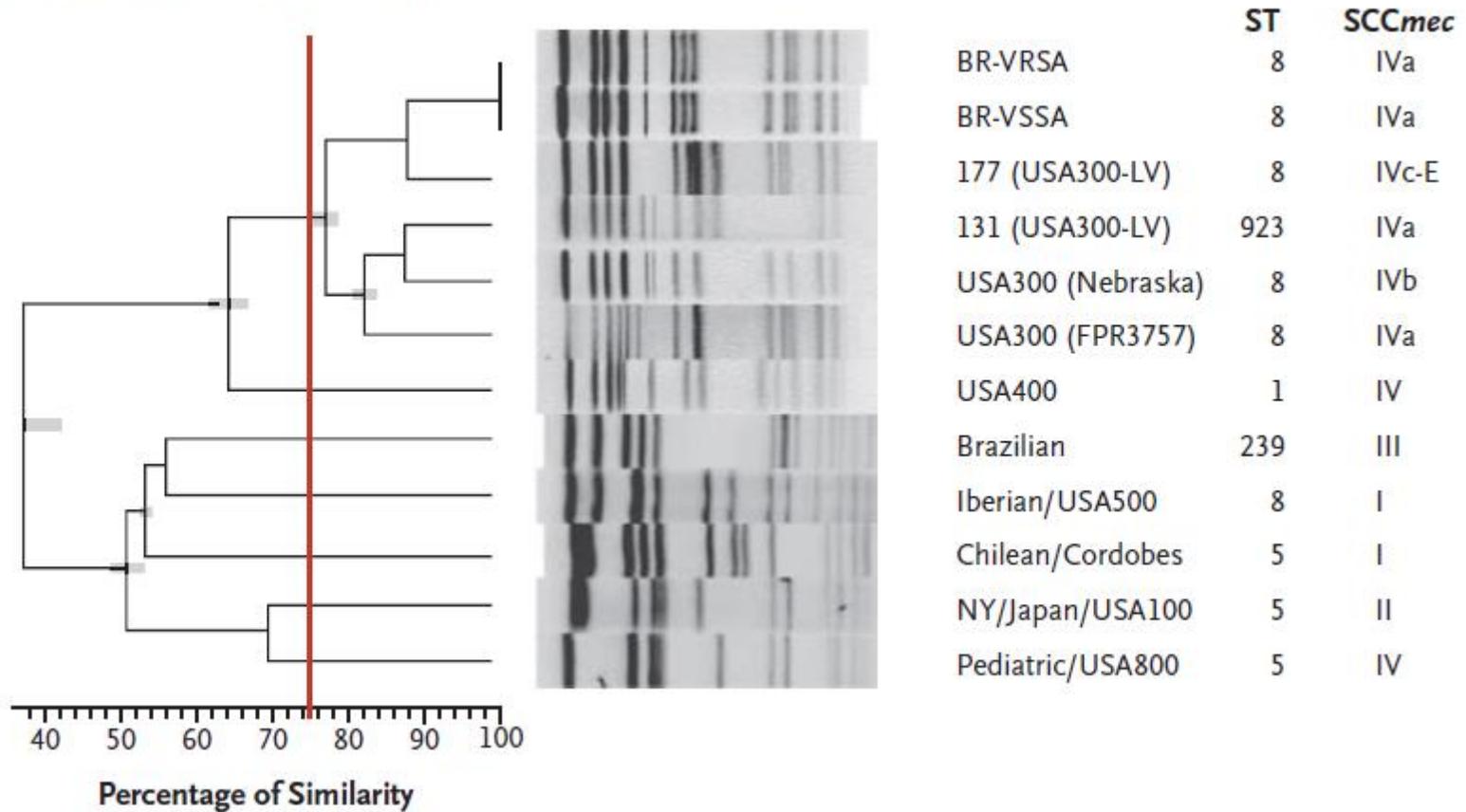


Figure 1. The Patient's Clinical Course before and after Isolation of the Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*.

Infecção por MRSA

Hemocultura
Abscesso
Trato respiratório inferior

CIM Vancomicina $\geq 1,5$ mg/L (Etest) ou 2 mg/L
(microdiluição)

Triagem para hVISA

Ágar BHI com 4 ug/ml de vancomicina
Inóculo de 2 na escala de McFarland
Incubação por 48 horas
Spot de 10 ul

Crescimento de 2 ou mais colônias

Sugerir modificação de
terapia com vancomicina

Encaminhar microrganismo
para laboratório de referência

Perspectivas futuras

- ❑ necessidade da realização de microdiluição em caldo
- ❑ grupo de trabalho para discussão de métodos de triagem para detectar diminuição da susceptibilidade à vancomicina
- ❑ redação de nota técnica
- ❑ programa de detecção e monitoramento da resistência, em parceria com o CGLAB
- ❑ desenvolvimento de novos testes diagnósticos
- ❑ sugestão de marcador molecular para detecção
- ❑ viabilização de outras alternativas terapêuticas: tigeciclina, daptomicina, linezolida

Conclusões

- ❑ A detecção da diminuição da susceptibilidade à vancomicina é um grande desafio
- ❑ Negligenciada no Brasil
- ❑ Cara → elitizada
- ❑ Problema grave de saúde pública
- ❑ Associada à altas taxas de morbidade e mortalidade
- ❑ Imprescindível a criação de programas públicos para detecção, controle e monitoramento
- ❑ Fundamental para diminuição de mortalidade e custos em saúde

Alessandro C. O. Silveira
acosilveira@furb.br

**51^o Congresso Brasileiro
de Patologia Clínica**
Medicina Laboratorial

3^o Congresso Brasileiro de
Informática Laboratorial

A Medicina Laboratorial na assistência à saúde

26 a 29 de setembro de 2017

Palácio das Convenções do Anhembi Parque

São Paulo SP

www.cbpcml.org.br

Agradecemos a sua participação



facebook

www.facebook.com/congressoSBPCML



twitter

www.twitter.com/sbpcml



flick-r

www.flickr.com/sbpcml



youtube

www.youtube.com/sbpcml