

ANTIBIOGRAM, ONO ŠTO NE ZNAMO: UPUTSTVA ZA ISPRAVNO TUMAČENJE



Via Carlo Farini, 81 – 20159 Milano - Tel +39 2 6071934 – info@sifo.it – www.sifoweb.it



**ANTIBIOGRAM, ONO ŠTO NE ZNAMO:
UPUTSTVA ZA ISPRAVNO TUMAČENJE**

ANTIBIOGRAM, ONO ŠTO NE ZNAMO: UPUTSTVA ZA ISPRAVNO TUMAČENJE

ANTIBIOGRAM, ONO ŠTO NE ZNAMO: UPUTSTVA ZA ISPRAVNO TUMAČENJE

Naziv originala

Antibiogramma, questo sconosciuto: Istruzioni per un'interpretazione corretta

Prevod uradili

Mag. farm. spec. Dragana Rajinac
Dr sc. spec. Zora Četković
*Sekcija za bolničku farmaciju,
Savez farmaceutskih udruženja Srbije*

Recenzent

Prof. dr Branislava Miljković
*Katedra za farmakokinetiku i kliničku farmaciju,
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet*

Izdavač

Savez farmaceutskih udruženja Srbije

Za izdavača

Prof. dr Branislava Miljković

Glavni i odgovorni urednik

Prof. dr Branislava Miljković

Štampa

Dosije studio, Beograd

Tiraž

150 primeraka

Mesto i godina izdavanja

Beograd, 2024.

ISBN 978-86-918145-5-7

Sadržaj

PREGOVOR PREDSEDNIKA SIFO	VII
PREGOVOR PREDSEDNICE SAVEZA FARMACEUTSKIH UDRUŽENJA SRBIJE	VIII
ANTIBIOGRAM: OPŠTI POJMOVI	1
Šta je antibiogram?	1
Šta se podrazumeva pod MIC? Koje su tehnike za određivanje MIC?	1
Šta se podrazumeva pod minimalnom baktericidnom koncentracijom (MBC)?	2
Šta je EUCAST? Koje su nove definicije za tumačenje tri kategorije (S, I i R) na snazi od 2019?	4
Epidemiološki cut-off.....	5
Izveštaj antibiograma.....	6
Kako se tumače MIC?.....	8
U kojim slučajevima se MIC ne radi?	8
U kojim slučajevima se određuje MIC, ali se ne izveštava kategorija?	9
Antibiotici sa testiranim senzitivnošću, antibiotici slični testiranim, sinergistički efekat	9
Napomene/komentari koji dopunjuju izveštaj	10
Uzimanje uzorka.....	10
TUMAČENJE ANTIBIOGRAMA*	11
Koje parametre treba uzeti u obzir za tumačenje antibiograma?	11
<i>Farmakokinetički i farmakodinamski parametri koje treba znati pri izboru antibiotika</i>	<i>11</i>
<i>Mesto infekcije i sposobnost antibiotika da dođe do njega u terapijskim koncentracijama; uticaj komorbiditeta</i>	<i>15</i>
Tumačenje rezistencije i osetljivosti mikroorganizma na antibiotik	16
Čitanje antibiograma: primer br. 1	19
Čitanje antibiograma: primer br. 2	21
Čitanje antibiograma: primer br. 3	22
Čitanje i tumačenje antibiograma na osnovu sakupljenog uzorka (krv, urin, rane itd.).....	23
REFERENCE	25

* **ASC SIFO Infektologija**

Koordinator ASC Infektologija: dr Francesca Vivaldi, Azienda Asl Toscana Nord Ovest, Toscana

Članovi ASC Infektologija: dr Ahimsa Carissimi, Azienda Asl Toscana Nord Ovest, Toscana; dr Lorenzo Gambitta, ASST Santi Paolo e Carlo Milan, Lombardia; dr Roberta Marra, ASL1 Napoli, Campania; dr Chiara Parati, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Lombardia; dr Vincenzo Picerno, Ente Ecclesiastico Ospedale Generale Regionale „F. Miulli“, Puglia; dr Filippo Urso, AO Cosenza, Calabria

PREGOVOR PREDSEDNIKA SIFO

Ovaj priručnik je kreiran kao prilika za *SIFO* i naučnu oblast za infektivne bolesti da ponudi svojoj naučnoj zajednici bolju profesionalnu orijentaciju u odlukama o pitanju koje svakodnevno utiče na rad bolničkog i farmaceuta iz apoteka.

Izveštaj o osetljivosti na antimikrobne lekove – „Antibiogram“ bi trebalo da bude naučni osnov za propisivanje i izdavanje antibiotika, ali nažalost to se ne dešava uvek i posledično postaje jedan od glavnih uzroka koji određuje fenomen rezistencije na antibiotike.

Godine 2025. biće obeležena deseta godišnjica od usvajanja Globalnog akcionog plana Svetske zdravstvene organizacije (SZO) protiv antimikrobne rezistencije (AMR) i, uprkos sadašnjem napretku, i dalje je potrebno započeti konkretne i efikasne aktivnosti u iskorenivanju ove pojave.

Ako mere prevencije AMR ne budu radikalne i efikasne, do 2050. godine moglo bi se proceniti do 10 miliona smrtnih slučajeva godišnje (više od smrtnih slučajeva uzrokovanih malignim tumorima) i enormni finansijski troškovi od 100 triliona dolara.

Stoga, ovaj priručnik još jednom želi da predstavi profesionalni doprinos naših članova u skladu sa novim strategijama koje će Ministarstvo zdravlja uvesti novim dokumentom pod nazivom „Strategija i nacionalni plan za borbu protiv rezistencije na antibiotike (*SePNCAR*) 2022–2025“, čemu je *SIFO* doprineo svojim odlučnim profesionalnim doprinosom u okviru Grupacija Rad.

Verujući da sam novim smernicama za profesionalnu obuku postigao željeni cilj, koristim ovu priliku da Vas sve srdačno pozdravim.

Arturo Cavaliere
Predsednik SIFO

PREDGOVOR PREDSEDNICE SAVEZA FARMACEUTSKIH UDRUŽENJA SRBIJE

Drage kolegice i kolege,

S velikim zadovoljstvom vam predstavljamo prevod priručnika *Antibiogramma, questo sconosciuto: Istruzioni per un'interpretazione corretta*. Priručnik je osmišljen kao podrška bolničkim farmaceutima u svakodnevnoj praksi, s ciljem unapređenja znanja i veština u interpretaciji rezultata antibiograma.

U današnje vreme, kada je problem rezistencije na antibiotike sve prisutniji, pravilna interpretacija antibiograma postaje ključna za postizanje optimalnih ishoda terapije.

Razumevanje rezistencije i osetljivosti mikroorganizama na antibiotike ima ključni značaj u kliničkoj praksi, jer omogućava ispravne odluke o izboru antimikrobne terapije i pomaže u usmeravanju lečenja. Adekvatno tumačenje rezultata antibiograma omogućava efikasnu terapiju, smanjenje razvoja rezistencije, usmeravanje empirijske terapije, sprečavanje komplikacija i smrtnog ishoda, posebno kod ozbiljnih bakterijskih infekcija. Na taj način, tumačenje rezistencije i osetljivosti mikroorganizama na antibiotike igra ključnu ulogu u personalizovanom i odgovornom pristupu u lečenju infekcija.

Priručnik nudi jasne smernice, grafičke prikaze, i primere koji su adekvatna podrška u donošenju optimalnih odluka prilikom odabira antibiotika.

Zahvaljujemo se našim kolegama iz Italije, predsedniku *SIFO* Dr Arturo Cavaliere, Dr Piera Polidorii, Odseku *SIFO* Infektologija na ustupljenom pravu za prevod originalne verzije priručnika kao i mag. farm. spec. Dragani Rajinac i dr sc. spec. Zori Četković, članovima sekcije za bolničku farmaciju, Saveza farmaceutskih udruženja Srbije, na inicijativi i prevodu priručnika.

Nadamo se da će ovaj priručnik postati dragocen izvor informacija i doprineti poboljšanju ishoda u lečenju infekcija.

Prof. dr Branislava R. Miljković

Predsednica Saveza farmaceutskih udruženja Srbije

ANTIBIOGRAM: OPŠTI POJMOVI

Šta je antibiogram?

Antibiogram (ili test antimikrobne osetljivosti) je mikrobiološki test koji se koristi za **određivanje *in vitro* fenotipa osetljivosti/rezistencije soja** bakterije ili gljivice na antiinfektivne agense koji su potencijalno aktivni na mikrobnom soju koji pripada izolatu.

Test se izvodi izlaganjem standardnog mikrobnog opterećenja nizu definisanih koncentracija leka.

Da bi rezultati testa mogli da se tumače i budu pouzdani i ponovljivi, mora se uraditi antibiogram prateći standardne kriterijume koje definišu međunarodna naučna tela kao što je, na primer, Evropski komitet za ispitivanje antimikrobne osetljivosti (*EUCAST*).

Da bi se izvršio izbor najefikasnijeg antibiotika, rezultati antibiograma moraju biti adekvatno protumačeni, uzimajući u obzir različite faktore, uključujući kliničke informacije, informacije koje se odnose na pacijenta, kao i epidemiološke informacije, vezane za okruženje. U suštini, antibiogram pruža korisne podatke za tačno ciljanu terapiju, efikasnu za pacijenta; za informacije epidemiološke prirode, neophodne za praćenje razvoja rezistencije na antibiotike; za ažuriranje spektra kliničkog delovanja različitih antimikrobnih agenasa; pa sve do usvajanja mera kontrole i prevencije početka/difuzije rezistencije i razvoja empirijskih racionalnih antibiotskih terapija itd.

Šta se podrazumeva pod MIC? Koje su tehnike za određivanje MIC?

Pod izrazom „minimalna inhibitorna koncentracija“ (često označen skraćenicom *MIC*, od engleskog izraza „*minimal inhibitory concentration*“) se podrazumeva najniža koncentracija antimikrobnog agensa sposobnog da *in vitro* inhibira rast bakterije nakon 12-24 sati inkubacije. Izražava se u mg/L ili mikrogramima/mL.

MIC se određuje *in vitro* ispitivanjem standardne koncentracije mikroorganizama sa rastućom serijom razblaženja antibiotika, u metodi razblaživanja u hranljivoj podlozi tj. medijumu. Detaljnije objašnjeno, postavi se serija epruveta u kojima se u tečni medijum dodaju različite doze ispitivanog antibiotika, a zatim se taj soj bakterije inokuliše u konstantnoj koncentraciji. Ako se na kraju perioda inkubacije detektuje prisustvo bakterija (na primer procenom zamućenosti) i između epruveta nema rasta bakterija (bistra tečnost) ona sa najmanjom koncentracijom antibiotika ukazuje na vrednost minimalne inhibitorne koncentracije za par bakterija/antibiotik koji se istražuje.

Ova tehnika određivanja *MIC* se može izvesti ručno pomoću standardnih epruveta (makrometoda) ili ručno ili automatski pomoću mikroploča povezanih sa čitačima automatskog zamućenja (mikrometoda). U većini laboratorija se zbog jednostavnosti i ponovljivosti široko koristi automatska metoda mikrorazređivanja, koja koristi panele sa brojnim bunarima sa postepenim razblaženjima liofilizovanih antibiotika.

Druga klasična tehnika za određivanje aktivnosti antibiotika je difuzioni test sa agar diskovima (Kirbi-Bauer metoda). U ovoj metodi, antibiotik se nalazi u unapred definisanim količinama na diskovima celuloze i odatle difunduje u agar ploču, gde su bakterije uzgajane. Posle 18-24 sati inkubacije meri se prečnik kružne zone inhibicije oko diska. Nije moguće znati *MIC* vrednost direktno, ali u poređenju sa referentnim vrednostima (kliničke *breakpoints* tj. granične vrednosti) prečnika inhibicije rasta bakterije moguće je proceniti aktivnost antibiotika u odnosu na određenu bakteriju.

Vrednosti *MIC* su veoma korisno oruđe i za mikrobiologa i za kliničara posebno zato što pomažu u izboru najbolje terapijske strategije, pre svega u slučaju posebnih kritičnih pitanja koja se odnose na, na primer, mesta infekcije do kojih je teško doći terapijom, na neuobičajena klinička stanja pacijenta, prisustvo multirezistentnih mikroorganizama itd.

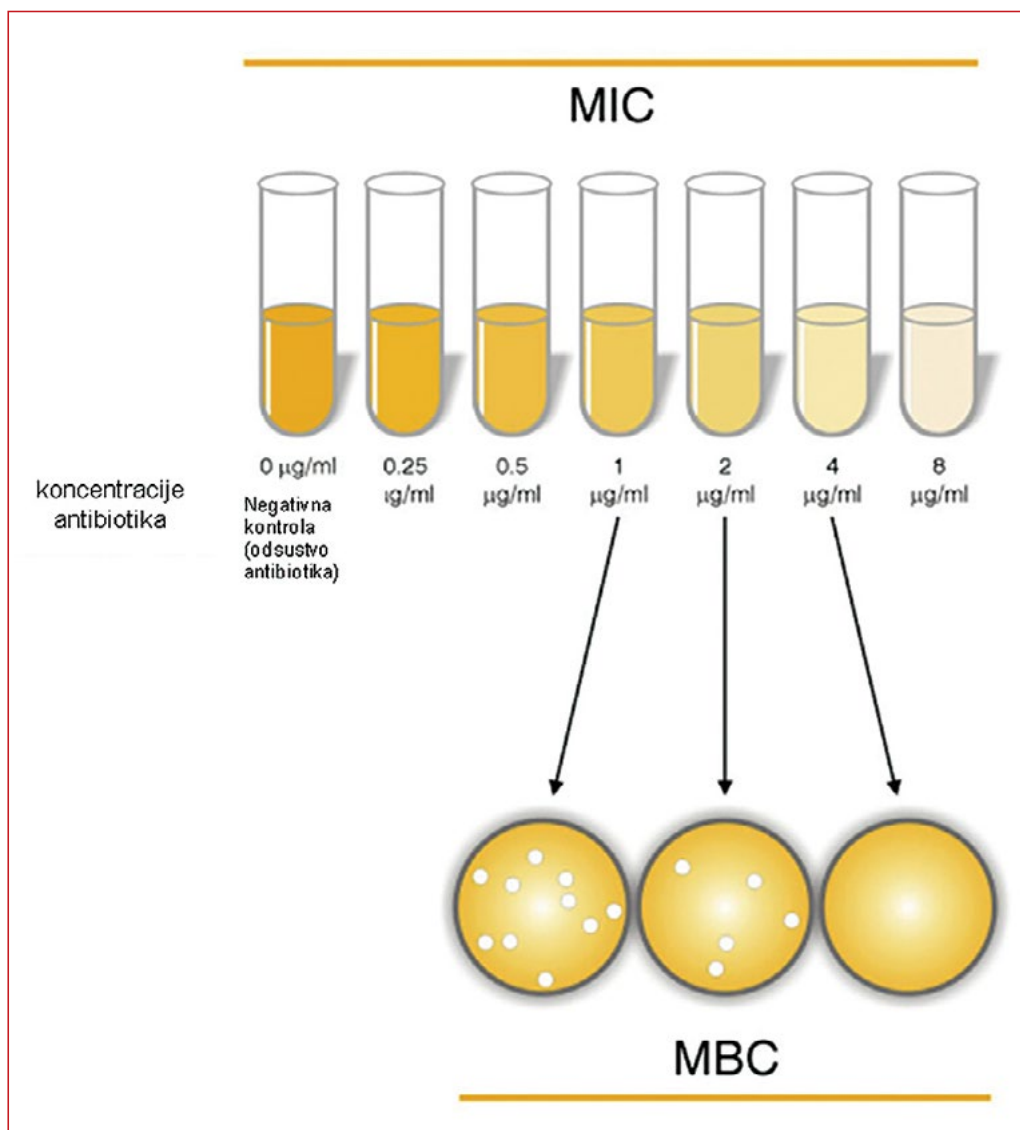
U svakom slučaju, mora se uzeti u obzir da, pored pravilnog tumačenja antibiograma, terapijski rezultat takođe zavisi od:

- mesta infekcije
- vrste mikroorganizma.
- imunološkog statusa pacijenta
- funkcionalnosti organa
- režima doziranja leka.

Šta se podrazumeva pod minimalnom baktericidnom koncentracijom (MBC)?

Sa izrazom „minimalna baktericidna koncentracija“ (često se pominje skraćeniica „MBC“, od engleskog izraza „*minimal bactericidal concentration*“) označava se najniža koncentracija antimikrobnog agensa neophodna da izazove smrt više od 99,9% date mikrobne populacije.

Ako se vrednosti *MIC* i *MBC* poklapaju, u pitanju su baktericidni antibiotici; a ukoliko su vrednosti *MBC* mnogo veće od *MIC* u pitanju su bakteriostatski antibiotici. *MBC* je koristan u slučajevima ozbiljnih infekcija kod kojih se moraju postići baktericidni efekti, kao što je endokarditis, teška septikemija, meningitis. Nedostatak standardizacije testa kojim se utvrđuje *MBC* čini da ovaj test nije u širokoj primeni u kliničkoj praksi. Slika 1 ilustruje određivanje *MIC* i *MBC*.



Slika 1. Minimalna inhibitorna koncentracija MIC i minimalna baktericidna koncentracija MBC
 Izvor: <https://www.microbiologiaitalia.it/test-microbiologici/antibiogramma/>
 (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

Slika iznad ilustruje određivanje MIC koristeći metodu razblaživanja (MIC odgovara prvoj epruveti sa bistrim medijumom); dole: određivanje MBC (MBC odgovara koncentraciji antibiotika u prvoj podlozi gde nije uočen rast bakterija).

Šta je EUCAST? Koje su nove definicije za tumačenje tri kategorije (S, I i R) na snazi od 2019?

Evropski komitet za ispitivanje antimikrobne osetljivosti (EUCAST) je naučni komitet za definisanje smernica za tumačenje antimikrobne rezistencije. Do danas, kliničke granične vrednosti (*breakpoints*) koje definiše EUCAST su jedine koje je zvanično priznala EMA (Evropska agencija za lekove), organizacija koja je odgovorna za stavljanje lekova u promet u zemljama Evropske unije.

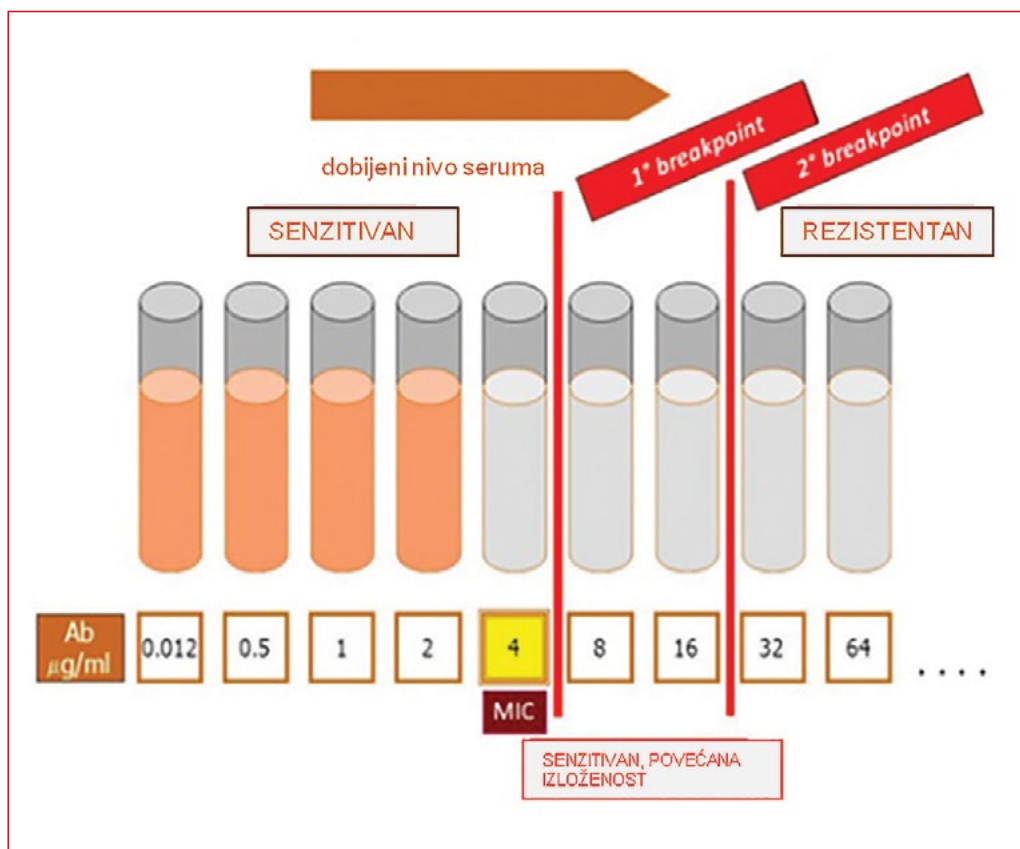
Kliničke *breakpoints* su granične vrednosti (definisane u smislu MIC ili prečnika zone inhibicije) koje razlikuju osetljivost od rezistencije određenih mikrobnih vrsta na doze antibiotika dostupne *in vivo*. Koriste se za definisanje kliničke kategorije osetljivosti (S-I-R) i utvrđuju i godišnje ažuriraju od strane EUCAST procenjivanjem različitih parametara: mikrobioloških, farmakoloških (farmakokinetički/farmakodinamski, PK/PD odnos i odgovor na lečenje) i kliničkih (dokazi iz literature).

EUCAST je nedavno izmenio definicije kategorija osetljivosti S, I i R, koje se od danas tumače:

- **S – Senzitiv (osetljiv), standardni režim doziranja:** mikroorganizam je klasifikovan kao „S”, kada postoji velika verovatnoća terapijskog uspeha korišćenjem standardnog režima doziranja antibiotika.
- **I – Senzitiv, povećana izloženost*:** mikroorganizam se klasifikuje kao „I” kada postoji visoka verovatnoća terapijskog uspeha kada se izlaganje antibiotiku povećava modifikovanjem njegovog režima doziranja i time povećava njegova koncentracija na mestu infekcije.
- **R - Rezistentan:** mikroorganizam se klasifikuje kao „R” kada postoji velika verovatnoća terapijskog neuspeha čak i kada postoji povećana izloženost antibiotiku.

MIC se odnose na granične vrednosti, *breakpoints*, definisane od strane EUCAST i dobijeni rezultati se mogu prevesti u takozvane kategorije: senzitiv; senzitiv, uz povećanu izloženost; rezistentan.

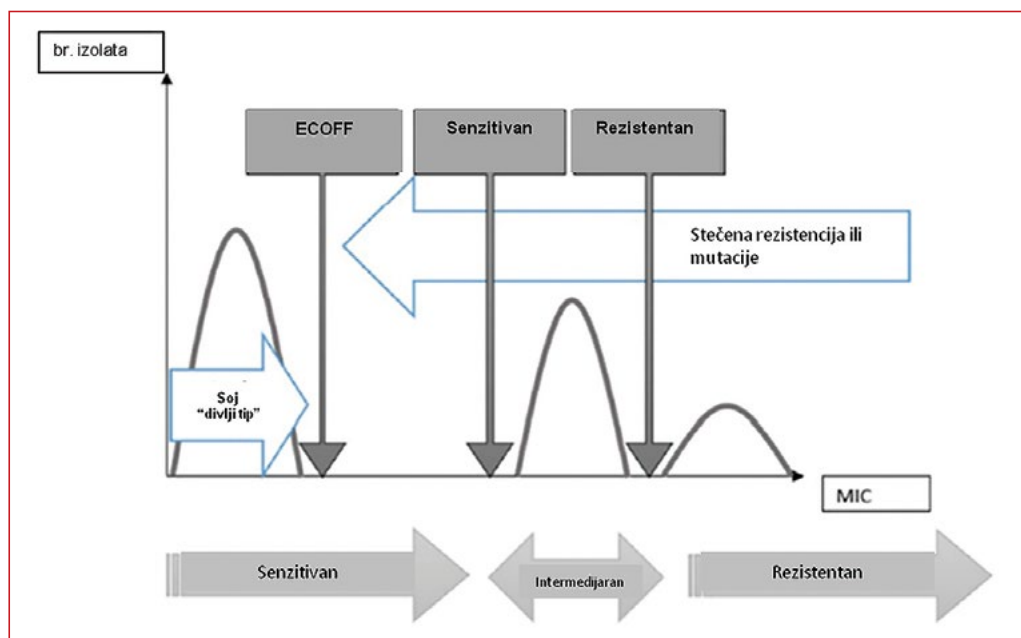
* Izloženost antimikrobnom agensu utiče na efikasnost protiv mikroorganizma na mestu infekcije i funkcija je načina primene, doze, intervala primene, vremena trajanja infuzije, kao i distribucije i izlučivanja antimikrobnog agensa. Slika 2, koja sledi, daje primer kako se u laboratoriji granične vrednosti primenjuju na dobijene MIC, da bi se razumelo kojoj kategoriji osetljivosti pripada određeni antibiotik u odnosu na određeni mikroorganizam.



Slika 2. Korelacija između graničnih vrednosti i kategorija S, I i R
 Izvor: <https://www.biessea.com/guida-alla-corretta-interpretazione-dellantibiogramma/>
 (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

Epidemiološki *cut-off*

Još jedan parametar koji *EUCAST* uzima u obzir je **epidemiološki *cut-off*** (*ECOFF*), definisan kao *MIC* vrednost koja deli sojeve „divljeg tipa” (koji nemaju stečene mehanizme rezistencije i mutacije) od populacije sojeva koji su razvili mehanizme rezistencije (slika 3); drugim rečima sojevi sa *MIC* ispod *ECOFF* imaju veoma malu verovatnoću da razviju rezistenciju tokom lečenja sa datim antibiotikom.



Slika 3. Epidemiološki cut-off (ECOFF)

Izvor: Tascini C. Antibiotic stewardship: ripartiamo dalla pratica clinica. *Urologia*. 2018;85(15):S20-S23. <https://doi.org/10.1177/0391560318770093>.

ECOFF deli sojeve divljeg tipa, bez mutacije, od sojeva koji imaju mutaciju; granične vrednosti čine umesto toga cut-off vrednosti koje svaku kombinaciju antibiotik-mikroorganizam kategorišu u jednu od 3 kategorije osetljivosti: senzitiv; senzitiv, uz povećanu izloženost (pre 2019: „intermedijaran“, takođe pogledajte link <https://www.eucast.org/newsiandr/> datum poslednjeg pristupa 18/08/2022); rezistentan.

U većini slučajeva epidemiološka cut-off vrednost i granične vrednosti rezistencije se poklapaju, kao kod *S. aureus* i vankomicina. U drugim slučajevima određeni farmakokinetički/farmakodinamski i klinički faktori dovode do razlike između kliničke granične vrednosti i epidemiološke cut-off vrednosti, kao što je na primeru *E. coli* i ciprofloksacina.

Granične vrednosti su, u ovom slučaju, $S \leq 0,5$ mg/L i $R \geq 1$ mg/L, a epidemiološki cut-off je 0,032 mg/L.

Izveštaj antibiograma

Antibiogram izveštaj obično pokazuje (slika 4):

- vrstu uzetog uzorka;
- izolovan/e mikroorganizam/me;
- opterećenje bakterijama, naznačeno u CFU/mL (jedinice koje formiraju kolonije/mL);
- različite ispitane antibiotike povezane sa MIC vrednošću
- klinička granična vrednost ili vrednosti
- tumačenje u jednoj od tri kategorije (S-I-R)

AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA ██████████
 U.O. MICROBIOLOGIA
 Responsabile Prof. ██████████
 P.O. ██████████, via ██████████ - ██████████
 tel. ██████████ fax ██████████

Rif. : ██████████ ██████████
 T.sanit.: 0000000080445-CR
 Reparto : Ematologia Adulti
 D/Nascita : ██████████
 Prelievo del : ██████████
 Referto del : ██████████

ESAME RICHIESTO	RISULTATO	U.d.M	CUT-OFF
-----------------	-----------	-------	---------

Batteriologia	
Tampone faringeo	Tampone Faringeo
Materiale in esame	Positivo
Esame colturale	Assenza di miceti
Ricerca Miceti	
Isolamenti e Antibiogrammi	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
I germe isolato	

Antibiogramma per *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotico	M.I.C.	Interpretazione
ampicillina	>=32	R
ampicillina/sulbactam	>=32	R
cefazolin	>=64	R
cefepime	4	S
cefixime	>=4	R
cefotaxime	>=64	R
ceftazidime	8	S
ciprofloxacina	<=0,25	S
gentamicina	2	S
imipenem	2	S
levofloxacina	0,5	S
meropenem	0,5	S
mezlocillina	>=128	R
norfloxacina	1	S
piperacillina	16	S
piperacillina/tazobactam	>=128	R
tetraciclina	>=16	R
tobramicina	<=1	S
trimetoprim/sulfametoxazolo	40	R
cefuroxime-sodio	>=64	R
cefuroxime-acetil	>=64	R

LEGENDA: I valori di M.I.C. Minima Concentrazione Inibente sono espressi in mcg/mL. S=Sensibile, I=Intermedio, R=Resistente

Slika 4. Primer antibiogram izveštaja

Izvor: <https://www.wikiwand.com/it/Antibiogramma>
 (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

Izveštaj treba da sadrži sve informacije, kog je porekla uzorak, što je korisno za tumačenje dobijenih vrednosti i definisanje najbolje terapijske strategije od strane kliničara.

Ako antibiogram ne prijavljuje *MIC* za svaki antibiotik, već samo kategoriju to znači da je mikrobiološka laboratorija koristila Kirbi-Bauer test (metoda difuzije) kao metodu za izvođenje antibiograma, dok se *MIC* dobija metodama zasnovanim na razblaženju.

Kako se tumače *MIC*?

Da bismo ispravno protumačili *MIC*, pre svega je potrebno uzeti u obzir da:

- Vrednosti kojima prethodi znak \leq ukazuju da je rast mikroorganizma inhibiran najnižom koncentracijom ispitanog antibiotika, čime se izražava izuzetna osetljivost, bez obzira na numeričku vrednost.

Primer:

MIC antibiotika X \leq 8; *MIC* antibiotika Y \leq 0,5

Pokazalo se da je organizam podjednako osetljiv na X kao i na Y.

- Što je *MIC* bliži **graničnoj vrednosti**, to je veći **rizik od terapijskog neuspeha**.
- Poređenje *MIC* vrednosti različitih antibiotika nije zasnovano na brojčanoj vrednosti, već pre svega na tome koliko je daleko *MIC* od njegove kliničke granične vrednosti. Što je *MIC* dalje od granične vrednosti, to je manja verovatnoća za početak rezistencije. Stoga se pri izboru ciljane terapije nikada ne smeju porediti vrednosti *MIC* različitih antibiotika tražeći najnižu vrednost, budući da antibiotik sa vrednošću *MIC* od 0,25 mg/L može biti manje efikasan od onog sa *MIC* vrednošću od 4 mg/L.
- Ako je ***MIC* vrednost \geq ovo** ukazuje da maksimalna korišćena koncentracija nije inhibirala rast i stoga sugerise veću rezistenciju, te postoji maksimalna rezistencija za taj aktivni princip.
- Sa istom osetljivošću/*MIC*, bolje je dati prednost antibioticima sa uskim **spektrom** nego antibioticima sa širim spektrom da se ne bi izazvali mehanizmi rezistencije (npr. bolji ceftriakson od ceftazidima ili piperacilin/tazobaktama).
- Razmotrite **farmakokinetiku i farmakodinamiku** (npr. aktivni princip osim što je efikasan *in vitro* mora biti u mogućnosti da stigne do mesta infekcije i bude u odgovarajućoj koncentraciji, mora imati brzu resorpciju i dobru biološku raspoloživost).
- Razmotrite da li efikasnost antibiotika **zavisí od doze** (u ovom slučaju ima smisla povećati ili modifikovati dozu) ili je **vremenski zavisán** (i u ovom slučaju je prikladnije razmišljati u smislu povećanja učestalosti primene od jednokratnog do dva ili tri puta dnevno). Podsećamo koje su klase vremenski zavisnih antibiotika: makrolidi, klindamicin, svi beta-laktami. Umesto toga, antibiotici zavisni od doze su: fluorohinoloni, aminoglikozidi, daptomicin.

U kojim slučajevima se *MIC* ne radi?

Na primer, *MIC* se ne procenjuje ako se zna da je mikroorganizam suštinski rezistentan na dati antibiotik, ili ako rezultati mikrobiološke kulture sa nesterilnih mesta pokažu prisustvo rezidentne mikrobne flore ili mikroorganizama koji čine normalnu mikrobiotu određenog anatomskeg dela.

U kojim slučajevima se određuje MIC, ali se ne izveštava kategorija?

1. Kada *EUCAST* za neke kombinacije mikroorganizam/antibiotik još nije odredio vrednosti kliničkih graničnih vrednosti, ali je dalje odredio vrednosti *PK-PD* granične vrednosti.

Integracija farmakokinetičkih i farmakodinamskih modela, nazvanih „farmakokinetika-farmakodinamika (*PK/PD*)“, može obezbediti pouzdan prikaz toka odgovora na lek tokom vremena i shodno tome omogućava optimizaciju terapije u pogledu doza, intervala i puteva primene. Ciljevi su: osigurati da se efektivne koncentracije održavaju na mestu dejstva; maksimalno povećati terapijski efekat; smanjiti na minimum sve štetne efekte što je više moguće. U poslednjih 20 godina proučavanje *PK/PD* korelacija ima veliki razvoj i primenu u kontekstu terapije zaraznih bolesti.

U ovim slučajevima, klinički mikrobiolog i dalje može izvestiti *MIC* vrednosti za antibiotike u kombinaciji sa *PK-PD* graničnim vrednostima, ako ih obezbeđuje *EUCAST*. *PK-PD* granične vrednosti zavise od režima doziranja leka (nezavisno od vrste) i stoga je moguće dobiti različite *PK-PD* granične vrednosti za isti antibiotik. Vrednosti *MIC* manje ili jednake graničnim vrednostima *PK-PD* pokazuju koji lekovi mogu biti efikasni *in vivo*. Ovo je slučaj, na primer, sa tigeciklinom za *Enterobacterales* (isključujući *Escherichia coli* i *Citrobacter koseri*): *EUCAST* sugerise da se visoka doza tigeciklina može razmotriti kod teško bolesnih pacijenata inficiranih patogenima rezistentnim na sve druge klase antimikrobnih agenasa (*MDR*). *PK-PD* tigeciklina u visokim dozama predviđa da će *MDR* sojevi za tigeciklin *MIC* do 1 mg/L reagovati na lečenje.

2. Kada *EUCAST* za neke kombinacije mikroorganizam/antibiotik još nije ni odredio ni kliničke ni *PK-PD* granične vrednosti.

U ovim slučajevima *EUCAST* i dalje smatra korisnim da se utvrdi da li je *MIC* za izolat ispod epidemiološkog *cut-off* (dakle, nalazimo se u prisustvu soja divljeg tipa). To bi ukazivalo da dati bakterijski soj nije stekao mehanizme rezistencije na dotični antibiotik. Ako je izolat retki klinički nalaz, može biti korisno konsultovati naučnu literaturu da bi se proverili dobijeni podaci *MIC*.

Jasno je da je u ovim konkretnim slučajevima poređenje između mikrobiologa i kliničara još važnije za ove dijagnostičko-terapijske svrhe.

Antibiotici sa testiranim senzitivnošću, antibiotici slični testiranim, sinergistički efekat

Obično nije moguće testirati sve antibiotike koji se mogu koristiti u klinici za određeni bakterijski izolat, i zbog toga se testiraju antibiotici neophodni za ciljanu terapiju, ili „referentnu“ terapiju, čija procena može da predvidi senzitivnost drugih netestiranih antibiotika. Uzmimo neke primere:

Klinički izolati *Staphylococcus spp.*, rezistentni na penicilin i senzitivni na oksacilin, obično proizvode beta-laktamaze i stoga su rezistentni na sve peniciline inaktivirane ovim

enzimom, ali su još uvek senzitivni na kombinacije sa inhibitorima beta-laktamaza, meticilinom, kloksacilinom i cefalosporinima. Umesto toga, sojeve *Staphylococcus spp* rezistentne na oksacilin treba smatrati rezistentnim na sve beta-laktame.

Streptococcus pyogenes je senzitivna na penicilin i ampicilin i ne proizvodi beta-laktamaze (stoga je nepotrebno ispitivati kombinacije tipa amoksisilin-klavulanska kiselina). Među beta-hemolitičkim streptokokom, osetljivost na peniciline je i dalje pravilo; izolati senzitivni na penicilin su takođe senzitivni na ampicilin, amoksisilin i cefalosporine. Viridans streptokoke, s druge strane, pokazuju raznovrsniju rezistenciju na beta-laktame i osetljivost na cefalosporine se ne može predvideti samo na osnovu osetljivosti na penicilin.

Može biti korisno ispitati osetljivost *Enterococcus spp.* na antibiotike kao što su ampicilin (ili glikopeptidi) i aminoglikozide da bi se postigao sinergistički efekat u terapiji (kombinacija antibiotika stoga može proizvesti ukupan efekat veći od zbira efekata pojedinačnih molekula).

Napomene/komentari koji dopunjuju izveštaj

U nekim slučajevima, izveštaj se može dopuniti beleškama ili komentarima korisnim za tumačenje i korišćenje samog izveštaja, na primer, u slučaju *Enterobacterales* sa *MIC* za karbapeneme višim od graničnih vrednosti za rezistenciju, klinički mikrobiolog može i mora dodati komentar koji ukazuje na to da li soj proizvodi karbapenemaze tipa *KPC*, *NDM*, *VIM* ili *IMP* ili *OXA-48*. U ovim slučajevima mikrobiolog će se takođe pobrinuti da kliničaru što pre obezbedi *MIC* novih lekova kao što su ceftolozan/tazobaktam i ceftazidim/avibaktam, ili sprovedi dodatne metode antimikrobne osetljivosti na lekove efikasne protiv ovih *MDR* mikroorganizama (fosfomicin, kolistin, gentamicin), kako bi se garantovalo da su kliničke *MIC* vrednosti pouzdane.

Uzimanje uzorka

Izvođenje uzorkovanja za naknadno ispitivanje osetljivosti: uzimaju se uzorci kulture koji se upućuju u mikrobiološku laboratoriju gde će biti naknadno analizirani kako bi se utvrdilo da li postoji ili ne prisustvo patogenog agensa i njegovog profila osetljivosti/rezistencije na antimikrobne agense.

Prikupljeni uzorci mogu biti različite tipologije:

- krv za hemokulturu;
- urin za urinokulturu;
- bronhoaspirat;
- brisevi rana;
- pleuralna ili peritonealna tečnost.

TUMAČENJE ANTIBIOGRAMA

Koje parametre treba uzeti u obzir za tumačenje antibiograma?

Tumačenje antibiograma ne podrazumeva samo očitavanje *MIC* vrednosti, odnosno podataka dobijenih iz *in vitro* mikrobioloških ispitivanja.

U stvari, *in vivo* efikasnost zavisi od kombinacije niza faktora koji uključuju:

1. Farmakokinetičke i farmakodinamske parametre antibiotika.
2. Mesto infekcije i sposobnost antibiotika da do njega dođe u terapijskim dozama; uticaj komorbiditeta.
3. Poznavanje intrinzičnih i stečenih mehanizama rezistencije mikroorganizama.

Neki antibiotici zapravo, iako su senzitivni, ne mogu se koristiti kao monoterapija jer lako i brzo izazivaju rezistenciju (npr. rifampicin u odnosu na stafilokoke, fosfomicin u odnosu na Gram negativne bakterije).

Uslov bez kojeg se ne može (*conditio sine qua non*) za ispravan izbor je stoga preliminarno poznavanje mehanizama rezistencije koju bi ispitivani mikroorganizam potencijalno mogao da pokaže.

Farmakokinetički i farmakodinamski parametri koje treba znati pri izboru antibiotika

Poznavanje fizičko-hemijskih svojstava antibiotika je aspekt koji treba uzeti u obzir pri racionalnom izboru antibiotika.

Parametri koje treba proceniti su:

- **Rastvorljivost:** u vezi s tim se sećamo da su tetraciklini, eritromicin i fluorohinoloni lipofilne molekule i lakše prolaze ćelijsku membranu od jedinjenja rastvorljivih u vodi kao što su beta-laktami, aminoglikozidi i vankomicin i zato oni predstavljaju jedine terapijske opcije za intraćelijske mikroorganizme kao što su mikoplazma, legionela, hlamidija kod kojih terapija beta-laktamima ne bi bila efikasna (na primer kod septičkih pacijenata sa izmenjenom hemodinamskom ravnotežom moguće je da je potrebna veća inicijalna doza (doza opterećenja) za hidrofilne molekule, kao na primer što je terapija beta-laktamima, dok za lipofilne molekule nisu potrebna prilagođavanja).
- **Vezivanje za proteine plazme:** samo slobodni deo molekule je klinički efikasan; budući da je albumin protein plazme najprisutniji u cirkulaciji, albuminemiju treba proceniti pri prilagođavanju doze, posebno kod antibiotika koji se u visokim stepenu vezuju za proteine plazme. Na primer, u terapiji daptomicinom vezivanje leka za proteine plazme je posebno visoko, približno je 90%, posebno za albumin; međutim,

mora se uzeti u obzir da je ova veza nezavisna od koncentracije i reverzibilna, a to se prenosi na njegovu visoku biološku raspoloživost, bez obzira na dozu; drugi antibiotik sa visokim stepenom vezivanja za proteine plazme je teikoplanin, koji se obično primenjuje u udarnoj (inicijalnoj) dozi, dovoljnoj da dovede do zasićenja vezivanja za proteine i poveća brže slobodnu frakciju leka.

- **Klirens:** predstavlja osnovni parametar koji treba posebno uzeti u obzir prilikom promena u doziranju kod pacijenata sa bubrežnom insuficijencijom i/ili insuficijencijom jetre.

Mnoge varijable mogu uticati na bubrežni klirens hidrofilnih antibiotika: kod pacijenata sa hipoalbuminemijom antibiotici koji se u visokom stepenu vezuju za proteine plazme se brže izlučuju; u stanjima sepse i stoga povećane bubrežne perfuzije, bubrežni klirens se može povećati i do tri puta u odnosu na normalnu vrednost. Praćenje bubrežne funkcije takođe može biti neophodno u uslovima potencijalno nefrotoksične terapije (npr. vankomicin i aminoglikozidi). Za beta-laktame korekcija doze izbegava akumulaciju leka i samim tim neželjene efekte, ali ne postoji prava nefrotoksičnost.

- **Odnos PK/PD:** Još jedan faktor koji treba znati pri postavljanju ispravne antibiotske terapije, sa klinički efikasnim režimom doziranja, je odnos između farmakokinetike i farmakodinamike specifične klase antibiotika i konkretnog antibiotika, takozvani **PK/PD odnos**.

Ovo je rezultat korelacije između farmakokinetičkih parametara (C_{max} , PIK) i farmakodinamskih parametara (MIC, distribucija na mestu dejstva). Slika 5 pokazuje 100% biološku raspoloživost nakon intravenske primene leka.

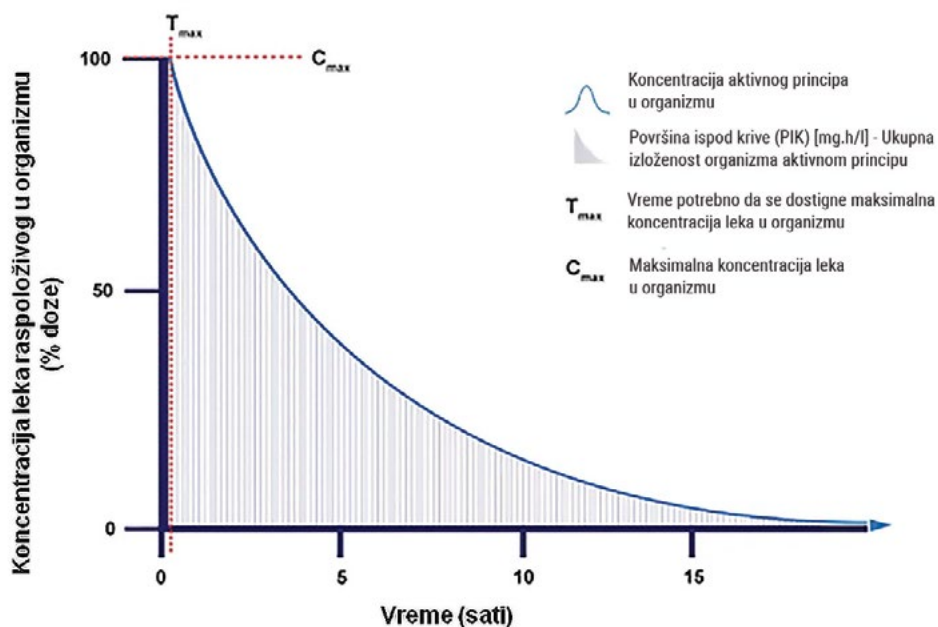
Antibiotike možemo podeliti u dve klase: koncentracijski zavisne i vremenski zavisne (tabela 1).

U prvom slučaju, glavna determinanta efikasnosti je **odnos C_{max}/MIC** , koji se uvek mora održavati iznad određenog nivoa koncentracija da bi se maksimalno povećala efikasnost: aminoglikozidi, na primer, moraju dostići da koncentracija na mestu infekcije bude približno osam do deset puta veća od MIC vrednosti da bi se ispoljila njihova baktericidna aktivnost.

Uopšteno govoreći, antibiotici sa koncentracijski zavisnim profilom ispoljavaju svoje dejstvo ako je odnos C_{max}/MIC veoma visok čak i tokom kratkih perioda u danu; upravo u vezi s tim se i uzima više uzoraka krvi za procenu koncentracije leka u plazmi tokom vremena. Daptomicin je klasičan primer leka koji zavisi od koncentracije: u dozi od 4 mg/kg primenjuje se jednom na svaka 24 sata.

Još jedna determinanta efikasnosti za koncentracijski zavisne antibiotike je odnos **PIK/MIC**, odnosno izloženost leku tokom perioda od 24 sata, što je u korelaciji sa efikasnošću, i to predstavlja važan parametar za fluorohinolone.

Bioška raspoloživost nakon intravenske primene



Slika 5. Bioška raspoloživost nakon intravenske primene

Izvor: <https://toolbox.eupati.eu/resources/biodisponibilita-e-bioequivalenza/?lang=it>
(datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

Na slici 5 su prikazani PIK, T_{max} i C_{max} nakon intravenske primene leka.

Za **vremenski zavisne** antibiotike, nasuprot tome, neophodno je uvek održavati koncentraciju iznad MIC; da bi se to postiglo, oni se primenjuju u više doza tokom dana; oksacilin, cefotaksim, piperacilin, ceftazidim, cefepim, vankomicin se često takođe primenjuju kao kontinuirana infuzija u cilju maksimalnog povećanja efikasnosti; ova opcija nije održiva za karbapeneme, koji imaju stabilnost od nekoliko sati na sobnoj temperaturi: iz tog razloga se preporučuje infuzija u trajanju od 3-4 sata više puta tokom dana. Odrednica efikasnosti u ovom slučaju je **vreme iznad MIC** ($T > MIC$).

Tabela 1. Primeri koncentracijski zavisnih i vremenski zavisnih antibiotika

Koncentracijski zavisni (Jednodozna primena)	Vremenski zavisni (Višedozna primena)
Aminoglikozidi	Beta-laktami
Fluorohinoloni	Oksazolidinoni
Metronidazol	Glikopeptidi
Tetraciklin	Klindamincin
Daptomicin	Makrolidi
Kolistin	

U tabeli 2 u nastavku shematizovani su parametri klasa antibiotika koji se najčešće koriste.

Tabela 2. Farmakokinetički parametri glavnih klasa antibiotika

Antibiotik	Rastvorljivost	Volumen distribucije	Vezivanje za proteine plazme	Eliminacija
Beta-laktami	Hidrosolubilni	Nizak	Nizak*	Bubreg
Makrolidi	Liposolubilni	Visok	70% klaritromicin, 20% azitromicin	Jetra
Aminoglikozidi	Hidrosolubilni	Nizak	Nizak	Bubreg
Glikopeptidi	Hidrosolubilni	Nizak	60% teikoplanin, 10% vankomicin	Bubreg
Fluorohinoloni	Liposolubilni	Visok	Nizak	Bubreg [#]
Rifampicin	Liposolubilni	Visok	70% (Visok)	Jetra
Linezolid	Liposolubilni	Visok	30%	Jetra
Tigeciklin	Liposolubilni	Visok	80% (Visok)	Jetra

*osim ceftriaksona, cefazolina, ertepenema, visok procenat vezivanja za proteine plazme

#osim moksifloksacina, eliminacija putem jetre

Za pravilnu upotrebu antibiotika važno je znati da li ispoljavaju **bakteriostatsku aktivnost** (inhibicija rasta bakterija) i/ili **baktericidnu aktivnost** (smrt bakterija); ponekad isti lek može imati i baktericidno i bakteriostatsko dejstvo u zavisnosti od patogena. Penicilini, na primer, su baktericidi za pneumokoke, ali bakteriostatiki za enterokoke (tabela 3). Posedovanje bakteriostatske ili baktericidne aktivnosti je relevantna informacija u stanjima sepsa u kojima je neophodno primeniti antibiotike sa baktericidnim delovanjem (na primer tigeciklin, koji je bakteriostatik, nije prikladno uzeti u obzir kod Gram negativne septikemije).

Tabela 3. Glavne klase antibiotika i njihova baktericidna ili bakteriostatska aktivnost

Baktericidi	Bakteriostatiki
Beta-laktami	Makrolidi
Glikopeptidi	Tetraciklini
Aminoglikozidi	Hlormafenikol
Fluorohinoloni	Sulfamidi
Rifampicin	Linkozamidi
Metronidazol	Oksazolidini
Polimiksin	Nitrofurantion

Na kraju, još jedan veoma važan farmakodinamski faktor za utvrđivanje učestalosti primene antibiotika je post-antibiotski efekat (**PAE, Post Antibiotic Effect**), videti tabelu 4. Uglavnom svi antibiotici aktivni protiv Gram pozitivnih bakterija pokazuju određeni efekat

nakon prestanka primene, sa vrednostima koje variraju od manje od 2 sata za beta-laktame do više od 5 sati za vankomicin protiv *S. aureus*. Antibiotici koji deluju na sintezu nukleinskih kiselina, kao što su aminoglikozidi i fluorohinoloni, imaju tendenciju da pokazuju PAE protiv svih bakterijskih agenasa. Aminoglikozidi i daptomicin, koji imaju visok PAE, se primenjuju samo jednom dnevno.

Tabela 4. Stepen post-antibiotskog efekta u nekim klasama antibiotika

Antibiotik	Odnos PK/PD	PAE (vs. Gram negativni)	Primena
Beta-laktami	$T > MIC$	Minimalan*	Višedozna i/ili produžena infuzija
Glikopeptidi	PIK/MIC	Nema	Fleksibilna
Fluorohinoloni	PIK/MIC; C_{max}/MIC	Produžen	Jedna doza ili dve doze; visoke doze
Aminoglikozidi	C_{max}/MIC ; PIK/MIC	Produžen	Jedna doza ili dve doze; visoke doze**

* osim karbapenema: produženi efekat

** osim enterokoka, izazivača endokarditisa: niske doze, najveća frekvencija primene.

Mesto infekcije i sposobnost antibiotika da dođe do njega u terapijskim koncentracijama; uticaj komorbiditeta

Analizirani farmakokinetički parametri su važna referenca koju treba znati i dovesti u korelaciju sa mestom infekcije, kako bi se moglo predvideti da li antibiotik koji treba izabrati u okviru antibiograma može dostići dovoljne koncentracije za kliničku efikasnost.

Štaviše, imamo na umu da na izlaganje na mestu dejstva utiču patofiziološke promene kod pacijenta, kao što je smanjena funkcija jetre i/ili oštećena funkcija bubrega, sepsa i opekotine.

Kada je glavno mesto infekcije krv, sa stanovišta farmakokinetike, efekat antibiotika je predvidljiviji jer krv predstavlja klasičan jednodimenzionalni model u farmakokinetici.

Kada se ne održava jednodimenzionalni model, na primer u slučaju pacijenata sa značajnom ekstravazacijom tečnosti (sepsa, pacijenti primljeni na intenzivnu negu) kojima se daju kristaloidi, rastvori za povećanje volumena, treba razmotriti povećanje doze hidrofilnih antibiotika i izlučivanje putem bubrega.

Većina infekcija je ekstravaskularna i odgovara farmakokinetičkim modelima složenijim od jednodimenzionalnog, a lečenje infekcija na ovim mestima zavisi od difuzije antibiotika iz plazme u intersticijsku tečnost i ponekad u intracelularnu tečnost. Sposobnost leka da difunduje zavisi ne samo od njegovih suštinskih karakteristika izvedenih iz prethodnog teksta, već takođe i od faktora u vezi sa tkivom kao što su perfuzija krvi i površinska vaskularizacija tkiva. Komorbiditeti kao što je periferna vaskularna insuficijencija utiču na postizanje terapijskih koncentracija.

Dosadašnja razmatranja su primenjiva u „normalnim“ patofiziološkim uslovima; kod „kritičnog“ pacijenta, kao na primer, pacijenta hospitalizovanog na intenzivnoj nezi, moraju se imati na umu dva glavna fenomena:

- Promene ekstracelularnih tečnosti, koje su povećane u slučaju pleuralnog izliva, ascitesa, terapije tečnostima za povećanje volumena, edema, hipoalbuminemija; u svim ovim slučajevima dolazi do razblaženja i nižih koncentracija hidrofilnih antibiotika i stoga treba razmotriti povećanje doze;
- Promene bubrežnog klirensa: ako je povećan kod pacijenata sa opekotinama, kod septičkog šoka, hipoalbuminemija, treba razmotriti povećanje doze; ako se smanji zbog bubrežne insuficijencije, treba uzeti u razmatranje smanjenje doze lekova koji se izlučuju ovim putem (hidrofilni antibiotici).

U slučaju lipofilnih antibiotika, razmotriti smanjenje doze ako pacijent ima umerenu i/ili tešku insuficijenciju jetre.

Tumačenje rezistencije i osetljivosti mikroorganizma na antibiotik

Rezistencija je glavno ograničenje uspeha antibiotske terapije.

Moguće je razlikovati dve vrste rezistencije:

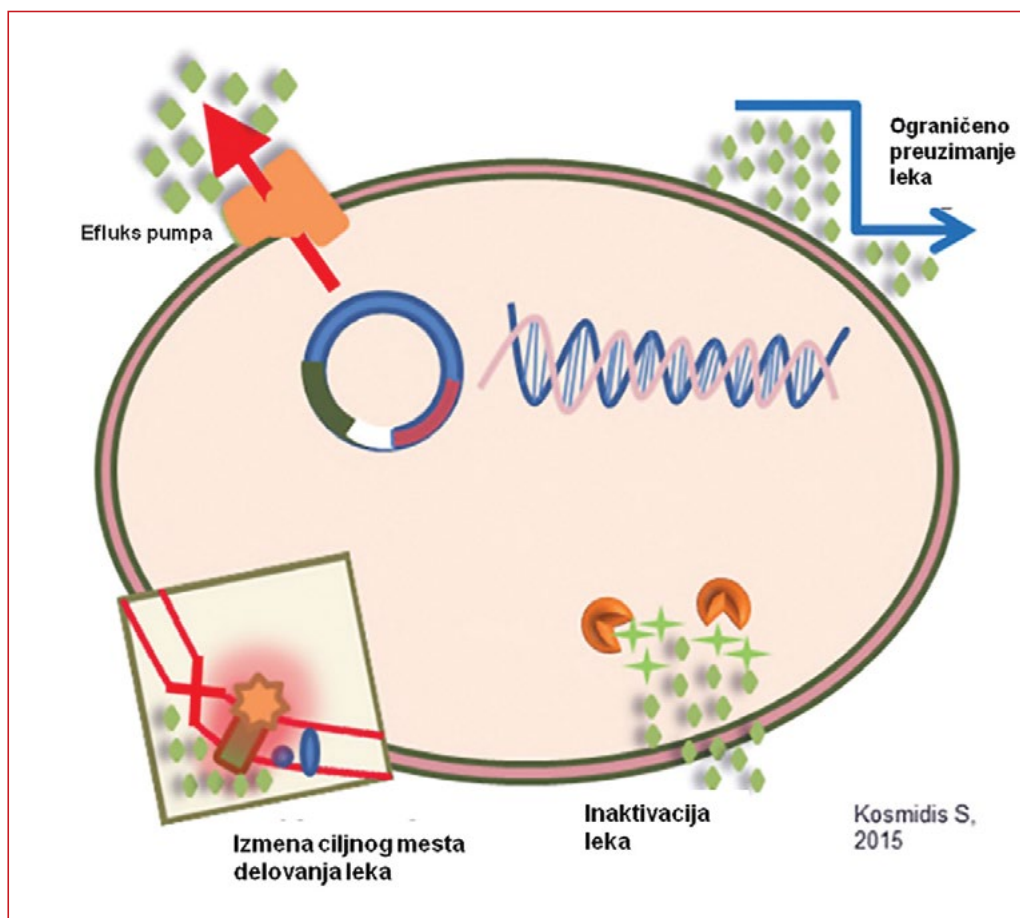
1. **Primarna (ili prirodna) rezistencija:** mikroorganizam je suštinski nesenzitivan na određene antibiotike; na primer, sve Gram pozitivne bakterije su suštinski rezistentne na aztreonam, temocilin, polimiksin B, kolistin;
2. **Stečena rezistencija:** pojavljuje se u intrinzično osetljivoj populaciji, zbog genetske mutacije.

Široka upotreba antibiotika favorizuje sticanje spontanih mutacija koje ugrožavaju njihovu efikasnost.

Neke od ovih mutacija se prenose sa bakterije na bakteriju, čak i između različitih vrsta, preko malih ekstrahromozomskih delova DNK, koji se nazivaju plazmidi, koji sadrže gene rezistencije.

Generalno, načini na koje se ove **rezistencije mogu ekspimirati** su raznovrsni i inkluzivni (slika 6):

- modifikacije aktivnog mesta/mesta dejstva antibiotika (na primer, modifikacije DNK giraze II na kojoj deluju hinoloni);
- smanjena permeabilnost bakterijske membrane (na primer, modifikacije aktivnog transporta aminoglikozida ili tetraciklina);
- proizvodnja enzima koji inaktiviraju antibiotik (kao što su beta-laktamaze).



Slika 6. Glavni mehanizmi rezistencije bakterija

Izvor: Reygaert WC. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiol.* 2018;4(3):482-501. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>.

Među modifikacijama mesta dejstva možemo uključiti rezistenciju na meticilin kod *S. aureus*, koju kodira gen, koji proizvodi penicilin vezujući protein (PBP) sa niskim afinitetom za peniciline.

Smanjena permeabilnost spoljašnje membrane Gram negativnih bakterija je uobičajen mehanizam spoljne rezistencije za antibiotike, što se na primer može naći u slučaju *P. aeruginosa* gde mutacije porinskih kanala ne dozvoljavaju ulazak karbapenema.

Koncept koji leži u osnovi ispravnog tumačenja antibiograma je poznavanje glavnih mehanizama rezistencije mikroorganizma odgovornog za infekciju.

Pored unutrašnje rezistencije, mogu se pojaviti fenotipovi „izuzetne“ rezistencije, koje predstavljaju ekspresiju nekih bakterijskih vrsta koje se javljaju retko ili prvi put; ove pojave se moraju pratiti, jer mogu ukazivati na grešku u identifikaciji i/ili tehničku grešku.

Ako se potvrdi „lokalno“, bakterijski soj koji se istražuje treba poslati u referentni centar za „nezavisnu“ potvrdu. Takvi fenotipovi rezistencije mogu se menjati tokom vremena i variraju u odnosu na geografske razlike.

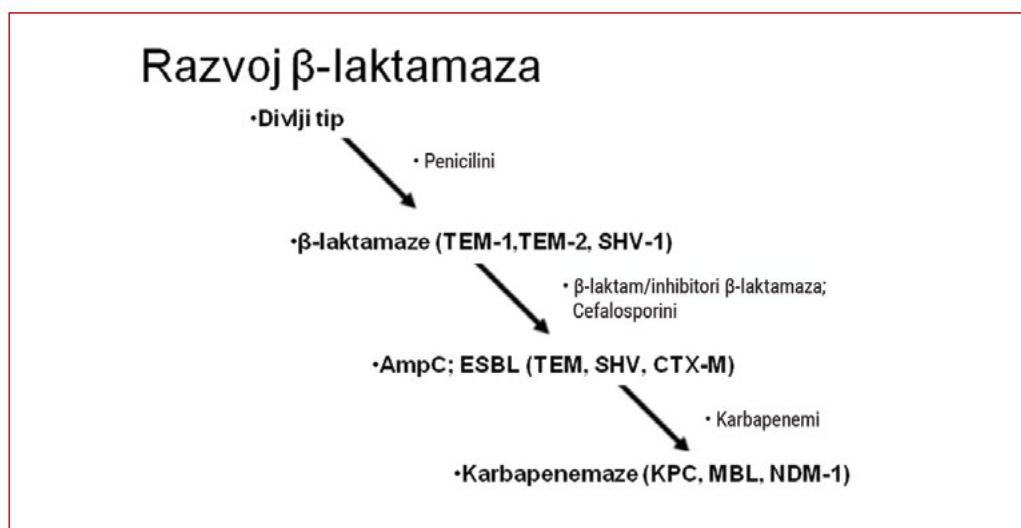
Primeri:

- *Staphylococcus aureus* rezistentan na vankomicin
- *Enterococcus faecium* senzitivna na ampicilin
- *Streptococcus pyogenes* rezistentan na penicilin
- *Enterobacteriaceae* rezistentne na karbapeneme
- Anaerobi rezistentni na metronidazol.

Mehanizam od širokog interesa u kontekstu čitanja antibiograma je proizvodnja specifičnih beta-laktamaza od strane nekih mikroorganizama sposobnih da inaktiviraju veliki broj antibiotika danas dostupnih na tržištu.

Veća dostupnost i upotreba novih antibiotika je posledično dovela do pojave novih klasa beta-laktamaza.

Amblerova klasifikacija beta-laktamaza izražena po Gram bakterijama – *Enterobacterales* grupe u 4 molekularne klase (A, B, C, D) naglašavajući kako se evolucija rezistencije odvijala u korak sa dostupnošću novih terapija; posebno prve stečene beta-laktamaze (tokom šezdesetih godina) pripadale su klasi A (TEM-1, TEM-2, SHV-1) i bile su senzitivne na inhibitore beta-laktamaze kao npr. sulbaktam, tazobaktam i klavulanska kiselina, ali rezistentni na peniciline i cefalosporine uskog spektra (slika 7).

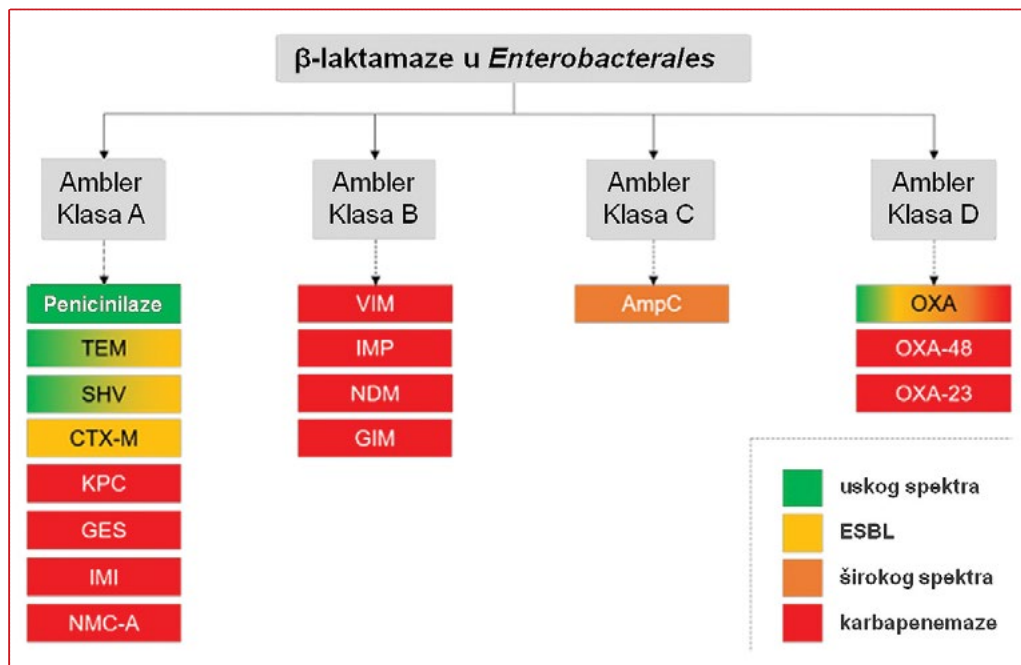


Slika 7. Razvoj beta-laktamaza

Izvor: https://www.ausl.re.it/WsDocuments/OSSIPRANDI_Valutazione%20della%20diffusione%20di%20Enterobacteriaceae%20.pdf (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

Kasnija velika upotreba u kliničkoj praksi cefalosporina proširenog spektra (ECS) kao što su cefotaksim, ceftriakson i ceftazidim, rezistentnih na beta-laktamaze širokog spektra tipa TEM i SHV, izazvalo je dodatni selektivni pritisak i razvilo enzime sa tačkastim mutacijama, sposobne da hidrolizuju takođe ESC (kao što su TEM-3, TEM-10, SHV-5) i regrutovalo je nove beta-laktamaze prirodno aktivne na ESC (npr. CTX-M, GES). Širenje sojeva *Enterobacterales* koji proizvode ove enzime, koje se zajedno nazivaju beta-laktamazama proširenog spektra

(ESBL, slika 8), je u relativno kratkom periodu dobilo pandemijsku i trans-sektorsku dimenziju, koja takođe utiče na veterinarski sektor.



Slika 8. Beta-laktamaze *Enterobacterales*

Izvor: Noster J, Thelen P, Hamprecht A. Detection of multidrug-resistant *Enterobacterales* - from ESBLs to carbapenemases. *Antibiotics* 2021;10(9):1140. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091140>.

Beta-laktamaze su podeljene prema svojoj hemijskoj strukturi u klase A, B, C i D prema Ambler klasifikaciji; različite boje na slici objašnjavaju različiti spektar delovanja različitih enzima unutar različitih klasa.

Čitanje antibiograma: primer br. 1

U nastavku teksta sledi primer (slika 9) *Klebsiella pneumoniae* za koju nije poznata specifična beta-laktamaza, ali antibiogram pokazuje široku rezistenciju na cefalosporine i peniciline i osetljivost na meropenem; stoga se može **pretpostaviti prisustvo ESBL**.

ESAME COLTURALE AEROBI e MICETI:

SANGUE

Microrganismi isolati:

- 1 - *Klebsiella pneumoniae*

ANTIBIOGRAMMA (sec. EUCAST)	- 1 -		Break Point MIC	
	RSI	MIC	SENS	RESI
Amikacina	R	32	<=8	>8
Amoxicillina/a.clav.	R	>16	<=8	>8
Cefepime	R	>16	<=0,25	>0,25
Cefotaxime	R	>32	<=1	>2
Ceftazidime	R	32	<=1	>4
Ceftazidime/avibactam	S	0.5		
Ceftazolan/tazobactam	S	1	<=2	>2
Ciprofloxacina	R	>2	<=0,25	>0.5
Colistina	S	<=0.5	<=2	>=4
Gentamicina	R	>8	<=2	>2
Imipenem	S	<=0.25	<=2	>8
Meropenem	S	<=0.25	<=2	>8
Piperacillina/tazobactam	R	16	<=8	>16
Tobramicina	R	>8	<=2	>2
Trimetoprim/sulfam.	R	>160	<=20	>40

Slika 9. Antibiogram dobijen iz uzorka krvi

Izvor: ljubaznost dr Chiara Vettori, mikrobiologa i dr Mirco Lenzi, infektologa, Nuova Ospedale Apuano Massa (MS) godina 2022.

Potvrda prisustva ESBL je dokaz rezistencije na glavne predstavnike cefalosporina širokog spektra kao što su cefotaksim i ceftazidim. Antibiotička terapija usvojena u ovom kliničkom slučaju je bila meropenem.

Na osnovu gore navedenih razmatranja, izbor antibiotika je zasnovan na:

- **mestu infekcije:** budući da je infekcija u krvi, rizik od septikemije je isključio mogućnost upotrebe bakteriostatskih lekova (kao što je tigeciklin) i upotreba cefalosporina povezanih sa tazobaktamom trebalo bi da bude praćena visokim dozama fosfomicina kako bi se izbegao početak rezistencije;
- **proceni MIC:** poređenjem ceftazolana/tazobaktama sa meropenemom u smislu MIC, antibiogram obaveštava da je bakterija senzitivna na najnižu koncentraciju ispitnog meropenema ($\leq 0,25$), dok za ceftazolan/tazobaktam MIC ima preciznu vrednost jednaku 1. Izračunavanjem odnosa granične vrednosti - *Breakpoint (BP)/MIC* (indikator efikasnosti), rastojanje između *BP* i *MIC* se pokazala povoljnijom za karbapeneme (BP/MIC ceftazolan/tazobaktam=2 vs. BP/MIC meropenem=8), stoga je poželjan terapijski izbor u ovakvim slučajevima.

U Amblerovoj klasi B postoje najozbiljnije mutacije (NDM, IMP), koje u stvari proizvode enzime koji hidrolizuju sve beta-laktame osim aztreonama.

Čitanje antibiograma: primer br. 2

Klebsiella sledećeg izolata (slika 10), za razliku od onoga što je viđeno u primeru br.1, je rezistentna ne samo na cefalosporine i peniciline, već i na karbapeneme.

ESAME COLTURALE AEROBI e MICETI:	SANGUE NEGATIVO		
ESAME COLTURALE ANAEROBI:	SANGUE		
Microorganismi isolati:	- 1 - <i>Klebsiella pneumoniae</i> NDM		
ANTIBIOGRAMMA (sec. EUCAST)	- 1 - RSI MIC	<u>Break Point MIC</u>	
		SENS	RESI
<i>Amikacina</i>	R 16	<=8	>8
<i>Amoxicillina/a.clav.</i>	R >16	<=2	>8
<i>Cefepime</i>	R >16	<=0,25	>0,25
<i>Cefotaxime</i>	R >32	<=1	>2
<i>Ceftazidime</i>	R >32	<=1	>4
<i>Ceftazidime/avibactam</i>	R >8		
<i>Ceftazolane/tazobactam</i>	R >16	<=2	>2
<i>Ciprofloxacina</i>	R >2	<=0,25	>0,5
<i>Colistina</i>	S <=0,5	<=2	>=4
<i>Fosfomicina</i>	S 16	<=32	>32
<i>Gentamicina</i>	S <=1	<=2	>2
<i>Imipenem</i>	R 8	<=2	>8
<i>Meropenem</i>	R >8	<=2	>8
<i>Piperacillina/tazobactam</i>	R >64	<=8	>16
<i>Tobramicina</i>	R >8	<=2	>2
<i>Trimetoprim/sulfam.</i>	R >160	<=20	>40

Određivanja su sprovedena na VITEK/MS (Maldi-tof) Antibiogram na sistemu Vitek2

Slika 10. Antibiogram za *Klebsiella pneumoniae* NDM

Izvor: Ijubaznost dr Chiara Vettori, mikrobiologa i dr Mirco Lenzi, infektologa, Nuova Ospedale Apuano Massa (MS), 2022.

Primer održive racionalne terapije koristi sinergizam između aztreonama i ceftazidima/avibaktama.

Aztreonam, jedini monobaktam koji nije hidrolizovan od strane NDM, deluje kao antibiotik protiv bakterija ekspimirajući sam NDM, dok avibaktam inhibira sve druge moguće ekspimirane beta-laktamaze.

U klasi C postoji AmpC, mutacija koja određuje mehanizam rezistencije, izazvan prisustvom antibiotika i stoga se ne može otkriti *in vitro* testovima osetljivosti. Iz ovog razloga pogrešno je prijaviti na antibiogramu osetljivost na peniciline za vrste kao što je *Enterobacter* ili *Citrobacter*, kada *in vitro*, oni mogu biti senzitivni, ali *in vivo* mogu da eksprimiraju AmpC i dovedu do terapijskog neuspeha.

Čitanje antibiograma: primer br. 3

U sledećem slučaju (slika 11) prikazan je antibiogram *Pseudomonas aeruginosa* koji konstitutivno eksprimira beta-laktamaze AmpC tipa. Prema novim EUCAST definicijama, kategorija „I” označava „senzitivnan na povećane doze ili izloženost”. Iz tog razloga u slučaju opisanom iznad terapija koja se može usvojiti je cefepim ili ceftazidim u visokoj dozi, posebno cefepim 2 g 3 puta dnevno kako bi se primenila strategija poštode karbapenema, tj. gde se izbegava upotreba karbapenema.

ESAME COLTURALI: CATET. VESICALE		POSITIVO *		>= 100.000 UFC/mL		
Microorganismi isolati:						
- 1 - <i>Pseudomonas aeruginosa</i>						
- 2 - <i>Escherichia coli</i>						
ANTIBIOGRAMMA (sec. EUCAST)	- 1 -	Break Point MIC		- 2 -	Break Point MIC	
	RSI MIC	SENS	RESI	RSI MIC	SENS	RESI
<i>Amikacina</i>	S 2	<=16	>16	S 4	<=8	>8
<i>Amoxicillina/a.clav.</i>				R >16	<=8	>8
<i>Cefepime</i>	I 2	<=0.001	>8	S 0.5	<=0.25	>0.25
<i>Cefotaxime</i>	R 16	<=1	>2	R 32	<=1	>2
<i>Ceftazidime</i>	I 2	<=0.01	>8	R 32	<=1	>4
<i>Ceftazidime/avibactam</i>	S 2					
<i>Ceftazolan/tazobactam</i>	S 0.5	<=4	>4			
<i>Ciprofloxacina</i>	I 0.12	<=0.25	>0.5	S 0.25	<=0.25	>0.5
<i>Colistina</i>	S <=0.5	<=2	>2			
<i>Ertapenem</i>				S <=0.12	<=0.5	>0.5
<i>Gentamicina</i>	<=1	<=2	>2	S 2	<=2	>2
<i>Imipenem</i>	I 1	<=0.001	>4			
<i>Meropenem</i>	S 0.5	<=2	>8	S <=0.25	<=2	>8
<i>Nitrofurantoin</i>				S <=16	<=64	>=128
<i>Piperacilina/tazobactam</i>	I 8	<=0.001	>16	R 16	<=8	>16
<i>Tigeciclina</i>				S <=0.5	<=1	>2
<i>Tobramicina</i>	S <=1	<=2	>2			
<i>Trimetoprim/sulfam.</i>	I 80	<=20	>40	R >160	<=20	>40

Određivanja su sprovedena na VITEK/MS (Maldi-tof) Antibiogram na sistemu Vitek2
 KOMENTAR: Antibiotici bez MIC vrednosti se tumače prema kategorijama S, I, R u ekspertskom sistemu. Antibiotici tigeciklin, gentamicin i kolisitin za MDR G- mikroorganizme se ispituju radi potvrde u mikrorazblaženjima na sistemu Sensititre. Za fosfomicin: K. Pneumoniae KPC rezistentna (R) podatak nije moguće dobiti; za P. Aeruginosa MIC <= 128 mg/L proceniti kombinovanu terapiju. (EUCAST)

Slika 11. Antibiogram za *Pseudomonas aeruginosa* i *Escherichia coli*

Izvor: Ijubaznost dr Maria Nardone, mikrobiologa i dr Mirco Lenzi, infektologa, Nuova Ospedale Apuano Massa (MS), 2022.

Beta-laktamaze tipa **OXA-48** pripadaju **klasi D** i predstavljaju enzime sa određenim katalitičkim mehanizmom što ih čini generalno rezistentnim ili ne baš senzitivnim na inhibitore beta-laktamaze.

Treba napomenuti da su sve Ambler klase, osim ESBLs i AmpCs, definisane kao karbapenemaze, tj. beta-laktamaze sposobne da razgrađuju i karbapeneme.

Jedna od terapijskih strategija koja se primenjuje u borbi sa selektivnim pritiskom beta-laktamaza je bila da se usvoje režimi koji štede karbapeneme, sa kombinacijom beta-laktama i inhibitora beta-laktamaza poslednje generacije (kao što su vaborbaktam ili avibaktam).

Čitanje i tumačenje antibiograma na osnovu sakupljenog uzorka (krv, urin, rane itd.)

Prvi korak koji vodi ka dobijanju bakterijskog izolata je uzimanje biološkog uzorka.

Uzimanje krvi iz periferne vene je svakako glavni izvor uzorkovanja u slučaju groznica nepoznatog porekla.

Poželjno je da se uzorkovanje obavi na vrhuncu groznice, uzimajući najmanje tri uzorka iz hemokultura za ispitivanje na aerobne, anaerobne bakterije i gljivice. Ispitivanje na gljivice je relevantno kod pacijenata koji su posebno osetljivi na infekcije kao što su hematološki pacijenti, pacijenti sa neutropenijom, pacijenti na terapiji imunosupresivima, i onih koji su hospitalizovani na intenzivnoj nezi zbog septičkog šoka, itd.

Mesto uzorkovanja (centralni venski kateter (CVK), periferna vena, arterija, itd.) je faktor koji treba uzeti u obzir kada se identifikuje uzrok sepse. Na primer, u slučaju uzorka 1 uzetog iz CVK i uzorka 2 uzetog iz periferne vene, ako uzorak 1 postane pozitivan (tj. ako se detektuje prisustvo bakterijskog rasta u uzorku tokom inkubacije) najmanje 2 sata ranije nego iz hemokulture iz periferne vene, infekcija je vrlo verovatno potekla iz CVK.

Drugi važan faktor je **vreme inkubacije uzorka**, koje omogućava uočavanje razlika između različitih uzoraka mikroorganizama, zapravo tokom septikemije se utvrđuje pozitivan uzorak nakon 6-10 sati uglavnom zbog prisustva Gram negativnih bakterija, nakon 12-24 sata zbog Gram pozitivnih bakterija, više od 24 sata zbog gljivica.

Pozitivne hemokulture moraju biti podvrgnute bojenju po Gramu i mikroskopskom ispitivanju da bi se dobile dalje morfološke informacije u vezi sa mikroorganizmom (Gram pozitivne će biti obojene plavo-ljubičastom bojom, npr. izdužene Gram pozitivne koke raspoređene u parove ili male lance trebalo bi da navedu da se pomisli na enterokok, dok raspoređeni u grozdove mogli bi biti stafilocoki (slika 12)). Gram negativne će biti obojene crvenom bojom i ako su prisutne u izduženom obliku sa blagom kapsulom, može se posumnjati na *Pseudomonas*), kao što se može videti sa slike 13.

Slika 12 prikazuje Gram pozitivnu bakteriju, vankomicin-rezistentni *Staphylococcus aureus* (VRSA). Slika 13 prikazuje Gram negativnu bakteriju, *Pseudomonas aeruginosa*.



Slika 12. Primer Gram pozitivne bakterije

Izvor: VRSA, šta je VRSA? vankomicin-rezistentni *Staphylococcus aureus* (bacteriainphotos.com) (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).



Slika 13. Primer Gram negativne bakterije

Izvor: <https://www.ildenaro.it/infezioni-ospedaliere-ricerca-del-cnr-lo-pseudomonas-resiste-agli-antibiotici/> (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

Gram negativne bakterije biće obojene crveno i ako se pojave u izduženom obliku sa blagom kapsulom, (moguća je sumnja na *Pseudomonas*).

Poslednji korak uključuje zasejavanje na tlu specifičnom za vrstu otkrivenu Gram bojenjem i izolacija patogena.

Urin je najviše kultivisan uzorak, retko sterilan. Pre inkubacije se razblaži da bi se olakšalo u drugom trenutku brojanje kolonija (CFU/mL). Prag za definisanje urinarne infekcije varira u zavisnosti od zdravstvenog stanja pacijenta: za zdravog odraslog pacijenta, prag se obično smatra 10^5 CFU/mL dok se kod pacijenta sa suprapubičnim kateterom ili imunosupresijom prag neophodan za lečenje infekcije može smanjiti na 10^3 CFU/mL.

Uopšteno govoreći, kada imate pozitivne kulture urina na više patogena, trebalo bi da sumnjate da je to kontaminacija tokom uzorkovanja. Izuzeci su specifični slučajevi kao što su pacijenti sa urinarnim stentovima, kod kojih je veća mogućnost za pozitivne rezultate na više patogenih.

U kliničkoj praksi, imajte na umu da asimptomatske bakteriurije obično treba lečiti samo kod trudnica.

U slučaju **gnojnog sekreta, apscesa ili rana**, da bi se smanjila kontaminacija uzorka, ne preporučuje se uzorkovanje brisom i poželjno je uzeti materijal u sterilnu epruvetu za pripremu kultura u pločama. Kod hroničnih lezija, kao što je infekcija dijabetičkog stopala, poželjna je biopsija dubokog tkiva ili kosti, izbegavajući uzimanje materijala iz površinske rane izložene kontaminantima.

U slučaju spondilodiscitisa glavni pregled je radioskopska biopsija diska i pršljenova.

REFERENCE

Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022-2020 data, datum objave 26/01/2022 (<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/ECDC-WHO-AMR-report.pdf> (europa.eu) datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

Antimicrobial Resistance in the EU/EEA - A One Health Response, datum objave 07/03/2022 (<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/antimicrobial-resistance-policy-brief-2022.pdf> (europa.eu), datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

Tascini C. Antibiotic stewardship: ripartiamo dalla pratica clinica. *Urologia*. 2018;85(1S):S20–S23. <https://doi.org/10.1177/0391560318770093>.

Tascini C, Sozio E, Viaggi B, Meini S. Reading and understanding an antibiogram. *Ital J Med*. 2016;10:289-300. <https://doi.org/10.4081/ijm.2016.794>.

EUCAST definitions of clinical breakpoints and epidemiological cut-off values, January 2019 (https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/EUCAST_SOPs/EUCAST_definitions_of_clinical_breakpoints_and ECOFFs.pdf, datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

<https://www.microbiologiaitalia.it/test-microbiologici/antibiogramma/> (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

https://www.ausl.re.it/WsDocuments/OSSIPRANDI_Valutazione_della_diffusione_di_Enterobacteriaceae.pdf (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

<https://www.biessea.com/guida-alla-corretta-interpretazione-dellantibiogramma/> (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/ (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

<https://www.eucast.org/newsiandr/> (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

<https://www.wikiwand.com/it/Antibiogramma> (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

<https://toolbox.eupati.eu/resources/biodisponibilita-e-bioequivalenza/?lang=it> (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

<https://www.ildenaro.it/infezioni-ospedaliere-ricerca-del-cnr-lo-pseudomonas-resiste-agli-antibiotici/> (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

I manuali SIFO – P. Polidori: Antimicrobial Stewardship in medicina: impatto/implementazione della figura del farmacista di dipartimento e /o di reparto nelle aziende sanitarie del SSN; edizioni il campano, 2017 (https://www.sifoweb.it/images/pdf/pubblicazioni/altre-edizioni/antimicrobial-stewardship/Antimicrobial_Stewardship_in_medicina.pdf, datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

Introduzione del sistema europeo EUCAST per l'interpretazione dei saggi di sensibilità ai farmaci antimicrobici, Laboratorio di Microbiologia Ospedale San Raffaele, 2012 (<https://medicinailaboratorio.hsr.it/static/upl/EU/EUCASTLETTERA.pdf>, datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).

- Lacy MK, Klutman NE, Horvat RT, Zapantis A. Antibiograms: new NCCLS guidelines, development, and clinical application. *Hosp Pharm*. 2004;39(6):542-53. <https://doi.org/10.1177/001857870403900608>.
- Leclercq R, Cantón R, Brown DF, Giske CG, Heisig P, MacGowan AP, Mouton JW, Nordmann P, Rodloff AC, Rossolini GM, Soussy CJ, Steinbakk M, Winstanley TG, Kahlmeter G. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19(2):141-60. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03703.x>.
- Levison ME, Levison JH. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibacterial agents. *Infect Dis Clin North Am*. 2009;23(4):791-815, vii. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2009.06.008>.
- L'uso degli antibiotici in Italia - Rapporto Nazionale anno 2020 (https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1664282/Rapporto_Antibiotici_2020.pdf, datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).
- Onufrak NJ, Forrest A, Gonzalez D. Pharmacokinetic and pharmacodynamic principles of anti-infective dosing. *Clin Ther*. 2016; 38(9):1930-47. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2016.06.015>.
- Noster J, Thelen P, Hamprecht A. Detection of multidrug-resistant Enterobacterales - from ESBLs to carbapenemases. *Antibiotics* 2021;10(9):1140. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10091140>.
- Rapporto AR-ISS: sorveglianza nazionale dell'Antibiotico-Resistenza. Dati 2020. (https://www.iss.it/documents/20126/0/RIS-1_2021.pdf, datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).
- Redell M, Tillotson GS. The practical problem with carbapenem testing and reporting accurate bacterial susceptibilities. *Front Pharmacol*. 13:841896. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.841896>.
- Resistenza agli antibiotici - epidemiologia in Europa (iss.it) (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).
- VRSA, what is VRSA? vancomycin-resistant Staphylococcus aureus (bacteriainphotos.com) (datum poslednjeg pristupa 18/08/2022).
- Reygaert WC. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiol*. 2018;4(3):482-501. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>.
- Truong WR, Hidayat L, Bolaris MA, Nguyen L, Yamaki J. The antibiogram: key considerations for its development and utilization. *JAC Antimicrob Resist*. 2021;3(2):dlab060. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab060>.

CIP - Каталогизacija y publikaciji
Народна библиотека Србије, Београд

616-078(083.1)

ANTIBIOGRAM, ono što ne znamo : uputstva za ispravno tumačenje / [prevod Dragana Rajinac, Zora Ćetković]. - Beograd : Savez farmaceutskih udruženja Srbije, 2024 (Beograd : Dosije studio). - VIII, 26 str. : ilustr. ; 24 cm

Tiraž 150. - Prevod dela: Antibiogramma, questo sconosciuto. - Str. VII: Predgovor predsednika SIFO / Arturo Cavaliere. - Str. VIII: Predgovor predsednice Saveza farmaceutskih udruženja Srbije / Branislava R. Miljković. - Bibliografija: str. 25-26.

ISBN 978-86-918145-5-7

a) Антибиограм -- Упутства

COBISS.SR-ID 157038601

ISBN 978-86-918145-5-7



9 788691 814557 >