

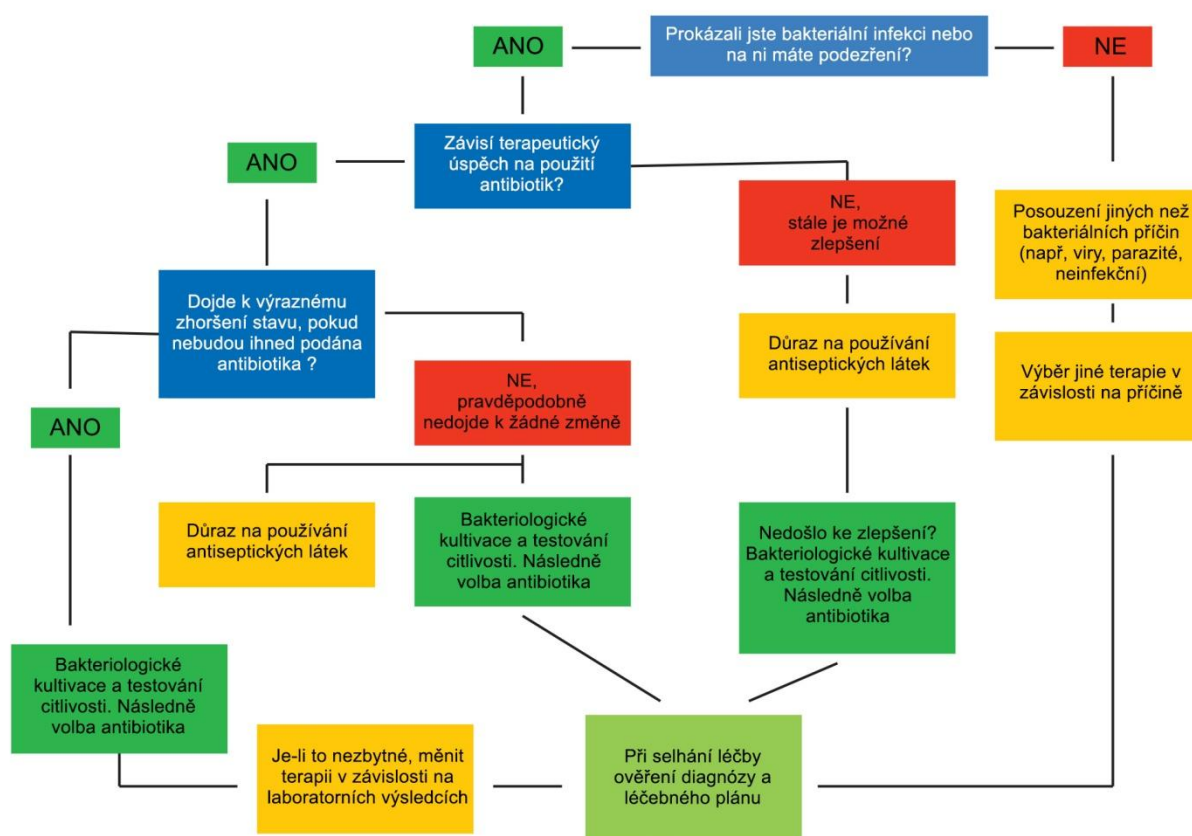
Testování antibiotik pomocí CLSI/EUCAST – co je nového?

Použití antibiotik v léčbě bakteriálních infekcí je každodenní a nedílnou součástí veterinární praxe.

V roce 2000 vydala Federální asociace veterinárních lékařů poprvé tzv. Zásady pro uvážlivé používání antibakteriálních léčiv. Tato pravidla pro optimální používání antibiotik ve

laboratorních metod a zkušeností ošetřujícího lékaře. Je nezbytně nutné vědět, zda je konkrétní bakterie také citlivá k antibiotikům, jež se chystáme použít.

Obecně by měla být antibiotika vybírána na základě spektra působení, stanovené citlivosti, terapeutického rozmezí a typu a mechanismu



Obrázek 1 schematicky znázorňuje možný postup při podezření na bakteriální infekci (Zdroj: FECAVA, modifikovaný).

veterinární medicíně jsou tedy již daná, nejsou ovšem nijak vymahatelná.

Pokud plánujeme použití antibiotik, je vhodné určit nejprve, zda se opravdu jedná o bakteriální infekci. To vždy vyžaduje stanovení diagnózy na základě klinického vyšetření,

farmakokinetiky. Aby nedocházelo k nechtěné eliminaci přirozené bakteriální mikroflóry, je vhodné používat antibiotika s co nejužším terapeutickým spektrem. Kromě terapeutického spektra je u jednotlivých antibiotik pro jejich použití také zásadní konkrétní stanovení antibiotické rezistence.

Kromě toho by zvolené antibiotikum mělo mít velkou terapeutickou šíři a dostatečnou penetraci do tkáně.

Baktericidní antibiotika by měla být podávána pacientům s neznámým imunitním statutem, se sníženou imunitou a při těžkých infekcích či při septikémiích. Bakteriostatická antibiotika inhibují pouze růst patogenů, které pak musí být definitivně vyloučeny imunitním systémem.

Účinnost antibiotika závisí na jeho farmakokinetických a farmakodynamických vlastnostech. Mezi farmakokinetické parametry patří absorpce, distribuce, metabolismus a vylučování léku. Na tom také závisí tkáňové a plasmatické hladiny léku.

Minimální inhibiční koncentrace (MIC) je hlavní farmakodynamickou vlastností. Je specifická pro každý bakteriální kmen na základě přítomnosti jednotlivých mechanismů rezistence.

Tak jako v Německu jsou pravidla pro užívání antibiotik daná i v jiných zemích jako je např. Nizozemsko. Těchto pravidel by se měli veterinární lékaři držet při výběru antibiotik. V závislosti na infekčním agens, jeho lokalizaci, druhu, atd jsou uvedeny některé léky na prvním místě. Pokud nejsou tato antibiotika tzv. "první volby" k dispozici, existují také antibiotika druhé volby a rezervní antibiotika, která mají však být použita jako poslední možnost.

Např. v případě povrchové pyodermie je *Staphylococcus pseudintermedius* nejčastěji zjišťovaným patogenem. Klindamycin je zde uveden jako antibiotikum první volby. Lékem druhé volby je cephalexin, cefadroxil, amoxicilin (+ kyselina klavulanová) a ampicilin. Účinné látky třetí volby (inhibitory gyrázy, cefalosporiny 3. / 4. generace), by měly být nasazeny až po bakteriologickém vyšetření dle stanoveného antibiogramu. Doporučená léčba je 3-6 týdnů. Takto mohou pravidla cílené antibiotické terapie zpomalovat rozvoj rezistence nebo zajišťovat jeho prevenci.

V případě, že jsou všechna doporučená antibiotika nepoužitelná (také rezistentní) nastává tzv. terapeutická pohotovost a při té je možno v Německu využít i antibiotika, která mají licenci jen v humánní medicíně (tzv. rezervní antibiotika). Ta se, jak již napovídá jejich název, dají použít pouze v případě nouze (§56a, odst. 2, AMG).

V posledních letech se používání antibiotik ve veterinární medicíně setkává s čím dál tím větším zájmem veřejnosti. Veterinární medicína je však v těchto ohledech často vystavována kritice. Proto se také novela zákona o léčivých přípravcích této tematice tolik věnuje a snaží se docílit omezení používání antibiotik ve veterinární medicíně od oblasti živočišné výroby po zdravotní péči v oblasti společenských zvířat.

Pro určení patogena, jeho klinické relevance a stanovení citlivosti případně spektra rezistence musí být nejdříve provedena bakteriologická kultivace s antibiogramem.

Nehojící se rány nebo močové infekce se často vyznačují infekcí multirezistentními kmeny bakterií jako je MRSA / MRSP nebo ESBL tvořící střevní bakterie (*E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp.).

Nedávná studie zahrnující celé Německo prokázala 62,7% podíl MRSA ve všech izolátech *Staphylococcus aureus* ze stěrů odebraných z ran u psů po dobu 17 měsíců.

V roce 2008 bylo v rámci studie pořádané laboratoří Laboklin zabývající se testováním izolátů *Staphylococcus (pseud)intermedius* ze stěrů u psů a jejich multirezistencí detekováno 10 % MRSP pozitivních bakterií v celkovém počtu izolovaných stafylokoků.

Další monitoring pro získání nejnovějších poznatků pro rozvoj rezistence je plánován v roce 2015

Obrázek 2 ukazuje výsledky studie ESBL-monitoringu (ESBL = bakterie s rozšířeným spektrem beta laktamázy) provedené Laboklinem v roce 2014. Izolovány a testovány

byly ESBL podezřelé kmeny (rezistentní vůči cefalosporinům 3. a 4. generace).

V 60-70 % všech testovaných izolátů (pes, kočka a koně) bylo zjištěno ESBL. U psů a koček byla většina ESBL izolována ze vzorků z močových a dýchacích cest. U koní pocházely ESBL pozitivní vzorky na prvním místě z dýchacích cest, následovány vzorky z ran.

Pro in vitro testování citlivosti bakteriálních patogenů jsou k dispozici různé testovací metody. Kromě dřívějšího standardního agar difúzního testu je nyní v Laboklinu metodou volby bujón - mikrodiluční metoda. V laboklinu se jako metoda volby nyní využívá agarová difúzní metoda.

Metody, jako je bujón-makrodiluční metoda a E- test, jsou veterinárními laboratořemi využívány zřídka.

V agarovém difúzním testu (obrázek 3) se nejprve na živnou půdu přidá testovaná bakteriální suspenze a poté jsou přidány testovací tablety. Tablety obsahují definované koncentrace antibiotika. Po inkubaci vzniká okolo tablet zóna inhibice dle citlivosti patogena k jednotlivým účinným látkám. Hodnocení se provádí měřením průměru jednotlivé zóny (HHD, v mm).

Na základě semikvantitativní analýzy jsou pak patogeny rozlišovány na citlivé, středně citlivé a rezistentní.

Pro bujón – mikrodiluční metodu (obrázek 4) jsou mikrotitrační destičky, které jsou potažené anti-mikrobiální látkou v definovaných koncentracích, naplněné bakteriální suspenzí, následně inkubované a růst bakterií je kontrolován vizuálně nebo fotometricky. Pro každý lék jsou testovány různé koncentrace. Pokud dojde k nárůstu kolonií, není patogen citlivý (je rezistentní) k testovanému antibiotiku. V případě, že je růst pozastaven, jedná se o citlivý patogen. U tohoto typu testování citlivosti in vitro je výsledkem MIC. MIC je zkratka pro "minimální inhibiční koncentraci" a jedná se o nejmenší koncentraci terapeutické

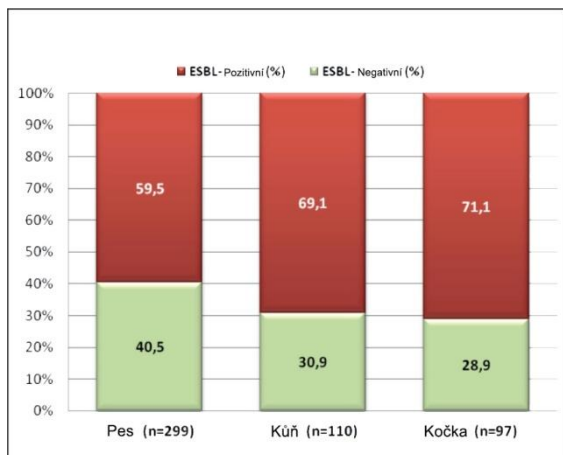
látky, při které není makroskopicky detekován žádný bakteriální růst.

Se zjištěným MIC lze provést na základě známých koncentrací, které detekujeme v mikrotitračních destičkách, kvantitativní posouzení citlivosti bakterie. Na základě výsledků in vitro testování, by se mělo použít jednotlivých antibiotik "in vivo" řídit doporučeními organizací, jako jsou CLSI (Clinical and Laboratory institut pro normalizaci v =) a EUCAST (Evropský výbor pro antimikrobiální citlivosti = Testing), které za pomoci rozsáhlých a nákladných projektů určují klinické limity (Breakpoints) pro využívání antibiotik.

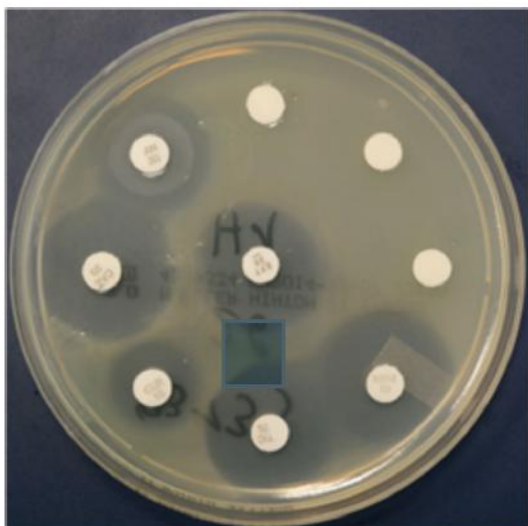
Farmakodynamika a farmakokinetika příslušného antibiotika hraje klíčovou roli. Klinické limity účinné látky určují konkrétní infekční agens, druh zvířete a postižený orgán. Pokud je patogen dle výše uvedených kritérií považován za citlivý, lze dle definice CLSI za předpokladu, že bude dodrženo správné dávkování a adekvátní doba podávání, očekávat úspěšnou léčbu procesu. V případě, že je patogen středně citlivý (intermediate) je možný terapeutický efekt v případech, kdy je konkrétní antibiotikum schopno dobře prostupovat do infikovaného orgánu a kdy nám charakter léku dovoluje zvýšení jeho dávky. Pokud je patogen určen jako "rezistentní", nelze obvykle očekávat terapeutický úspěch ani po správné aplikaci léku. Antibiogram vytvořený tímto způsobem pomáhá veterinárnímu lékaři v praxi k rozhodování, které antibiotikum lze považovat za přínosné u konkrétního pacienta.

Abychom byli nadále aktuální a drželi se nových medicínských trendů, přizpůsobili jsme i my v Laboklinu od 1.12.2014 testování antibiotik doporučení EUCAST a CLSI. U bakteriálních kmenů, u kterých byla detekována rezistence, je vytvořen rozšířený antibiogram. U všech naměřených MIC je připojena konkrétní hodnota, u které je ve standardním dávkování očekávána určitá

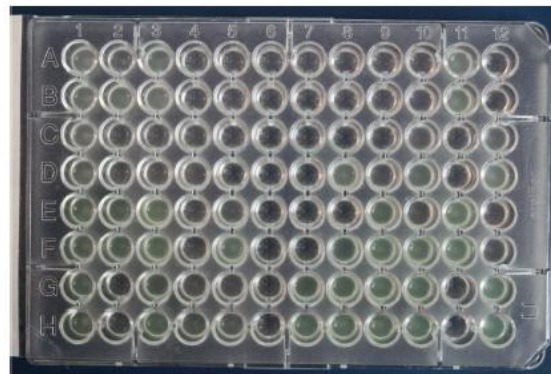
tkáňová koncentrace. Ke snížení této hodnoty a tím také efektu antibiotik ovšem může vést snížená koncentrace antibiotik v cílových tkáních.



Obrázek 2. ESBL-Monitoring 2014



Obrázek 3. Agardifúzní test



Obrázek 4. Bujón-mikrodiluční metoda