

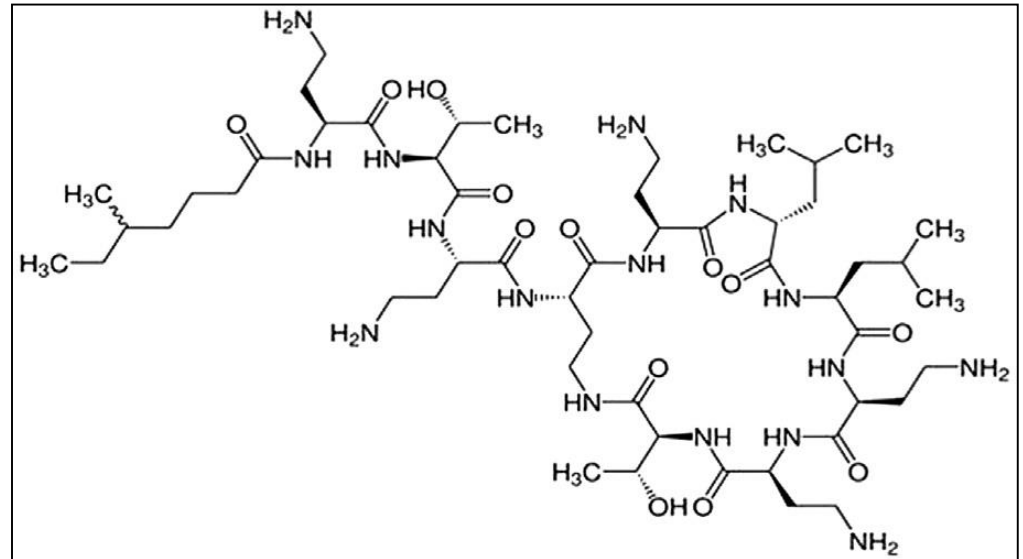
Optimalisatie van colistine gevoeligheidsbepaling in het routine laboratorium.

Inhoud

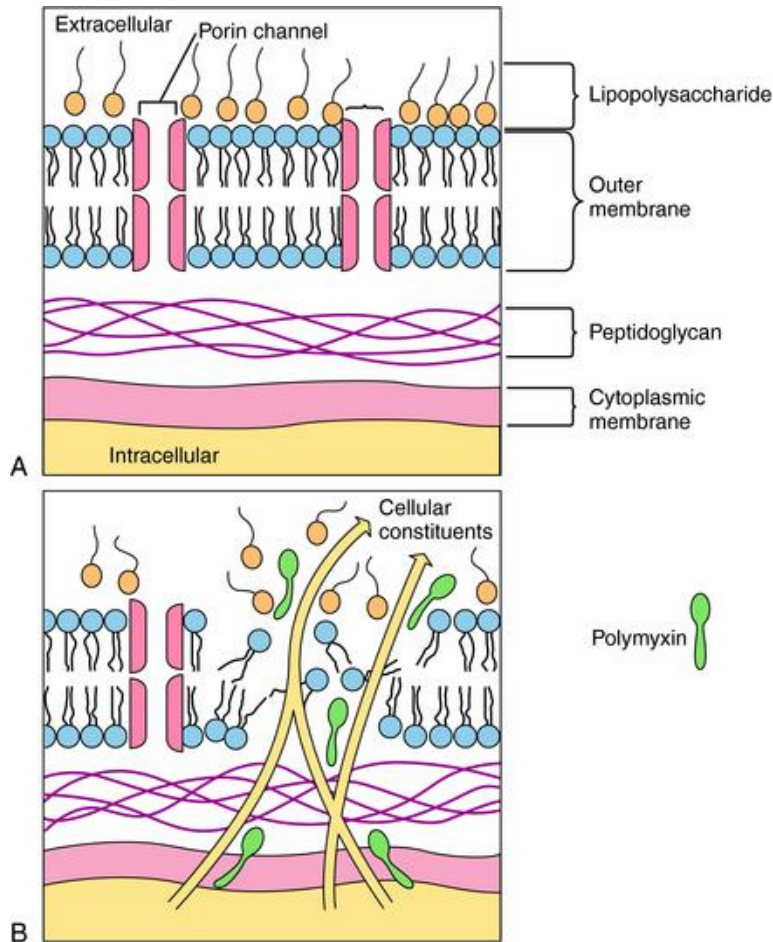
- Inleiding
- Resistentiemechanismen
- Gevoeligheidsbepaling
- Praktisch deel

Inleiding: colistine

- = polymixine E (1940)
 - Gramnegatieve bacillen
 - Toxiciteit
 - MDR
-
- Prodrug = CMS
 - Lipopeptide
 - Cyclisch peptide = hydrofiel
 - Vetzuurketen = hydrofoob



Inleiding: werkingsmechanisme



- Interactie met LPS
- Verplaatsen van Ca^{2+} en Mg^{2+}
- Verstoren membraan
- Lekken cel inhoud
- Cel dood

Resistentie

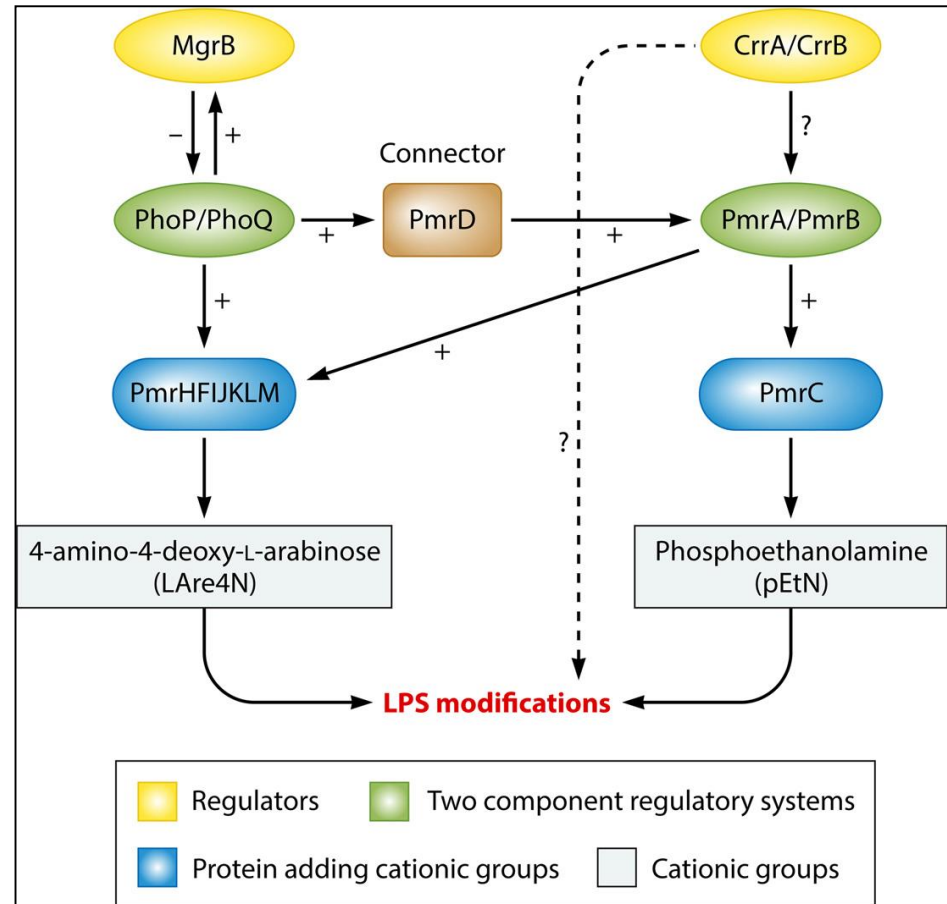
- Modificatie van LPS
 - Additie 4-amino-deoxy-l-arabinose (l-ara4N)
 - Additie fosfoethanolamine (PEtN)
- Verhogen lading LPS
- Minder affiniteit voor colistine

Intrinsiek resistente bacteriën

- Continue expressie
 - PmrHFIJKLM → I-ara4N
 - eptB → PEtN
- *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Serratia* spp., *Morganella* spp.
- Nieuw (2017): *Hafnia* spp.

Verworven resistentie: chromosomaal

- Normaal niet actief
- Stress → activatie → betere overleving
- Mutaties → activatie → resistentie



Verworven resistentie: plasmidair

- Recent 2016
- Mcr-1
 - Fosfoethanolamine transferase
 - Wereldwijde verspreiding
 - *Enterobacteriaceae* vooral *E. coli*
 - Meer bij dieren dan mensen
 - Epidemiologisch belangrijk
- Mcr-1.2
- Mcr-2

Gevoeligheidsbepaling

Ingewikkeld!

Gevoeligheidsbepaling: dilutie methoden

- BMD = referentie methode
 - Niet gecoat polystyreen
 - Geen surfactant toevoegen
 - Colistinesulfaat (geen CMS)
 - Cation adjusted media
- Commerciële methode
 - Sensititer: 2 studies
 - Umic: geen studies
 - SensiTest: geen studies

Gevoeligheidsbepaling: diffusie methoden

- Disk diffusie → veel vals gevoelige resultaten
- Pre-diffusie (Rosco) → beter?, geen studies
- Gradiënt diffusie (E-test)
 - VME 5-39%
 - Lage MIC waarde overschat
 - Hoge MIC waarde onderschat
- → afgeraden

Gevoeligheidsbepaling: Vitek 2

Studie	# isolaten	# resistent	Referentie methode	#VME	# ME
Tan et al. 2007	44	0 (0%)	Agar dilutie	0 (0%)	0 (0%)
Tan and Ng 2007	172	54 (31,4%)	Agar dilutie	31 (57,4%)	0 (0%)
Lee et al. 2013	213	13 (6,1%)	Agar dilutie	2 (15,3%)	0 (0%)
Piewngam and Kiratisin 2014	290	27 (9,4%)	BMD	2 (7,4%)	0 (0%)
Dafopoulou et al. 2015	61	58 (95%)	BMD	0 (0%)	2 (66%)

Colistin	CS	cs01n	CA-SFM	I	96.1	3.4	0.7	0	97.3	5.4	1.4	N/A	99.2
----------	----	-------	--------	---	------	-----	-----	---	------	-----	-----	-----	------

Gevoeligheidsbepaling: kwalitatieve methoden

- Fenotypisch: Rapid Polymyxin NP-test.
 - Sensitiviteit 99,3%
 - Specificiteit 95,4%

- Genotypisch: PCR
 - Mcr-1
 - Mcr-2

Breekpunten

	Gevoelig	Resistent
<i>Enterobacteriaceae</i>	$\leq 2 \mu\text{g/ml}$ ¹	$> 2 \mu\text{g/ml}$ ¹
<i>P. aeruginosa</i>	$\leq 2 \mu\text{g/ml}$	$> 2 \mu\text{g/ml}$
<i>A. baumannii</i> complex	$\leq 2 \mu\text{g/ml}$	$> 2 \mu\text{g/ml}$

¹ bij CLSI en jwg epidemiologische cutoff waarde, bij EUCAST breekpunten

Praktijk: fase 1

Methodode	EA	CA	# ME	# VME
Vitek 2	93,8%	96,8%	0/16	1/16
E-test	87,5%	100%	0/16	0/16
Pre-diffusie	-	100%	0/16	0/16
Disk diffusie	-	75%	0/16	8/16

		Rapid Polymyxin NP test	
		R	S
Sensititer	R	15	0
	S	1	12

Sensitiviteit: 100%

Specificiteit: 92,3%

Praktijk: fase 1

- Beperking: klein # stammen, vooral *Enterobacteriaceae*
- Vitek 2: goede EA en CA overeenkomst
- E-test: categorisatie
- Disk diffusie: niet betrouwbaar
- Pre-diffusie: potentieel
- Sensititer: CAVE skipped wells
- Rapid Polymyxin NP test: OK

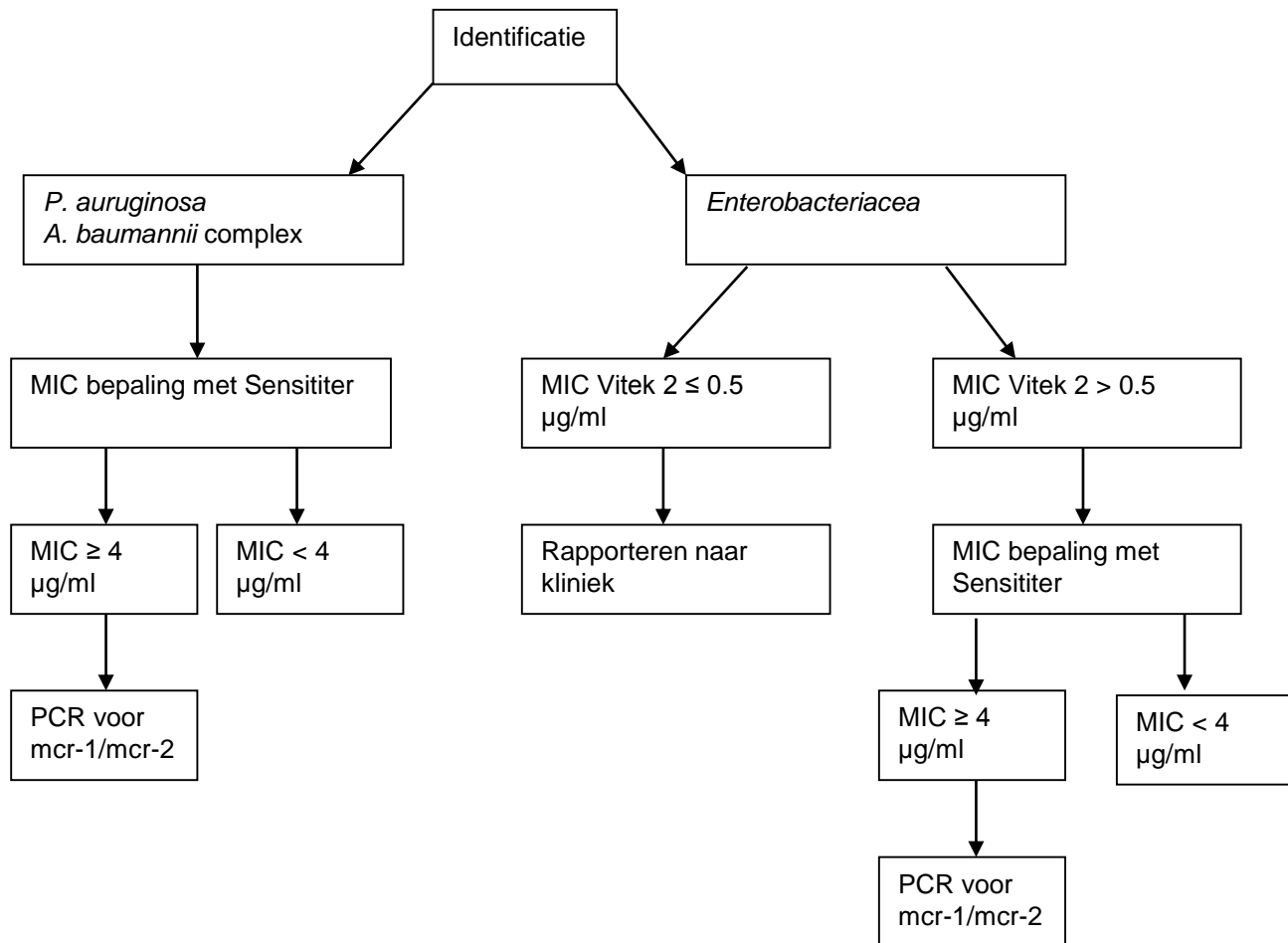
Praktijk: fase 2

	Vitek-Sensititer				Umic-Sensititer			
	EA	CA	# ME	#VME	EA	CA	# ME	#VME
<i>A. baumannii</i>	84.0%	96.0%	0/23	1/2	96.0%	100%	0/23	0/2
<i>P. aeruginosa</i>	41.9%	100%	0/31	0/0	100%	100%	0/31	0/0
<i>Enterobacteriaceae</i>	97.5%	97.6%	0/27	1/15	92.5%	97.5%	0/27	1/15

Praktijk: fase 2

- *P. aeruginosa* en *A. baumannii*
 - Klein aantal isolaten + (bijna) geen resistente
 - Moeilijke inschatting VME
- *Enterobacteriaceae*
 - Geen grote verschillen
 - Enkele VME bij MIC rond breekpunt

Stroomschema



Epidemiologie

- Vanaf september 2016
- 12 colistine resistente stammen
(4 *K. pneumoniae*, 1 *K. oxytoca*, 1 *E. aerogenes*, 6 *E.coli*)
- 4 mcr-1 positief: allemaal *E. coli*
- Vrij gevoelige isolaten
- Aantal gevoeligheidsbepalingen:
 - 4472 *Enterobacteriaceae*
 - 479 *P. aeruginosa*
 - 29 *A. baumannii*

Epidemiologie

- Aanwezigheid van mcr-1 (1/1000)
- Alleen bij *E. coli*
- Geen mcr-2
- Gevoelige bacteriën
- Andere studies
 - Barcelona: alleen mcr-1 pos *E. coli*, ook bij gevoelige bacteriën
 - Nederland: alleen mcr-1 pos *E. coli*
 - Zwitserland: geen mcr-1

Optimalisatie van colistine gevoeligheidsbepaling in het routine laboratorium.



Bedankt voor de aandacht

Vragen?