

Pärmseente samastamisest  
ravim tundlikkuse määramise  
kontekstis  
&  
*vice versa*

Helle Järv

TÜ Kliinikumi Ühendlabor

[helle.jarv@kliinikum.ee](mailto:helle.jarv@kliinikum.ee)

# Alusdokumendid seente ravim tundlikkuse määramiseks I

- **EUCAST Technical Note on fluconazole** Clin Microbiol Infect 2008;14: 193-195
- **EUCAST Technical Note on voriconazole** Clin Microbiol Infect 2008; 14: 985-987
- **EUCAST Technical note on Amphotericin B**  
Online: 19 OCT 2011
- **EUCAST Technical note on anidulafungin** Online:  
17 August 2011
- **EUCAST technical note on posaconazole** Online:  
17 August 2011

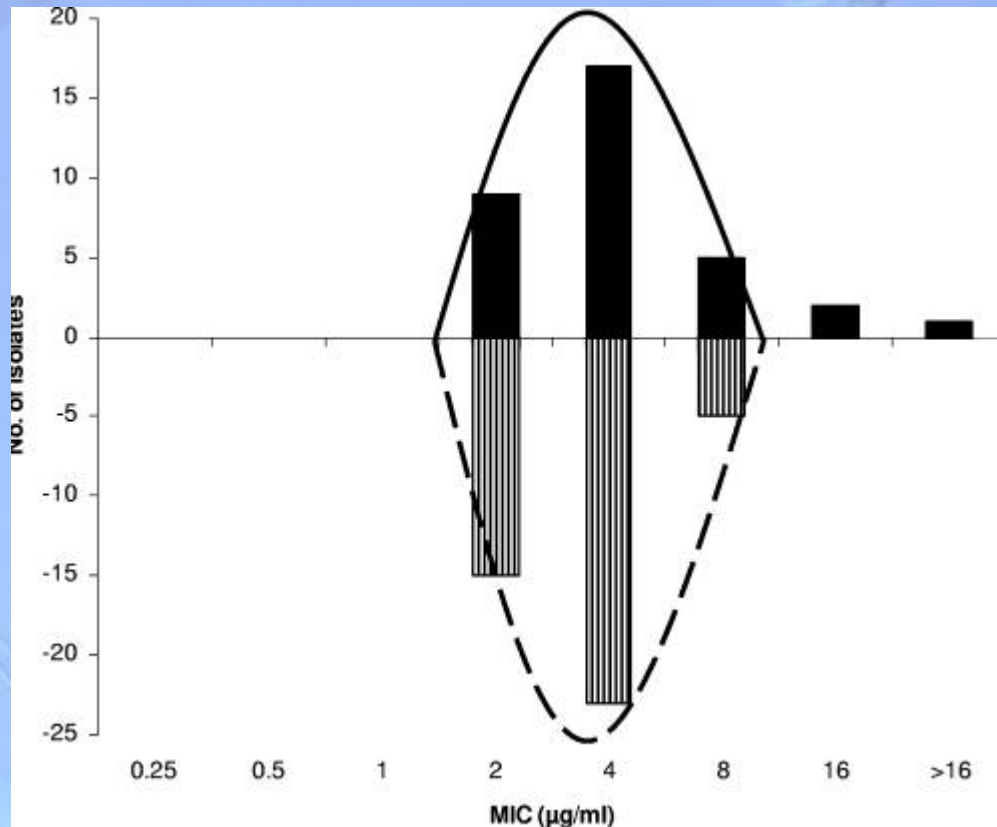
# Alusdokumendid seente ravim tundlikkuse määramiseks II

- Fluconazole Rationale for the EUCAST clinical breakpoints, version 2.0 15 Jan 2013
- Anidulafungin Rationale for the EUCAST clinical breakpoints, version 2.0 15 Jan 2013
- Micafungin and *Candida* spp. Rationale for the EUCAST clinical breakpoints, version 1.0 Feb 2013

Need dokumendid hetkel kooskõlastusringil,  
lisaks Posaconazole vs *Aspergillus* & Voriconazole vs *Aspergillus*

# *Candida wild-type* ja ravimtundlikkuse testimine

- Usaldusväärne ja standardiseeritud antibakteriaalse tundlikkuse määramise test annab 95% juhtudest MIK väärtuste varieerumise +/- 1 lahjendust ja 99% juhtudest +/- 2 lahjendust
- Liigisisene varieeruvus peab olema väiksem testi varieeruvusest s.t. tavapäraselt liigisisene MIK kõigub +/- 1 lahjendusastet ja testist tingitud varieeruvus lisab +/- 2 lahjendusastet
- WT populatsiooni jaotamine kunstlike BP poolt toob kaasa sarnase ravimtundlikkusega tüvede erineva kategoriseerimise (T-M-R) ja muudab BP ning kogu *in vitro* tundlikkuse määramise ebausaldatavaks



Fluconazole MIC distributions of 34 individual *C. glabrata* isolates (black bars) compared with the MICs obtained by 51 repeated tests of a single *C. glabrata* isolate (striped bars) originally determined to have a MIC of 2 µg/ml.

Antimicrob Agents Chemother. 2009 April; 53(4): 1628-1629

Arendrup M, Kahlmeter G, Rodriguez-Tudela JL, Donnelly P

# Kliinilised BP

- Kliinilised BP väärtus ei tohi olla seatud kõrgemaks kui liigi *wild-type* populatsiooni ECOFF (*epidemiological cut off value*) väärtus
- NB! Erandid olemas - kui kliinilised andmed toetavad teistsugust lähenemist

# BP määramise aluseks on nn. *wild-type* populatsiooni tundlikkuse tundmine

Ravim / Candida sp.	AmB	Ehhinokandiinid	Flukonasool	Itrakonasool	Vorikonasool	Posakonasool
<i>C. albicans</i>	T	T	T	T	T	T
<i>C. glabrata</i>	T	T	M-T	T-M-R	T-M-R	T-M-R
<i>C. krusei</i>	T	T	R	T-M-R	T-M-R	T-M-R
<i>C. parapsilosis</i>	T	T-M	T	T	T	T
<i>C. tropicalis</i>	T		T	T	T	T

*C. glabrata* ja *C. krusei* on normaalselt väiksema tundlikkusega asoolidele (tegemist ei ole ravimile eksponeerimise käigus kujunenud muutustega). Erinevate tundlikkusastmete skaala on tingitud metodoloogilistest erinevustest. EUCAST ei soovita asoolide kasutamist nende liikide poolt põhjustatud infektsioonide ravis

# Hetkeolukord *Candida sp.* BP

## Pärmseened<sup>1</sup>

MIK breakpoints (mg/L)

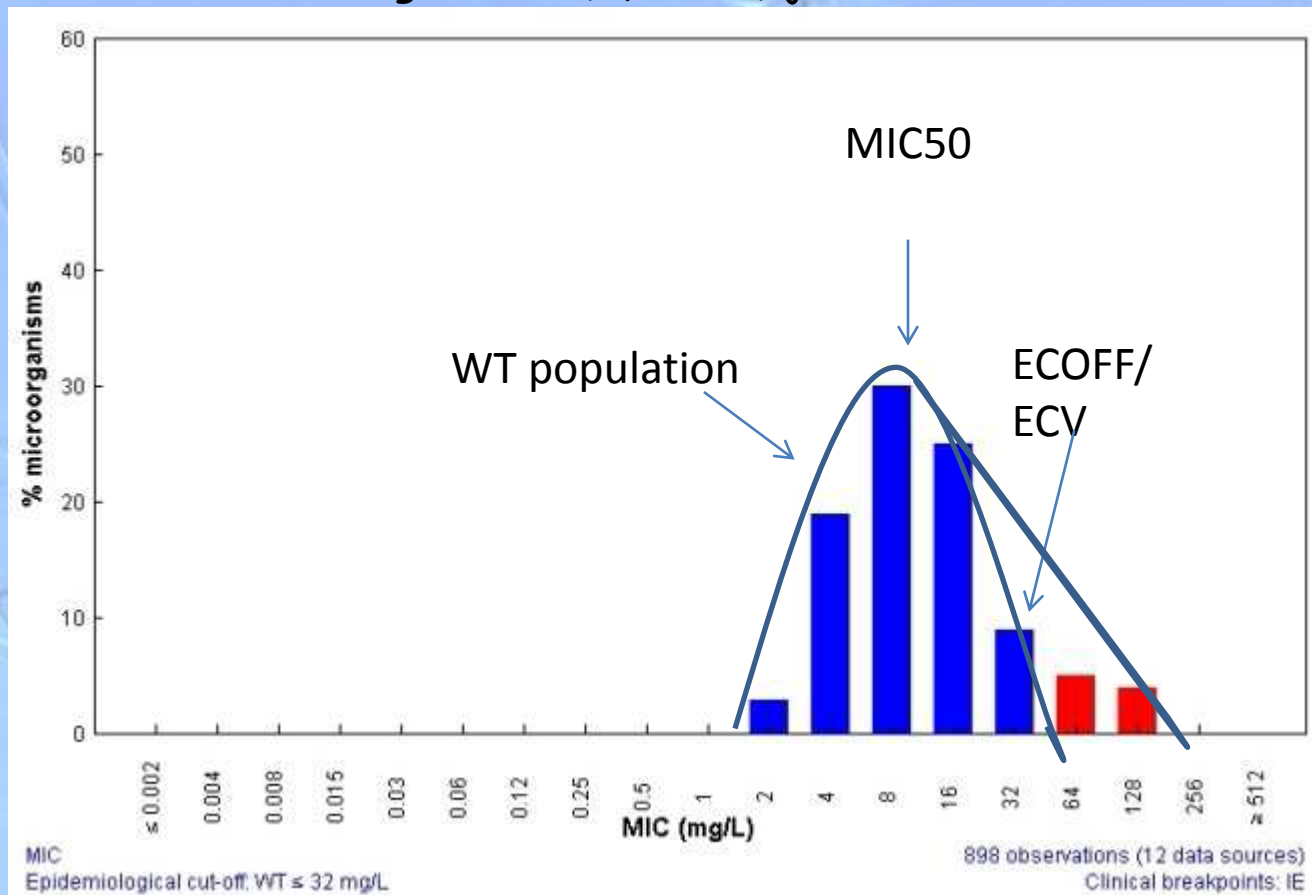
vs.3.1 10.06.2013

RPMI	<i>C. albicans</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C. krusei</i>		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. parapsilosis</i>		<i>C. guilliermondi</i>		<i>Candida spp.</i>		Märkused	
	T<=	R>	T<=	R>	T<=	R>	T<=	R>	T<=	R>	T<=	R>	T<=	R>		
Flukonasool MIK	2	4	0.002	32	ei määrat	ei määrat	2	4	2	4	MIK	MIK	2	4	EUCAST; MIK - s.t. väljastada ilma kategooriata T/S	
Vorikonasool MIK	0,125	0,125	MIK	MIK	MIK	MIK	0,125	0,125	0,125	0,125	MIK	MIK	MIK	MIK	EUCAST; MIK - s.t. väljastada ilma kategooriata T/S	
Itrakonasool MIK	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	CLSI, EUCAST tegemisel	
Amfoteritsiin MIK	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	MIK	MIK	MIK	MIK	EUCAST; MIK - s.t. väljastada ilma kategooriata T/S	
Kaspofungiin MIK	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	MIK	MIK	MIK	MIK	NWGA, EUCAST tegemisel	
Anidulafungiin MIK	0,032	0,032	0,064	0,064	0,064	0,064	0,064	0,064	0,064	0.002	4	MIK	MIK	MIK	MIK	EUCAST; MIK - s.t. väljastada ilma kategooriata T/S
Mikafungiin	0.016	0.016	0.03	0.03	MIK	MIK	MIK	MIK	0.002	2	MIK	MIK	MIK	MIK	EUCAST; MIK - s.t. väljastada ilma kategooriata T/S	
Posakonasool	0.06	0.06	MIK	MIK	MIK	MIK	0.06	0.06	0.06	0.06	MIK	MIK	MIK	MIK	EUCAST; MIK - s.t. väljastada ilma kategooriata T/S	



# I Millised probleemid ilmnevad omandatud resistentsuse detekteerimisel?

N: *Candida glabrata* (QC tüvi) ja flukonasool [www.eucast.org](http://www.eucast.org)



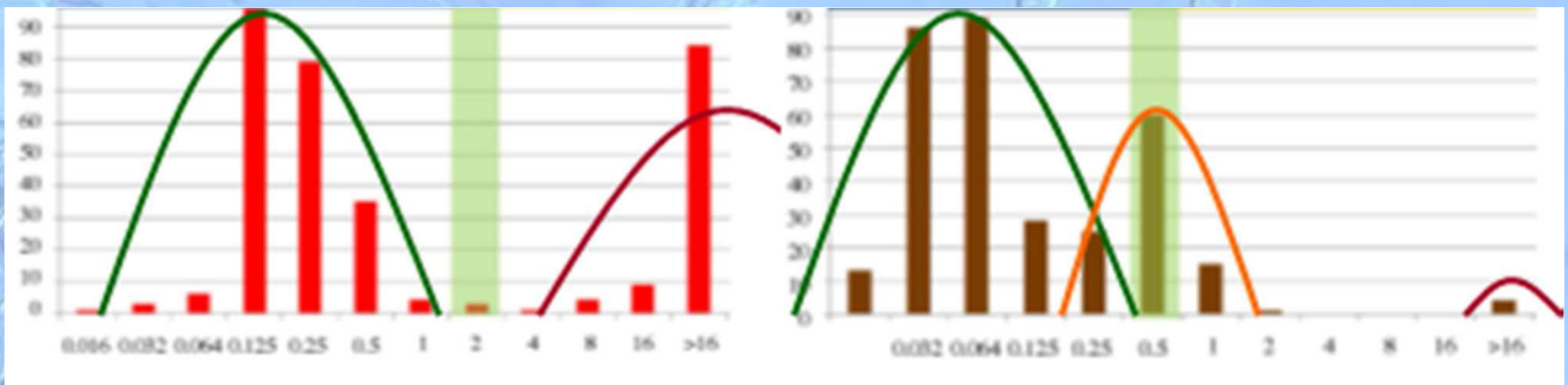
## *II Millised probleemid ilmnevad omandatud resistentsuse detekteerimisel?*

- Kui omandatud resistentsusmehhanism muudab MIK väärtust 1-3 lahjendussammu, ei suuda test neid usaldusväärselt detekteerida s.t. omandatud resistentsusega tüvede MIK väärtused kattuvad osaliselt *wild-type* populatsiooni omadega
- Kui omandatud resistentsusmehhanism (näit. geenimutatsioon) on teada ja sellega seostatakse kliinilist resistentsust, on vajalik leida täiendavaid testimise meetodeid

# III Millised probleemid ilmnevad omandatud resistentsuse detekteerimisel?

*N: Aspergillus fumigatus* itrakonasool vs posakonasool

- Itrakonasooli puhul on resistentsete tüvede populatsioon MIK väärtuste põhjal *wild-type* populatsioonist selgesti eristatav
- Posakonasooli suhtes rist-resistentsust omavate tüvede populatsioon kattub osaliselt *wild-type* populatsiooniga
- Moraal: testimine mõttekas pigem itrakonasooli suhtes (kuigi ravi kasutatakse väga harva!)



- BP kehtestamine ning ravimdooside valik peab tuginema MIK väärtuste jaotuse tundmisel *wild-type* populatsioonis

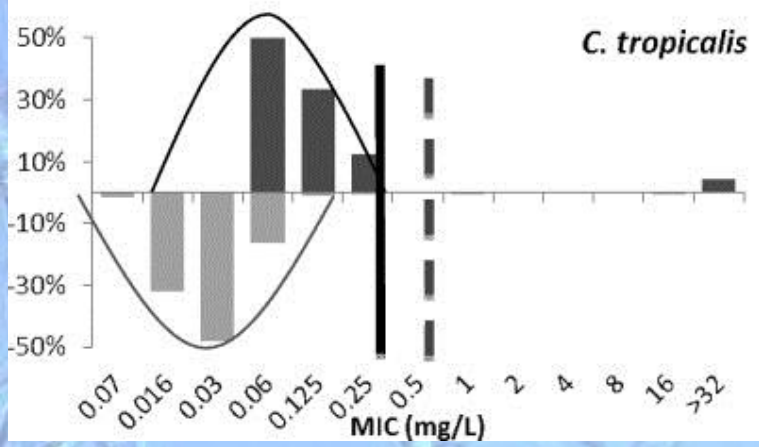
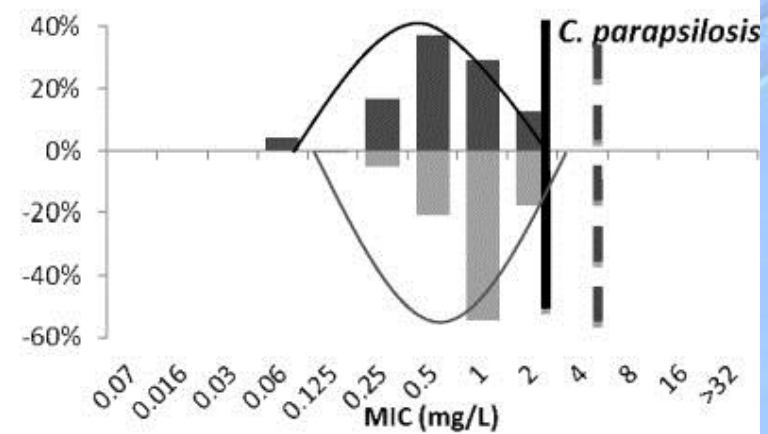
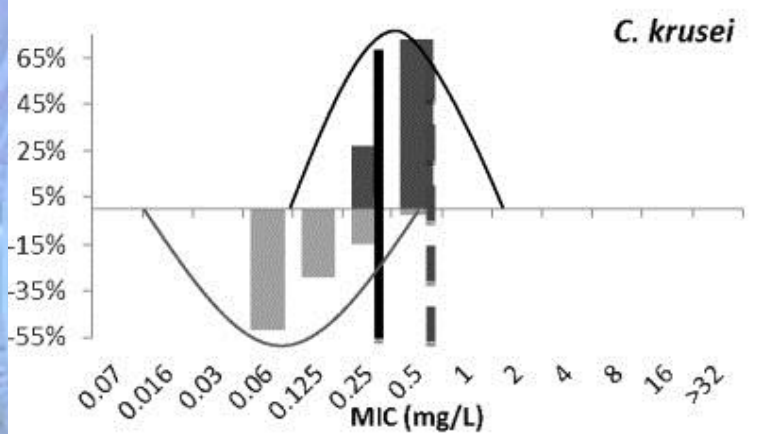
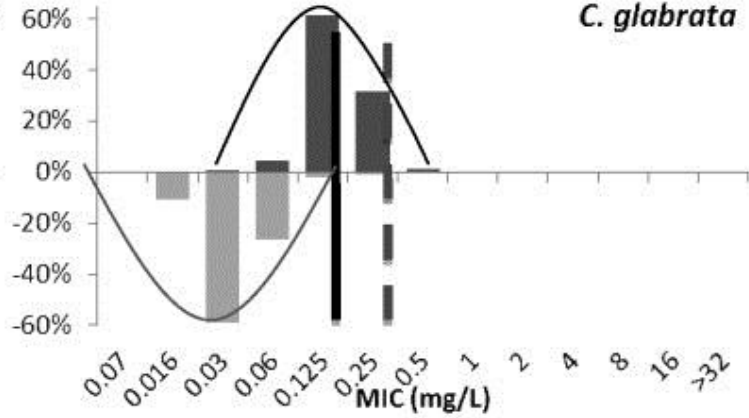
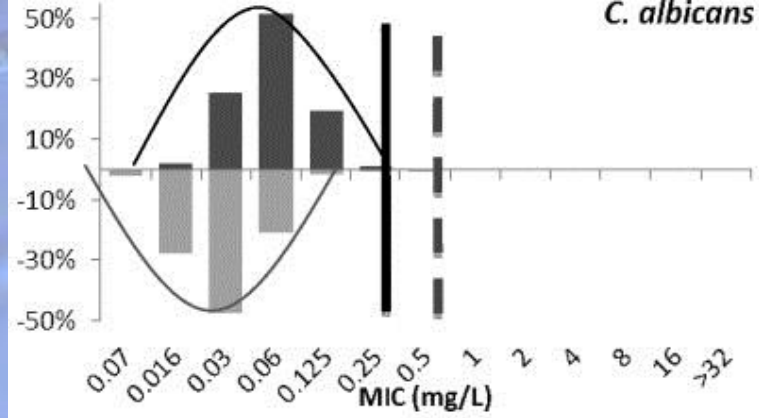
EUCAST rationale document Posaconazole and *Aspergillus* ver. 1.0 juhib tähelepanu, et posakonasooli turul olev formulatsioon ei pruugi tagada raviefekti kõrgeenenud MIK väärtustega *Aspergillus* sp tüvede puhul:



*Thus, with fixed dosing of 800 mg/day (200 mg four times a day), drug exposures may not be high enough to cover the entire wild-type distribution reliably. For isolates that are true wild type with an MIC of 0.12 mg/L, a posaconazole trough concentration of 0.9 mg/L is required to achieve an AUC:MIC of 167. For isolates with an MIC of 0.06 mg/L, a trough concentration of 0.4 mg/L is required to achieve an AUC:MIC of 167*

#### 4. Millised probleemid ilmnevad omandatud resistentsuse detekteerimisel?

*N: Candida vs kaspofungiin & anidulafungiin*

- Metodoloogilised probleemid jätkuvad: ükski meetod s.t. EUCAST ja CLSI lahjendusmeetodid, disk difusioon v Etest ei anna rahuldavaid tulemusi kaspofungiini MIK määramisel.
- Testi inkubeerimisaja pikenemist 24 tunnilt 48 püütakse vältida.
- Töös: lahustina kasutada vee asemel DMSO, samuti seerumi v BSA lisamine keskkonda.



 MICs determined by Etest  
 MICs determined by CLSI  
**Solid line:** CLSI breakpoint separating S and I  
**Broken line:** CLSI breakpoint separating I and R

Arendrup et al. 2012. Caspofungin Etest Susceptibility Testing of *Candida* Species: Risk of Misclassification of Susceptible Isolates of *C. glabrata* and *C. krusei* when Adopting the Revised CLSI Caspofungin Breakpoints. *AAA* 58: 3965-3968.

- Moraal: Etest 'le mistahes kehtivate BP rakendamise ei võimalda tuvastada kaspofungiinile resistentseid isolaate
- EUCAST has abstained from selecting a breakpoint for caspofungin, but recommend the use of anidulafungin testing as a marker of the echinocandin class of drugs as any potential caspofungin breakpoint leads to the risk of either being insensitive with respect to the identification of resistant isolates as illustrated in this paper or of misclassifying wild type isolates as resistant, and thereby rejecting a potentially useful drug. (Arendrup, M. Danish Medical Journal 2013)
- It seems highly likely that the use of the CLSI species-specific caspofungin CBPs could lead to reporting an excessive number of wild-type (WT) isolates (e.g., *C. glabrata* and *C. krusei*) as either non-WT or resistant isolates. Until this problem is resolved, routine testing or reporting of CLSI caspofungin MICs for *Candida* is not recommended; micafungin or anidulafungin data could be used instead. (Espinel-Ingroff et al. AAA 2013 Dec)

# Harvaesinevate *Candida* liikide ravimresistentsus

S.t. seni registreeritud resistentsuse leidumist *wild-type* populatsioonis

Ravim / <i>Candida</i> sp.	AmB	Ehhinokandiinid	Asoolid
<i>C. lusitaniae</i>	x		
<i>C. fermentati</i>		x	
<i>C. guilliermondii</i>		x	x
<i>C. metapsilosis</i>		x	
<i>C. orthopsilosis</i>		x	
<i>C. ciferrii</i>			x
<i>C. inconspicua</i>			x
<i>C. humicola</i>			x
<i>C. lambica</i>			x
<i>C. lipolytica</i>			x
<i>C. norvegensis</i>			x
<i>C. palmioleophila</i>			x
<i>C. rugosa</i>			x
<i>C. valida</i>			x



# Harvaesinevate *Candida* liikide ravim tundlikkuse määramine

- Üldine seisukoht hetkel: BP saavad olema liigipõhised - perekonnapõhised s.o. *Candida* sp kaob
- Me ei tea harvaesinevate liikide puhul *in vitro* MIK väärtuse seost kliinilise resistentsusega (BP puuduvad!), kas üldse MIK määrata???
- Praktikas: harvaesinevate liikide puhul vastuses kommentaarid klinitsistile - BP puudub/info puudub Kasu???

# Arutelu

- Kas ja kuidas, millistel *Candida* liikidel määrata ravim tundlikkust ehhinokandiinidele?  
Kaspofungiin vs anidulafungiin - mikafungiin
- Kuidas suhtuda E-testi analoogidesse? Millised on tootjate soovitusel BP rakendamisel?