

Aspergilluste tundlikkuse määramine

Krista Lõivukene, MD, PhD
2018 Tartu



Tartu Ülikooli Kliinikum

Probleem

- Invasiivsete Aspergilluste tundlikkuse määramine on vajalik
- Invasiivseid infektsioone esineb harva
- Kuidas määrata olemasolevate vahenditega?



Gradienttestid olemas, RPMI agar olemas, viited olemas

- http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/Clinical_breakpoints/Antifungal_breakpoints_v_9.0_180212.pdf
- http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/AFST/QC/QC_AFST_Tables_v_2.0.pdf
- http://www.liofilchem.net/en/pdf/mic_brochure.pdf



Hindamise kriteeriumid EUCAST

Antibiootikum	<i>A. flavus</i>		<i>A. fumigatus</i>		<i>A. nidulans</i>		<i>A. niger</i>		<i>A. terreus</i>	
	≤S	T>	≤S	T>	≤S	T>	≤S	T>	≤S	T>
Amfoteritsiin	IE	IE	1	2	IE	IE	1	2	–	–
Anidulafungiin	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE
Kaspofungiin	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE
Flukonasool	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Isavukonasool	IE	IE	1	1	0,25	0,25	IE	IE	1	1
Itrakonasool	1	2	1	2	1	2	IE	IE	1	2
Mikafungiin	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE	IE
Posakonasool	IE	IE	0,125	0,25	IE	IE	IE	IE	0,125	0,25
Vorikonasool	IE	IE	1	2	IE	IE	IE	IE	IE	IE



Kvaliteedikontrolli kriteeriumid

<i>A. fumigatus</i> ATCC 204305	EUCAST target	EUCAST piirid
Amfoteritsiin	0,5	0,25 – 1,0
Vorikonasool	0,5	0,25 – 1,0
Posakonasool	0,064 – 0,125	0,032 – 0,25



Mida tegime

- Pilootprojektiks alustasime kliiniliste isolaatide tundlikkuse määramist (*A. fumigatus*, *A. flavus* ja *A. niger*)
- Kvaliteedikontrolliks saadaolev tüüpkultuur: *A. fumigatus* ATCC 204305
- Tüüptüved ja kliinilised isolaadid külvatakse Sabouraud agarile
- Värsketest isolaatidest tehakse 0,5 McFarland tihedusega suspensioonid, mis külvatakse RPMI söötmele ja inkubeeritakse 35°C juures, tundlikkust hinnatakse 24 ja 48 tunni pärast



Tulemused: kliinilised isolaadid

Kliinilised isolaadid	Amfoteritsiin 24h		Vorikonasool 24h		Posakonasool 24h	
	MIK	T/R	MIK	T/R	MIK	T/R
<i>A. fumigatus</i>	Kasv neg	x	Kasv neg	x	Kasv neg	x
<i>A. flavus</i>	12	IP	0,5	IP	0,125	IP
<i>A. niger</i>	0,5	T	0,19	IP	0,38	IP
Kliinilised isolaadid	Amfoteritsiin 48h		Vorikonasool 48h		Posakonasool 48h	
	MIK	T/R	MIK	T/R	MIK	T/R
<i>A. fumigatus</i>	0,25	T	0,047	T	0,125	T
<i>A. flavus</i>	8	IP	0,5	IP	0,38	IP
<i>A. niger</i>	4	R	0,25	IP	0,5	IP
Kliinilised isolaadid	Amfoteritsiin 72h		Vorikonasool 72h		Posakonasool 72h	
	MIK	T/R	MIK	T/R	MIK	T/R
<i>A. fumigatus</i>	32	T	0,064	T	0,25	T

IP – info puudub

Tsoonid olid loetavad



Tulemused: kvaliteedikontroll

Amfoteritsiin 24h	MIK	Piirid	Target	MIK	Piirid	Target
<i>A. fumigatus</i> ATCC 204305	0,5	piirides	tabatud	0,38	piirides	↓
Amfoteritsiin 48h	MIK	Piirid	Target	MIK	Piirid	Target
<i>A. fumigatus</i> ATCC 204305	4	ülekasv	ülekasv	6	ülekasv	ülekasv
Vorikonasool 24h	MIK	Piirid	Target	MIK	Piirid	Target
<i>A. fumigatus</i> ATCC 204305	0,19	↓	↓	0,125	↓	↓
Vorikonasool 48h	MIK	Piirid	Target	MIK	Piirid	Target
<i>A. fumigatus</i> ATCC 204305	0,19	↓	↓	0,125	↓	↓
Posakonasool 24h	MIK	Piirid	Target	MIK	Piirid	Target
<i>A. fumigatus</i> ATCC 204305	0,19	piirides	↑	0,125	piirides	tabatud
Posakonasool 48h	MIK	Piirid	Target	MIK	Piirid	Target
<i>A. fumigatus</i> ATCC 204305	0,19	piirides	↑	0,25	piirides	tabatud



Mida head teada saime

- Kliiniliste tüvede tsoonid loetavad
- Kvaliteedikontroll lubatud piirides
- Testid tehtavad kohe laboris
- Lisakulutusi pole, kuna kasutatavad materjalid on kasutusel ka pärmseente tundlikkuse määramisel
- Lihtne teostus ja hindamine



Mida kurja aimame, mis ees ootab

- Igavene küsimus, *in vitro* vs *in vivo*
- Gradienttest EUCAST poolt OK, aga lahjendusmeetodid?
- Vajalik täpne samastamine liigi tasemel, see on küsimus
- Praegused kriteeriumid ei kata kõiki aspergillusi
- Kas MIK väärtus aitab?
- Kuidas determineerida invasiivseid tüvesid?

- **Labori mured**

Toimetada reostust vältides, töötada laboris kasutatav juhend



01.01.2018 – 19.09.2018

- *153 aspergillust, neist naha/küünekaabe 28
- *Muu materjal 125
- *Muu materjal kordusteta 88

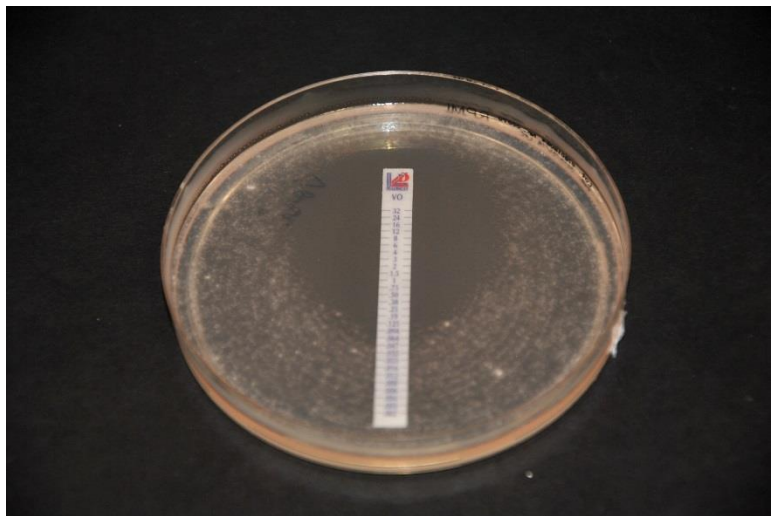
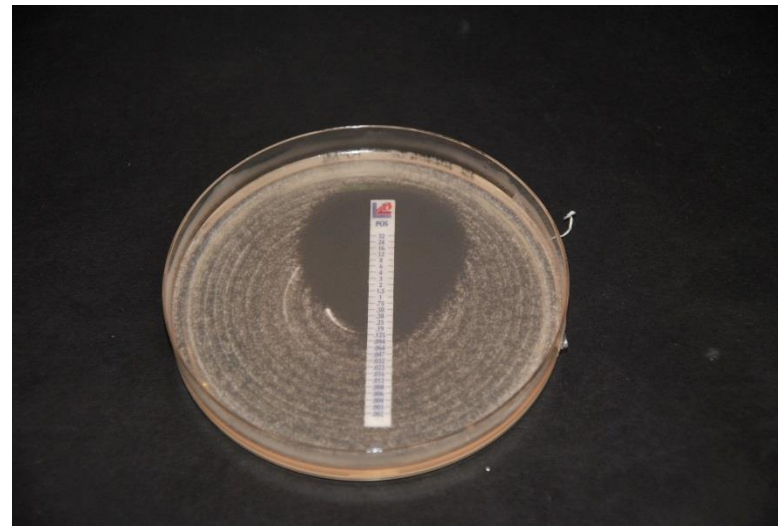
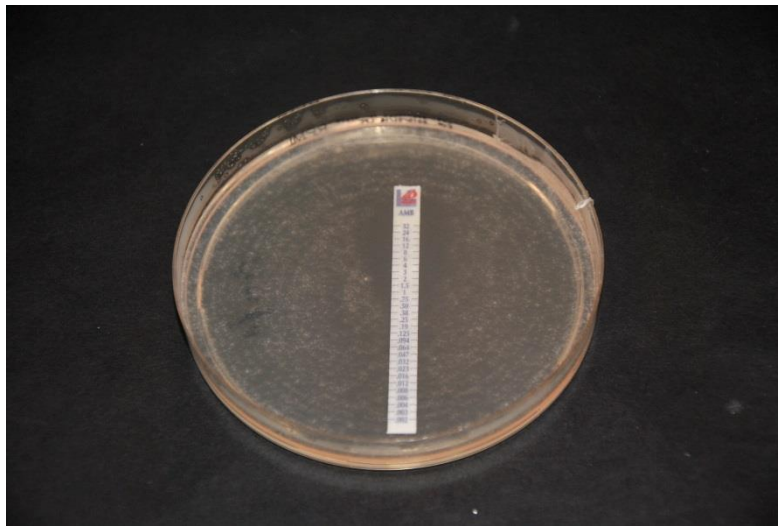


Tellijad

Tellija	Materjal	Mikroob	Arv	Tellija	Materjal	Mikroob	Arv
1. intensiivravi	BAL	<i>A. fumigatus</i>	1	kardioloogia statsionaar	Röga	<i>A. fumigatus</i>	1
2. intensiivravi	Bronhiaspiraad	<i>A. flavus</i>	1	hematoloogia ja luuüdi transplantaatsiooni amb.	Ninakaabe	<i>A. nidulans</i>	1
	Trahheaaspiraad	<i>A. fumigatus</i>	1		Röga	<i>A. fumigatus</i>	1
3. intensiivravi	Bronhiaspiraad	<i>A. fumigatus</i>	2	nefroloogia statsionaar	Röga	<i>A. niger</i>	1
	BAL	<i>A. fumigatus</i>	7	reumatoloogia statsionaar	Röga	<i>A. niger</i>	1
	Röga	<i>A. fumigatus</i>	1	kirurgilise onkoloogia statsionaar	Haavaeritis	<i>A. ustus</i>	1
	Trahheaaspiraad	<i>A. fumigatus</i>	1	üldpediaatria statsionaarne	Röga	<i>A. fumigatus</i>	2
pulmonoloogia statsionaar	BAL	<i>A. niger</i>	2	kõrvakliiniku valvearst	Kõrvaeritis	<i>A. flavus</i>	3
		<i>A. fumigatus</i>	2			<i>A. fumigatus</i>	5
	Röga	<i>A. niger</i>	2			<i>A. niger</i>	9
		<i>A. fumigatus</i>	3			<i>A. oryzae</i>	2
pulmonoloogia ambulatoorne	BAL	<i>A. flavus</i>	1	kõrvakliiniku ambulatoorne vastuvõtt	Kõrvaeritis	<i>A. oryzae</i>	1
		<i>A. fumigatus</i>	2			<i>A. fumigatus</i>	2
		<i>A. glaucus</i>	2			<i>A. flavus</i>	1
		<i>A. oryzae</i>	1			<i>Aspergillus sp.</i>	1
kopsukliiniku endoskoopia	BAL	<i>A. sydowi</i>	1			<i>A. flavus</i>	2
		<i>A. fumigatus</i>	6	Aktsiaselts Järvamaa Haigla	Kõrvaeritis	<i>A. niger</i>	1
kopsutuberkuloosi statsionaar	BAL	<i>A. fumigatus</i>	3			<i>A. fumigatus</i>	2
	Uriin	<i>A. fumigatus</i>	1	Järvamaa Haigla labor	Kõrvaeritis	<i>A. fumigatus</i>	1
torakaalkirurgia statsionaar	BAL	<i>A. fumigatus</i>	4	Lõuna-Eesti Haigla	Röga	<i>A. fumigatus</i>	1
	Pleuravedelik	<i>A. fumigatus</i>	1	Valga Haigla Polikliinik	Kõrvaeritis	<i>A. fumigatus</i>	1
	Röga	<i>A. fumigatus</i>	1			<i>A. niger</i>	1
kardiokirurgia statsionaar	Koematerjal	<i>A. flavus</i>	1				

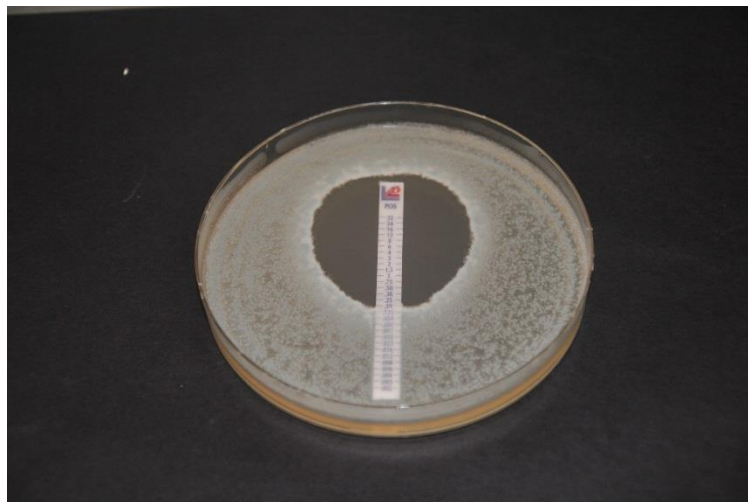
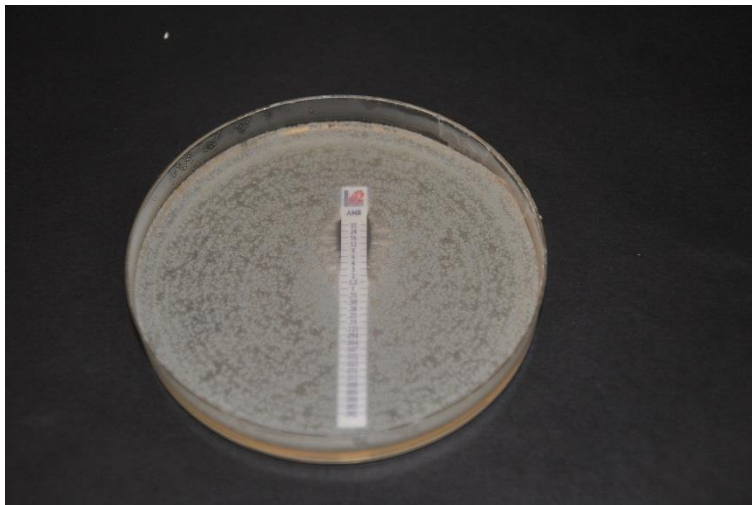


24 tundi



Mariann Rebane

48 tundi



Mariann Rebane



Tartu Ülikooli Kliinikum

Apply phase-shift
operator

$z=0$
the depth step size