

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΕΚΠΑ  
«ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ»  
Γ ΕΞΑΜΗΝΟ 2020-2021**

**ΑΣΘΕΝΗΣ ΜΕ GRAM (+) ΒΑΚΤΗΡΙΑΙΜΙΑ**

**Γιαννιτσιώτη Ευθυμία**  
Παθολόγος-Λοιμωξιολόγος  
Δ/τρια ΕΣΥ

Δ Παθολογική Κλινική Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

# ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

- Άνδρας 64 ετών
- Σακχαρώδης διαβήτης, αρτηριακή υπέρταση
- Λαγονομηριαίο μόσχευμα, PTFE (2015)
- Αιτία εισόδου: Εμπύρετο ως 38.8°C από 10 ημέρου με επιδεινούμενη οσφυαλγία.
- Χωρίς ιδιαίτερα ευρήματα από τη φυσική εξέταση
- ΑΠ 150/90mmHg, Σφ60/min, SAT 97%, FiO2 21%, αναπνοές 16/min.
- Q sofa:0



# ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

## Εργαστηριακός έλεγχος

- Hct **37%**, Hb **12g/dl**, WBC **12.500/mm<sup>3</sup>** (PMN **10.500/mm<sup>3</sup>**, LYMPHO 1850/mm<sup>3</sup>) PLTs 250.000/mm<sup>3</sup>
- ΤΚΕ **65mm**, CRP **27** (<6mg/l)
- Ουρία 50mg/dl, κρεατινίνη **1,2** mg/dl, Na 14 mEq/l, K 3.9mEq/l, Ca 9,8mg/dl ( albumin 3,9mg/dl)
- AST 25 UI/l, ALT 39UI/L, γGT 29 u/L, ALO 110UI/L, χολερυθρίνη 1,1 mg/dl, LDH 203 UI/l, CPK 128U/L
- Γενική ούρων κφ
- Ρο θώρακος: χωρίς παθολογική ευρήματα
- ΗΚΓ: **κοιλιακή μαρμαρυγή** (πρωτοδιαγνωσθείσα)
- Καλλιέργειες αίματος ( 2 ζεύγη): αναμένονται



# ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ-ΣΥΝΟΨΗ

- **64χρονος άνδρας με ΣΔ, ΑΥ & λαγονομηριαίο μόσχευμα**
- **Πυρετός από 10ημέρου χωρίς συνοδά συμπτώματα και σημεία πλην έντονης οσφυαλγίας.**
- **Αναιμία, λευκοκυττάρωση, αυξημένη ΤΚΕ, CRP**
- **Χωρίς κλινικά σημεία σήψης**



- **Εν αναμονή καλλιέργειών αίματος, τι κάνουμε;**



# ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ



# ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ-ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

- Α. Χορηγούμε αντιβιοτικά εμπειρικά ενδοφλεβίως
- Β. Δεν χορηγούμε αντιβιοτικά
- Γ. Χορηγούμε κορτιζόνη
- Δ. Στέλνουμε septicfast (μοριακό έλεγχο σε δείγμα αίματος)  
και ξεκινάμε άμεσα αντιβιοτικά ευρέως φάσματος  
ενδοφλεβίως.



# ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

- **Α και Δ επιλογή.** Ασθενής σε σηπτική καταπληξία ή με σοβαρή σήψη και εξελισσόμενη κλινική εικόνα
- **Β επιλογή.** Ασθενής χωρίς σημεία σήψης ή λοιμογόνου εστίας που να επιβάλει άμεσα χορήγηση αντιβιοτικών
- **Γ.επιλογή.** Τα κορτικοειδή ΔΕΝ έχουν θέση σαν εμπειρική χορήγηση σε παρατεινόμενο εμπύρετο εκτός κι αν υπάρχουν κλινικοεργαστηριακά ευρήματα για οξεία φλεγμονώδη αντίδραση αυτοανόσου αρχής (αγγειίτιδα, ουρτικάρια, εμφάνιση ή έξαρση ρευματικού νοσήματος πχ ΡΑ και ΣΕΛ)

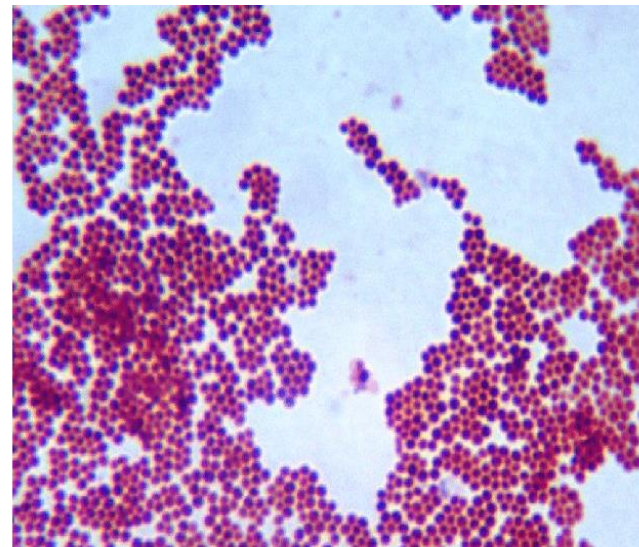
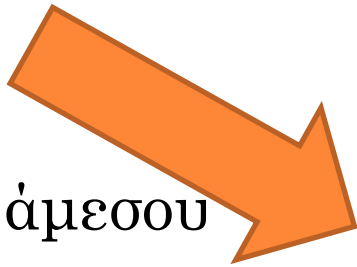
# ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

- Λόγω της σταθερότητας της κλινικής εικόνας, αναμονή καλλιιεργειών αίματος



- Ειδοποίηση από το εργαστήριο 15 ώρες μετά

- Gram χρώση άμεσου
- Gram θετικός κόκκος



Χορηγούμε αντιβιοτικά;  
Αν ναι ποια αντιβιοτικά;





# ΑΙΤΙΑ GRAM ΘΕΤΙΚΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΑΙΜΙΑΣ

- **Σταφυλόκοκκοι**

*Staphylococcus aureus*

**Coagulase negative Staphylococci (CoNS)**

(*S.epidermidis*, *S.capitis*, *S.haemolyticus*, *S.lugdunensis*)

- **Στρεπτόκοκκοι** (όχι εντερόκοκκοι)

(*S.pneumoniae*, *S.pyogenes*, *S.agalactiae*, *S.galollyticus*,  
*Viridans Streptococi*)

- **Εντερόκοκκοι** (*E. faecalis*, *E. faecium*)

- Άλλα (σπάνια): Corynobacteria, αναερόβια (*Cl. difficile*)



# ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΓΩΓΗ ΣΕ GRAM (+) ΒΑΚΤΗΡΙΑΙΜΙΑ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΑ ΠΑΘΟΓΟΝΑ

## ○ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΟΙ

*Staphylococcus aureus*, Coagulase negative Staphylococci

- Methicillin resistant (MR): ➔ Βανκομυκίνη, τεϊκοπλανίνη, δαπτομυκίνη, κεφταρολίνη, νταλμπαβανσίνη
- Methicillin sensitive (MS): ➔ δικλοξακιλλίνη, κεφταρολίνη

## ○ ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΟΙ

➔ } Αμπικιλλίνη (PenS), Κεφτριαζόνη (Pen MIC), ή  
βανκομυκίνη, κλινδαμυκίνη (αλλεργία β-λακτάμες)

## ○ ΕΝΤΕΡΟΚΟΚΚΟΙ

➔ } Αμπικιλλίνη+γενταμικίνη ή  
αμπικιλλίνη+κεφτριαζόνη ή βανκομυκίνη  
ή λινεζολίδη, δαπτομυκίνη (VRE)

## ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ-ΑΓΩΓΗ

- Ο ασθενής ξεκινά εμπειρική ενδοφλέβια αγωγή με βανκομυκίνη και κεφτριαζόνη εν αναμονή της ταυτοποίησης του παθογόνου και του αντιβιογράμματος:
- Βανκομυκίνη 15mg/Kg ΣΒ ανά 12ωρο  
(s.o.s Εγχυσή μιάς ώρας για αποφυγή φαινομένου RED MAN SYNDROME!)
- +
- Κεφτριαζόνη 2g/ 24ωρο



Η ταχεία έγχυση βανκομυκίνης επάγει αμεση απελευθέρωση ισταμίνης από τα μαστοκύτταρα-αποτέλεσμα: χαρακτηριστικό εξάνθημα



# ΕΜΠΕΙΡΙΚΗ ΑΓΩΓΗ ΣΕ ΒΑΚΤΗΡΙΑΙΜΙΑ

- Δεν αναμένουμε την ταυτοποίηση του παθογόνου

Η αντιμικροβιακή αγωγή



- Ξεκινά υποχρεωτικά ενδοφλεβίως
- Είναι ευρέως φάσματος ώστε να καλύπτει όλα τα πιθανά παθογόνα αλλά και την πιθανολογούμενη αντιμικροβιακή αντοχή
- Αντιβιοτικά με βακτηριοκτόνο δράση και καλές συγκεντρώσεις στο αίμα και στους ιστούς
- ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΑ αναζήτηση εστίας λοίμωξης!!
- Λήψη καλλιιεργειών αίματος υπό αγωγή!!



# ΘΝΗΤΟΤΗΤΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑΙΜΙΑΣ ΑΠΟ **MRSA**

- Νοσοκομειακή λοίμωξη
- Παραμονή σε ΜΕΘ
- Νεφρική ανεπάρκεια
- Ηλικία
- Βακτηριαμία κεντρικού καθετήρα
- APACHE II score  $23 \pm 8.9$



**Νοσοκομειακή θνητότητα >60%**  
**Αποδιδόμενη στην MRSA**  
**βακτηριαμία: 24%!!**

# ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΟΙ ΚΑΙ ΒΑΚΤΗΡΙΑΙΜΙΑ

## Θεραπευτική Λοιμώξεων από MRSA

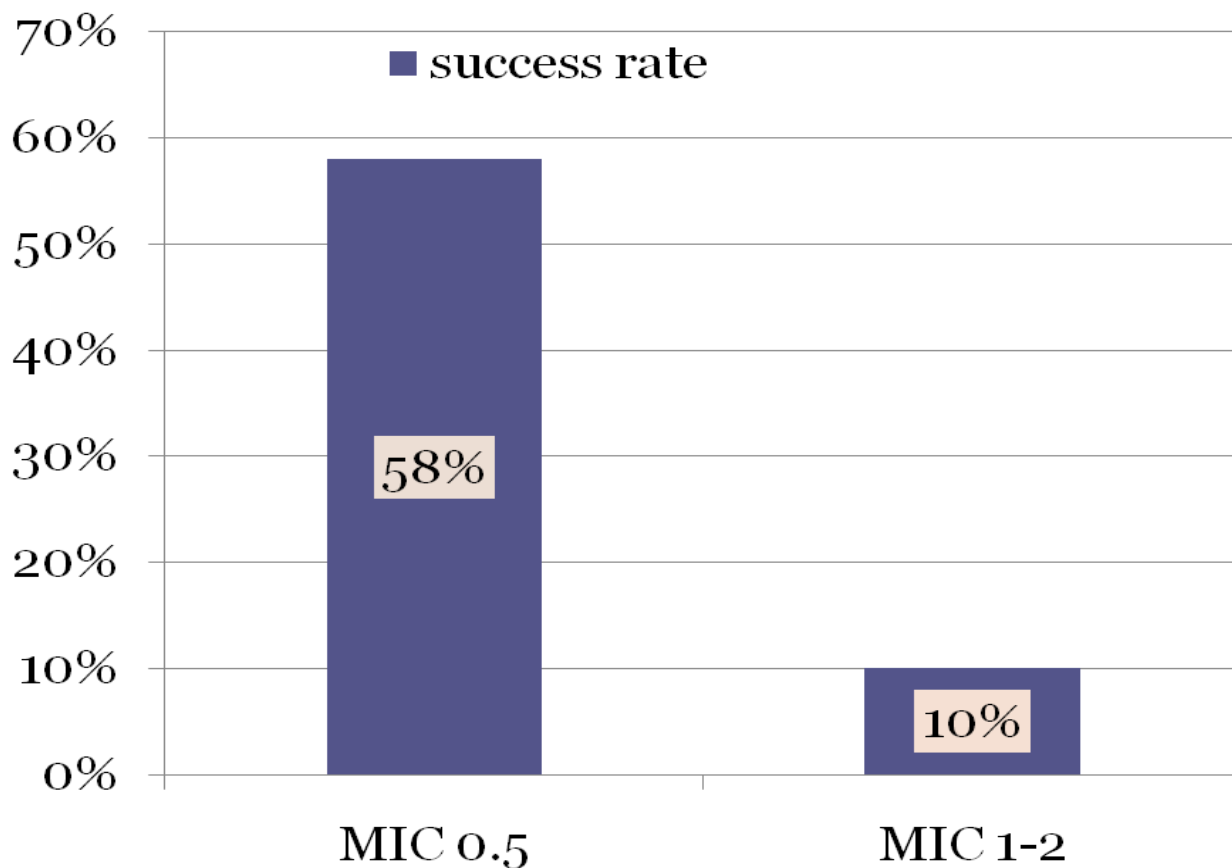
- Βανκομυκίνη
- Τεικοπλανίνη
- Δαπτομυκίνη
- Νταλμπαβανσίνη
- Λινεζολίδη
- Κεφταρολίνη

### “Βασικά σημεία”

- Σε ενδοπροθέσεις, συνδυασμός με ριφαμπικίνη
- Σε σηπτικούς ασθενείς, δυνατή η προσθήκη γενταμικίνης
- Σε άλλα όργανα- στόχους πχ οστεομυελίτιδα συνδυασμός βάσει αντιβιογραμματος και Pk/Pd ιδιοτήτων (κινολόνες, κοτριμοξαζόλη, κλινδαμυκίνη, φουσιδικό Να, μينوκυκλίνη).

# ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΑ ΠΟΣΟΣΤΑ ΑΠΟΤΥΧΙΑΣ ΤΗΣ ΒΑΝΚΟΜΥΚΙΝΗΣ ΜΕ ΥΨΗΛΕΣ MIC (>1 MG/DL) ΣΕ ΣΟΒΑΡΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ «THE “CREEP” EFFECT»

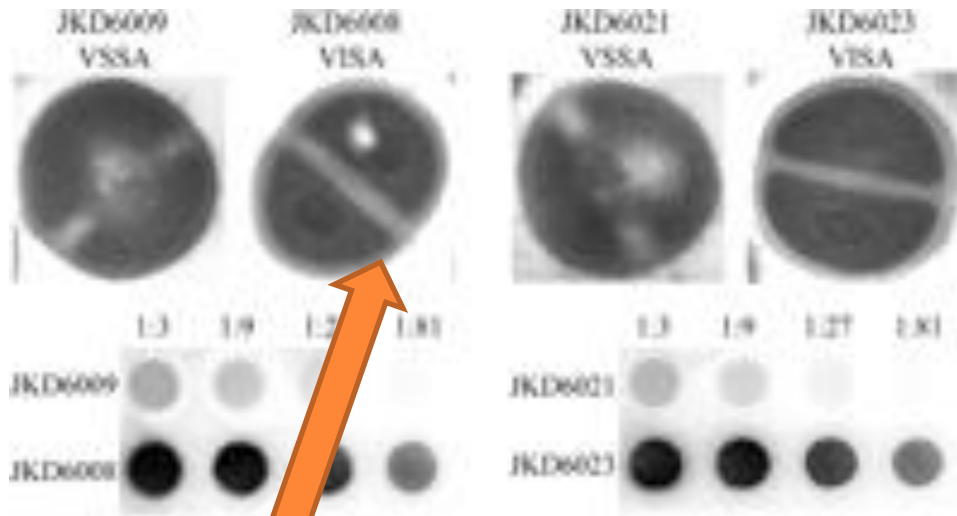
SAKOULAS ET AL, JCM 2004



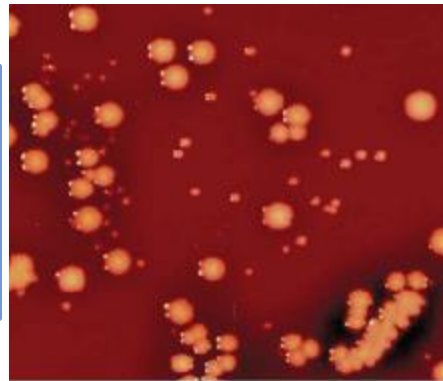


# VANCOMYCIN INTERMEDIATE S.AUREUS (VISA) & HETERO-VISA

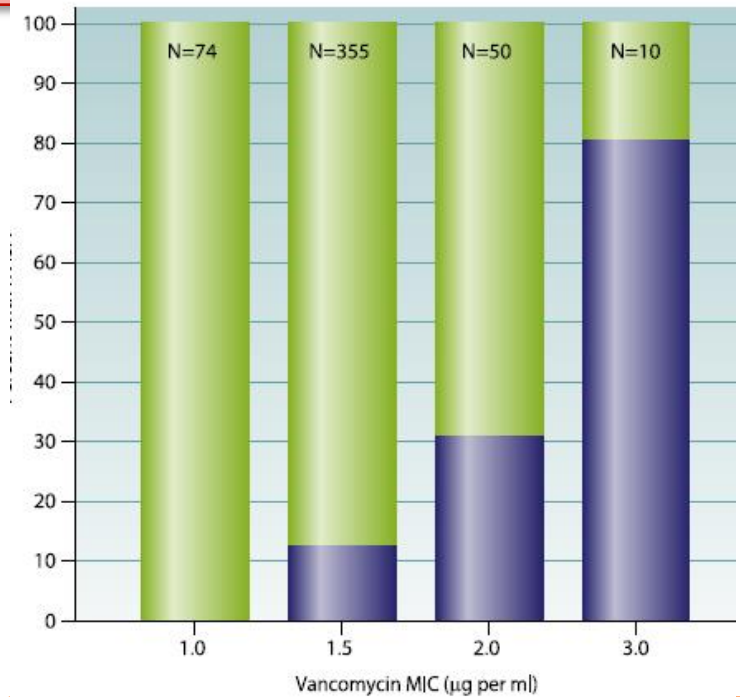
VISA: 4-8 μg/ml (CLSI)



Ελαττωμένη διάχυση  
βανκομυκίνης στο  
πεπαχυμένο τοίχωμα  
των VISA



J CLIN MICROBIOL, June 2009, p. 1640-4



- Αρχικό στέλεχος ευαίσθητο Hetero-VISA (hVISA):
- Υποπληθυσμοί *S. aureus* με μειωμένη ευαισθησία στην βανκομυκίνη (EUCAST > 2 μg/ml).
- Γενετικοί πολυμορφισμοί

# Πώς χρησιμοποιούμε την βανκομυκίνη...

## Για σοβαρές λοιμώξεις από MRSA

- Παρακολούθηση επιπέδων στο αίμα
- Δόση φόρτισης 25-30mg/kg (ενήλικες), παρατεταμένη έγχυση ( ωρών)
- Vanco MIC by E-test
- Όχι βανκομυκίνη αν MIC>1mg/l
- Παρακολούθηση νεφροτοξικότητας
- Ελάττωση χρόνου χορήγησης στον απόλυτα απαραίτητο

# Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: A consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists

MICHAEL RYBAK, BEN LOMAESTRO, JOHN C. ROTSCHAFFER, ROBERT MOELLERING JR., WILLIAM CRAIG, MARIANNE BILLETER, JOSEPH R. DALOVISIO, AND DONALD P. LEVINE

*Am J Health-Syst Pharm.* 2009; 66:82-98

- ❖ Monitoring of trough levels of vancomycin in bacteremia and endocarditis are recommended.
- ❖ Vancomycin trough : **15-20 mg/L**  
(Level of evidence BIII)
- ❖ Staphylococci : Vancomycin **MIC  $\leq$  1 mg/L**

# Τεϊκοπλανίνη και MRSA βακτηριαίμια

- **Προσοχή στην δοσολογία!**
- Δόση φόρτισης 12mg/Kg x2 (max 800mg/12h) για 24h . Δόση συντήρησης 12mg/Kg/24h
- Σημαντική ίαση και μικρότερη θνητότητα!!
- \* SPC φαρμάκου συνιστά 6mg/Kg/24ωρο....
  
- Σημείωση: υψηλές MIC σε αρκετά στελέχη CoNS και σε στελέχη MRSA-GISA (ενδιάμεσης αντοχής σε βανκομυκίνη-τεϊκοπλανίνη)– εμμένουσα λοίμωξη  
Αναγκαίες οι υψηλές δοσολογίες

# Η δαπτομυκίνη σε MRSA βακτηριαμία

- Υψηλή δοσολογία (10-12 mg/Kg/24h)
- Ταχέως βακτηριοκτόνος -αποτελεσματική σε στελέχη με αυξημένη MIC στην βανκομυκίνη
- Διαφορετικός μηχανισμός αντοχής.
- Ισοδύναμη επιλογή για βακτηριαμία από MRSA στις κατευθυντήριες οδηγίες
- Καλό προφίλ ανεπιθυμητών ενεργειών
- Δεν απαιτείται μέτρηση επιπέδων ορού.

IDSA guidelines 2011

Smith J, Curr Infect Dis Rep 2014; *Gould I, IJAA, 2013;42:202*

# Η κεφταρολίνη σε βακτηριαμία MRSA

- Η μοναδική β-λακτάμη με δραστικότητα στον MRSA
- Υψηλές δόσεις (600mgx 3) είναι αποτελεσματικές ως θεραπεία διάσωσης σε σταφυλοκοκκική βακτηριαμία
- Η συγχορήγηση κεφταρολίνης μαζί με δαπτομυκίνη ως αρχική θεραπεία μπορεί να μειώνει σημαντικά την θνητότητα σε βακτηριαμίες από MRSA

# Η νταλμπαβανσίνη

- Έχει χορηγηθεί σε βακτηριαιμίες από *S.aureus* κυρίως όμως ως δεύτερης γραμμής ή ως αποθεραπεία στη λογική της ελάττωσης του χρόνου νοσηλείας του ασθενούς.
- Καλή επιλογή σε ασθενείς με πρωταρχική εστία λοίμωξης τα μαλακά μόρια και οστά.

# Η λινεζολίδη....

- ΔΕΝ προτιμάται σε βακτηριαμία από *S.aureus*
- ΔΕΝ είναι στις θεραπευτικές ενδείξεις ενδοκαρδίτιδας και σηπτικής θρομβοφλεβίτιδας

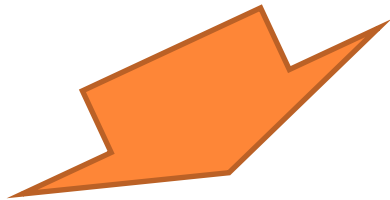
*ESCMID guidelines for infective endocarditis, Eur Heart J 2015*

*Holland T, [JAMA](#). 2014*



## ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

- Οι καλλιέργειες ανέδειξαν  
*Staphylococcus aureus* MSSA
- τι κάνουμε;



- **αποκλιμάκωση αγωγής** από βανκομυκίνη σε
- αντισταφυλοκοκκική πενικιλίνη  
(κλοξακιλλίνη, ή δικλοξακιλλίνη 12g/24h σε 6 δόσεις).



## Comparative Effectiveness of Beta-Lactams Versus Vancomycin for Treatment of Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections Among 122 Hospitals

- *The hazard of mortality decreased further for patients who received antistaphylococcal penicillins compared with vancomycin (HR, 0.57; 95% CI, .46-.71).*

*McDanel et al. Clin Infect Dis. 2015 Apr 21. pii: civ308.*

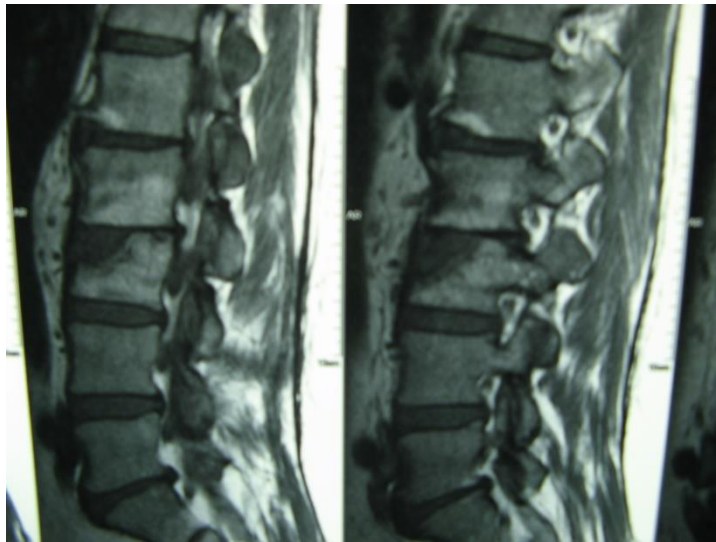
**S.O.S De-escalate vancomycin to  
antistaphylococcal penicillin  
if MSSA !**

# ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

Ο ασθενής υπεβλήθη σε MRI ΟΜΣΣ Λόγω οσφραλγίας



Οστικό οίδημα, καταστροφή σπονδύλων με παρασπονδυλική συλλογή



Ασθενής με βακτηριαιμία από *Staphylococcus aureus* και πυογόνο σπονδυλοδισκίτιδα

Θα κάνουμε άλλη διαγνωστική εξέταση και ποια;



Σε ποιους ασθενείς με βακτηραιμία θα γίνει echo καρδιάς για διερεύνηση ενδοκαρδίτιδας;

## **Βακτηραιμία από *S.aureus***

- PREDICT score
- VIRSTA score

## **Βακτηραιμία από *Enterococcus spp***

- DENOVA score

# VIRSTA SCORE *(TIBIANA ET AL J INFECT 2016)*

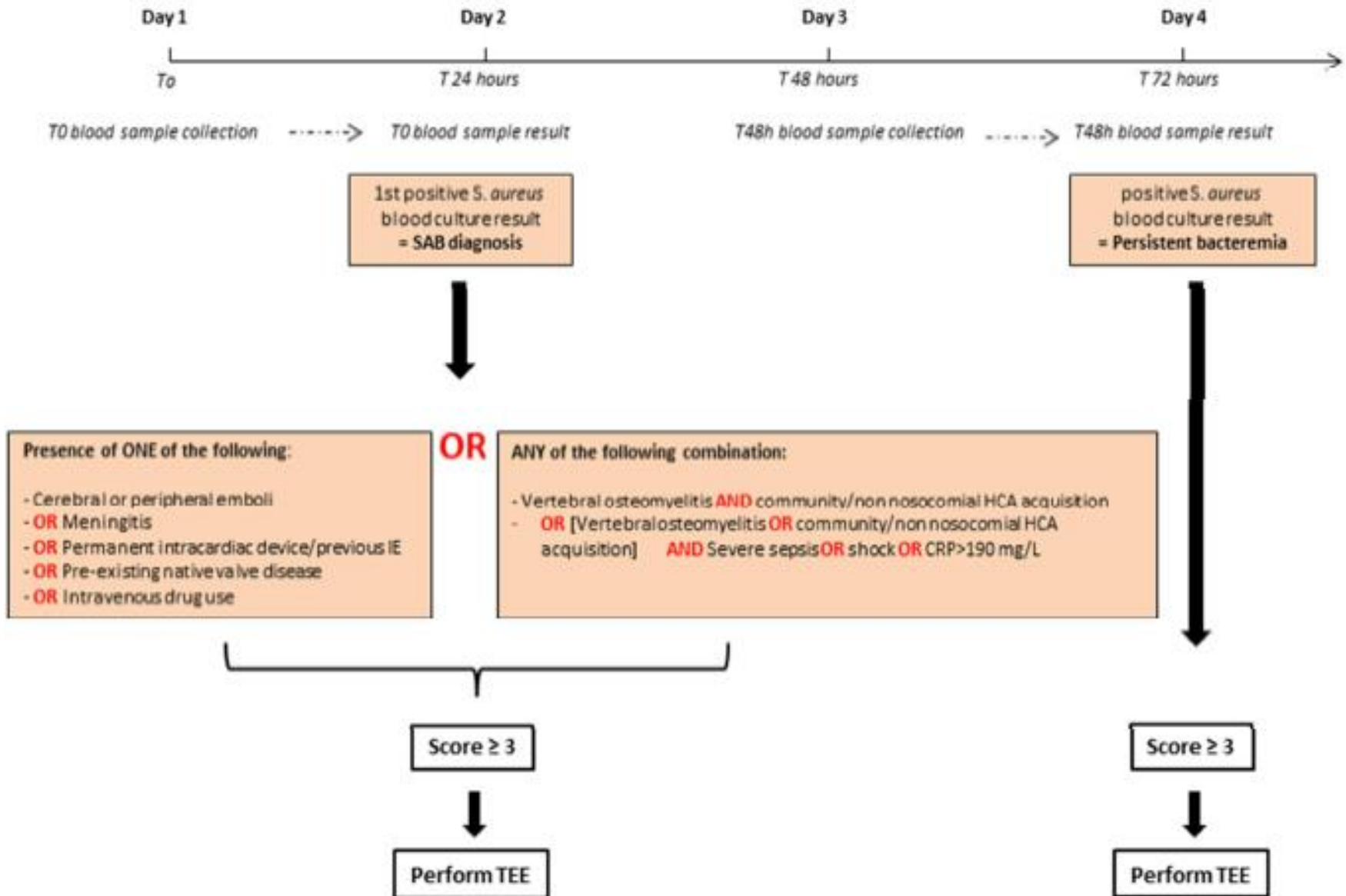
- Persistent bacteremia =  $\geq 72$  h under appropriate antibiotics ( point 1)  
**+ one or more (each 1 point)**
- Intravenous Drug Abused, vertebral osteomyelitis, meningitis, cerebral emboli pre-existing native valve disease, permanent cardiac device, history of endocarditis, sepsis/septic shock

**Score  $\leq 2$ :** negative predictive value 98.8%; sensitivity 95.8%


**Patients with *S.aureus* bacteremia and score  $> 2$   
high suspected IE - echocardiography!!**



# The VIRSTA score



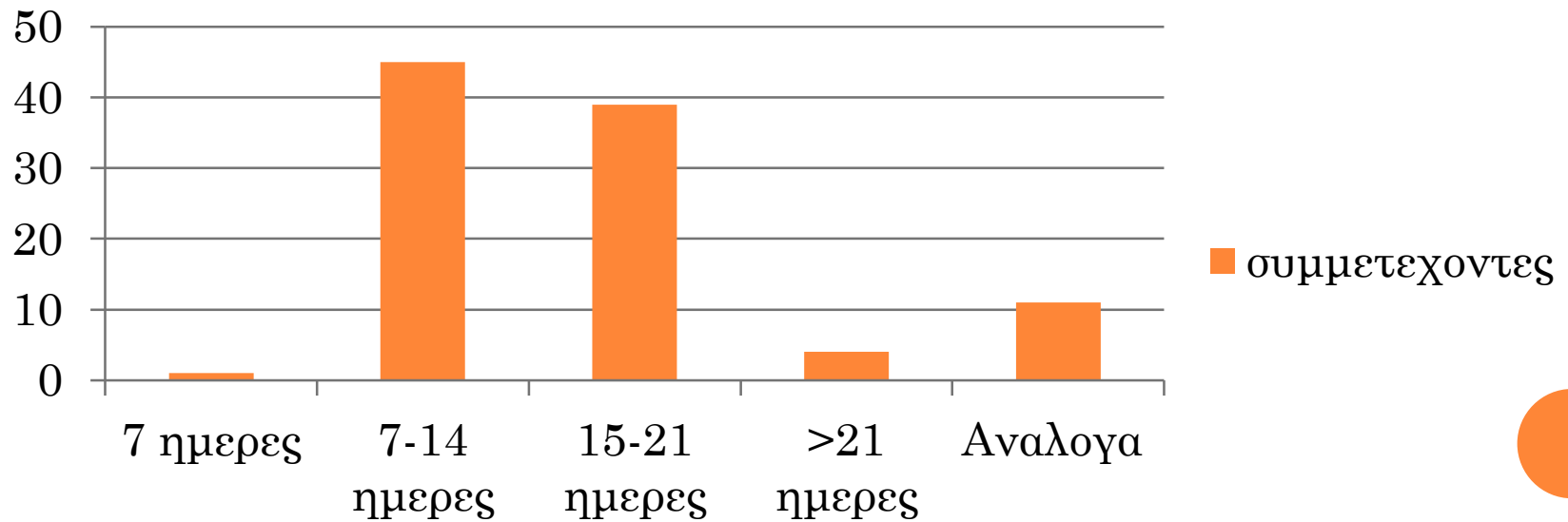
# Περίπτωση ασθενούς

- U/s καρδιάς ήταν αρνητικός για ενδοκαρδίτιδα.
  - Χωρίς άλλα κριτήρια ενδοκαρδίτιδας
  - Κλινικώς, απυρεξία, υποχώρηση οσφουαλγίας
  - Εργαστηριακώς βελτίωση δεικτών φλεγμονής
  - Αιμοκαλλιέργειες υπό αγωγή στείρες.
- Ο ασθενής έχει λάβει 15 ημέρες ενδοφλέβιας αγωγής με δικλοξακιλλίνη Τι προτείνετε;
- 
- A. **Stop αγωγή, ολοκλήρωσε 15 ημέρες**
  - B. **συνέχιση IV αγωγής ως τις 30 ημέρες.**
  - B. **συνέχιση με per os αγωγής λόγω σπονδυλοδισκίτιδας με συνδυασμό αντιβιοτικών για 4 ακόμα εβδομάδες**

# ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΑΓΩΓΗΣ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΙΚΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΑΙΜΙΑΣ

- Clinical Consensus Conference: Survey on GramPositive Bloodstream Infections with a Focus on Staphylococcus aureus
- Christoph K. Naber, Larry M. Baddour, Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis, Ian M. Gould, Mathias Herrmann, Bruno Hoen, Adolf W. Karchmer, Yoshio Kobayashi, Roman S. Kozlov, Daniel Lew, Jose´ M. Miro´, Robert C. Moellering, Jr., Philippe Moreillon, Georg Peters, Ethan Rubinstein, Harald Seifert, and G. Ralph Corey

## Διάρκεια θεραπείας βακτηριαμίας από Σταφυλοκκόκους





# Θεραπεία οξείας σπονδυλοδισκίτιδας

1. Αρχικά ενδοφλέβια για 2-3 εβδομάδες, σύνολο 12 εβδομάδες. Μελέτη OVIVA: ισοδύναμη per os με IV αγωγή
2. Ολοκλήρωση με per os αγωγή βάσει αντιβιογράμματος
3. Συνδυασμοί αντιβιοτικών με καλή συγκέντρωση στους ιστούς
4. οι 6 εβδομάδες δεν είναι λιγότερο αποτελεσματικές από τις 12 εβδομάδες σε RCT μελέτη.

# Περίπτωση ασθενούς

- Ο ασθενής εξέρχεται με αγωγή


Μινοκυκλίνη 100mg/12 ωρο

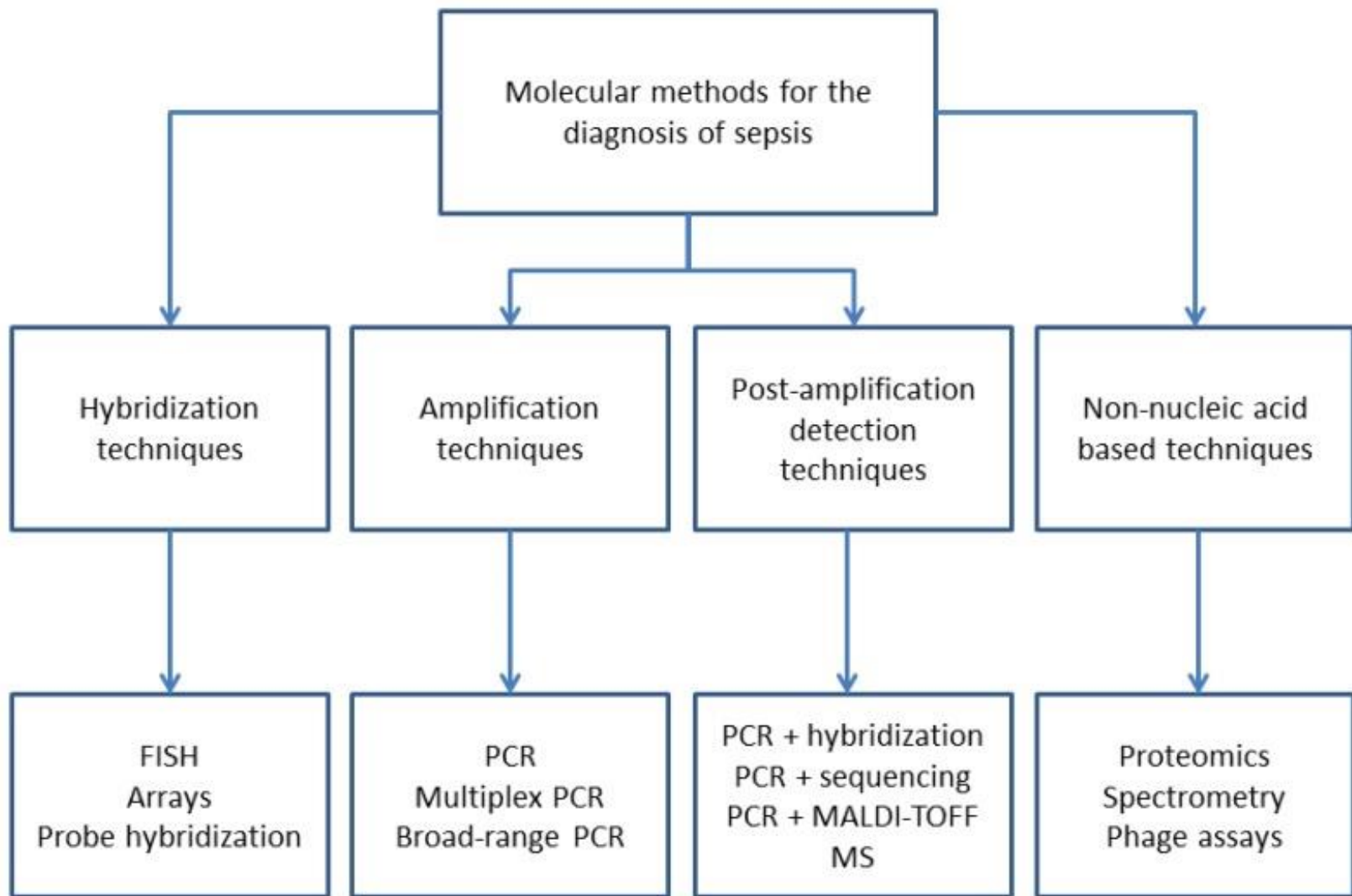
+

Κοτριμοξαζόλη 800/160mg/12ωρο

- **Ωστόσο, μια εβδομάδα μετά το εξιτήριο εισάγεται στο εφημερεύον νοσοκομείο με εικόνα σηπτικής καταπληξίας, αναιμίας και φλεγμονής στο δεξιό λαγόνιο βόθρο.**

# Περίπτωση ασθενούς

- Ο ασθενής αντιμετωπίζεται με πρωτόκολλο σηπτικής καταπληξίας στα ΤΕΠ
  - Τοποθέτηση ΚΦΚ, επιθετική ενυδατωση, ευρεως φάσματος αντιβιοτικά μετά τη λήψη αιμοκαλλιεργείων...
  - **Μαζί με τις αιμοκαλλιέργειες στέλνεται και δείγμα αίματος για ταχεία μοριακή ανίχνευση παθογόνου!!**
- 
- Σε 2 ώρες η απάντηση: ***S.aureus* MRSA!!**



# Septifast M<sup>Grade</sup> Test

- «The Septifast M<sup>Grade</sup> test (Roche Diagnostics International AG, Rotkreuz, Switzerland) is a CE (Conformité Européene) certified multiplex **real-time PCR test able to detect bacterial and fungal DNA sequences of 25 pathogens directly from single whole blood sample with high specificity (98.8%)**
- A negative assay does not exclude bacteremia, but a positive one shortens time to adequate antimicrobial treatment with obvious positive impact on outcome».

# Ταχεία μοριακή ανίχνευση σταφυλοκόκκων σε θετικές αιμοκαλλιέργειες επί βακτηριαμίας

- **FDA approved**
- **FilmArray** blood culture identification panel

Αποτέλεσμα ( και για αντοχή στην μεθικιλίνη) σε μία ώρα

- **Xpert MRSA/SA** 99% ευαισθησία & ειδικότητα
- **MALDI Biotyper** and the Vitek MS:αποτέλεσμα ταυτοποίησης εντός λεπτών

Ολες οι μέθοδοι, θετική προγνωστική αξία >95%

# ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

Επείγουσα αξονική τομογραφία στα ΤΕΠ:  
Συλλογή γύρω από το λαγονομηριαίο μόσχευμα!!



# Στη συνέχεια.....

- **Επείγουσα αγγειοχειρουργική επέμβαση αφαίρεσης και αντικατάστασης μοσχεύματος**



- Διεγχειρητικές καλλιέργειες ιστών και εφαρμογή υπερήχησης (sonication) στο αφαιρεθέν εμφύτευμα



- ***Staphylococcus aureus!!!***



# Λοιμωξεις αγγειακών μοσχευμάτων : PCR vs καλλιέργεια +/- sonication

	sensitivity	specificity
κ/α μοσχεύματος	85.7%	100%
κ/α μετά Sonicate	89.7%	100%
Genus specific PCR	79.5%	83.3%

❖ Κοινές καλλιέργειες με PCR υγρού μετά από sonication:  
PPV 97.5% & NPV 100%

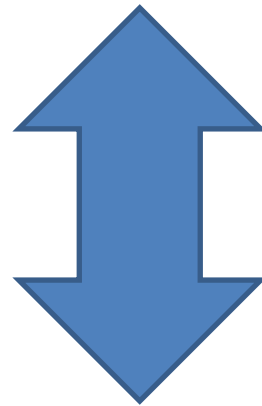
Puges M, Eur J Vasc Endovasc Surg 2018

# Περίπτωση ασθενούς

- Άνδρας 64 ετών
- Σακχαρώδης διαβήτης, αρτηριακή υπέρταση
- **Λαγονομηριαίο μόσχευμα PTFE (2015)**
- Αιτία εισόδου: Εμπύρετο ως 38.8οC από 10 ημέρου με επιδεινούμενη οσφυαλγία.
- χωρίς ιδιαίτερα ερήματα από τη φυσική εξέταση
- ΑΠ 150/90 mmHg, Σφ 60/min, SAT 97%, αναπνοές 16.
- Q sofa:0

Costerton B , Høiby N

Εμμένουσα λοίμωξη

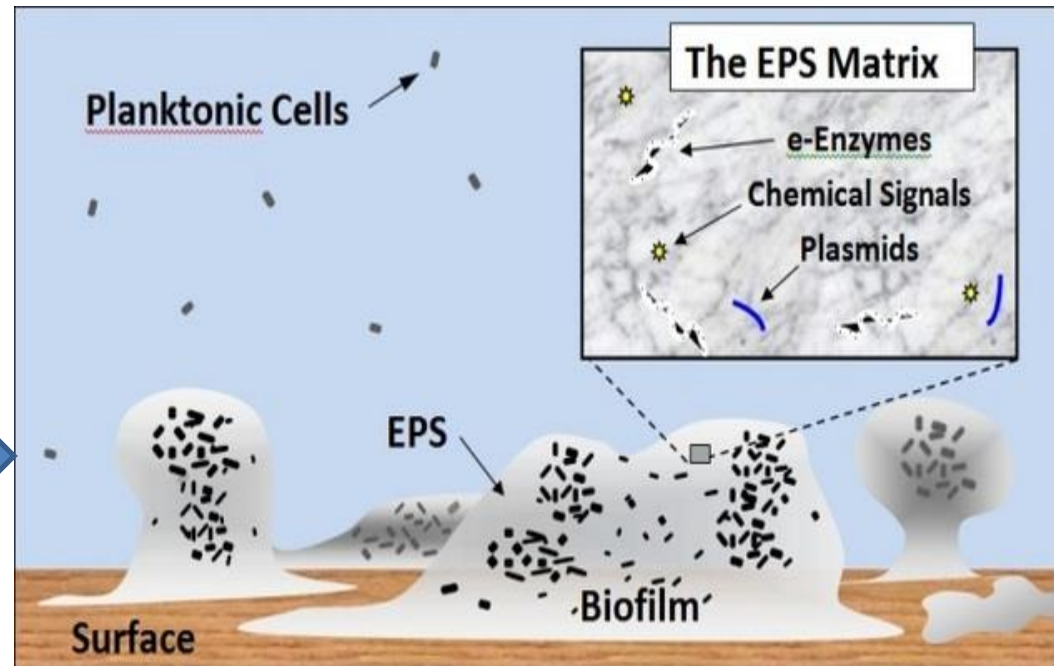
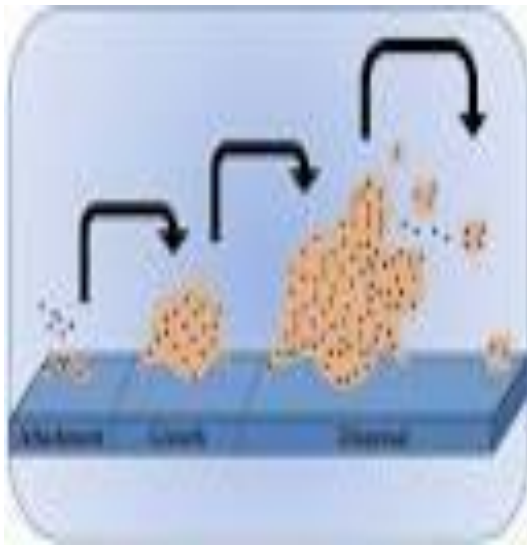


ύπαρξη βιομεμβράνης

# BIOFILM

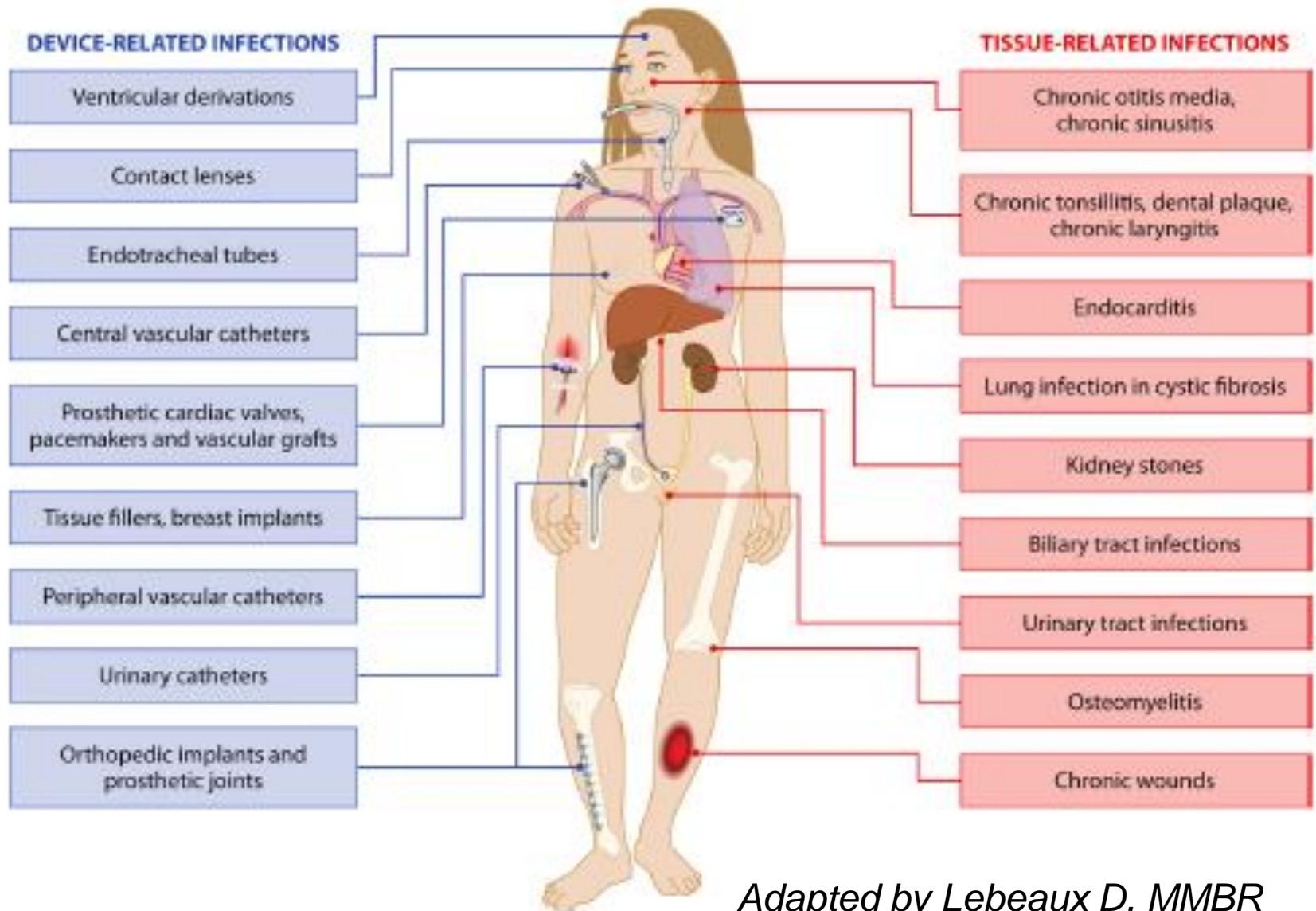


- Or how microbes built their house!!



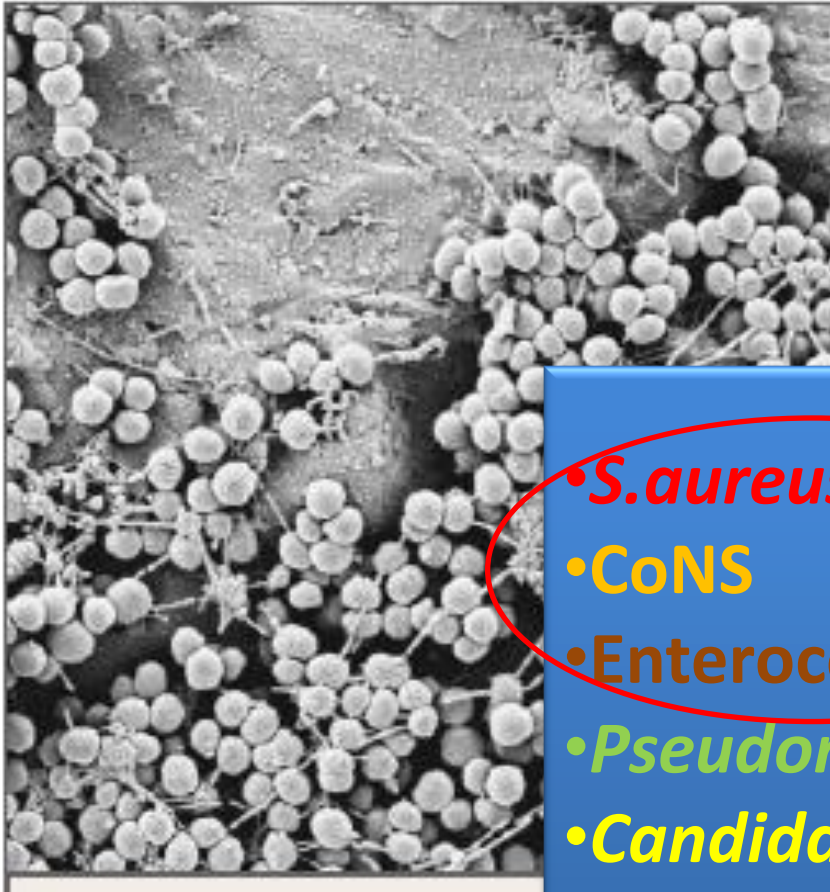
**Within hours!! Mature biofilm within days!**

# Πού σχηματίζουν τα μικρόβια βιομεμβράνη;



Adapted by Lebeaux D, MMBR  
2014

...Όπου τα μικροβια λαβροβιούν  
στην επιφάνεια των ξένων  
εμφυτευμάτων, παράγοντας ...



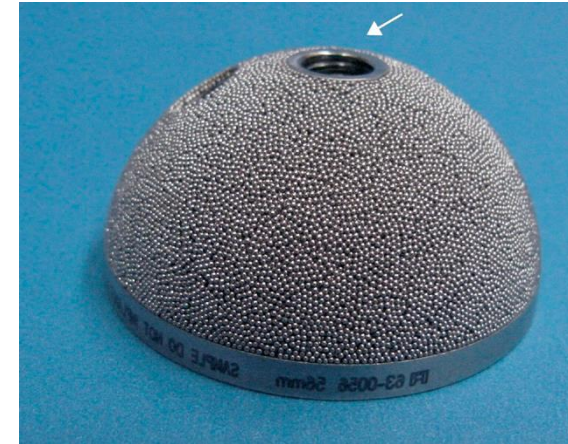
**Biofilm...**

Παθογόνα που παράγουν biofilm

- *S. aureus*
- CoNS
- Enterococci
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Candida spp*
- Άλλα ( πχ Acinetobacter, Enterobacter)

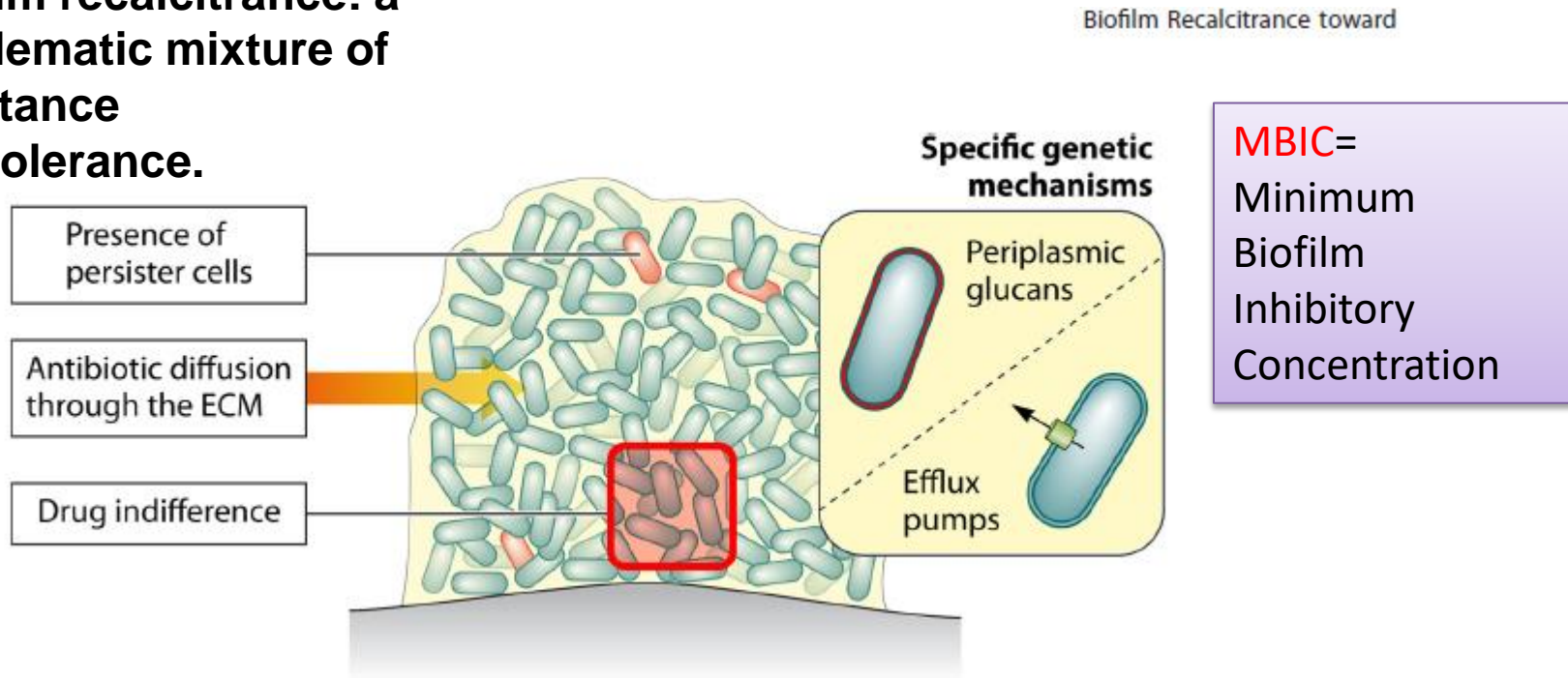
## ΒΙΟΜΕΜΒΡΑΝΗ ( *biofilm* )

- Οργανωμένη κοινότητα μικροβίων
- Χαμηλός ρυθμός πολ/σμού
- Επικοινωνία ( quorum –sensing )
- Οι τοπικές συνθήκες (**γλυκοκάλυκας – slime**) ευνοούν την μακρά επιβίωση των μικροοργανισμών σε πλαγκτονική μορφή
- Περίοδοι έντονου πολ/σμού ( οξείας φλεγμονής)
- **Περιοχή 1000 φορές πιο ανθεκτική στα αντιβιοτικά**
- **Χαμηλότερη συγκέντρωση αντιβιοτικού**
- **Αποτυχία - αντοχή**



# Biofilm: Αντοχή στα αντιβιοτικά! Πώς;

**Biofilm recalcitrance: a problematic mixture of resistance and tolerance.**



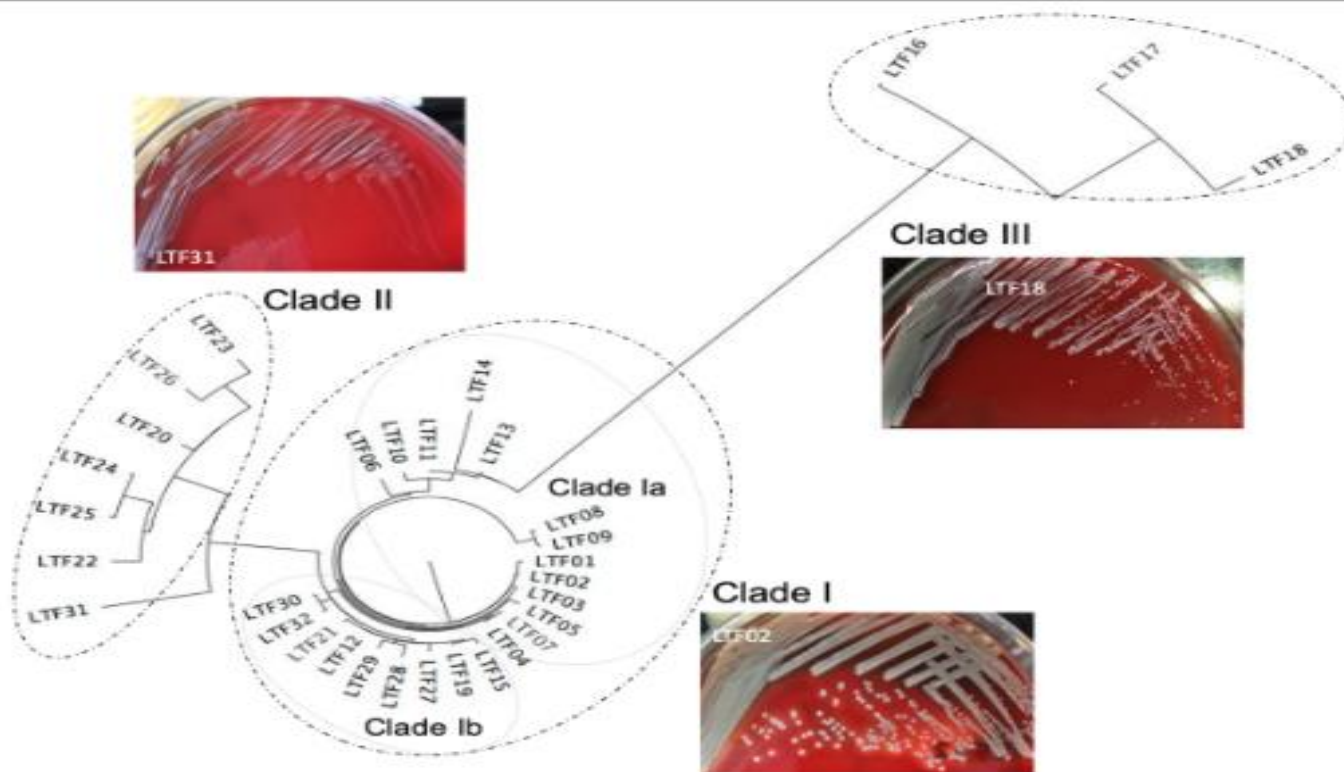
Τα εμπεδωμένα στην βιομεμβράνη βακτήρια μπορούν να είναι ανθεκτικά ακόμα και υψηλές συγκεντρώσεις βακτηριοκτόνων αντιβιοτικών, ευαίσθητων *in vitro* σε πλακτωνικά στελέχη!!



# Διαδοχικά στελέχη *S.aureus* επί εμμένουσας βακτηριαιμίας

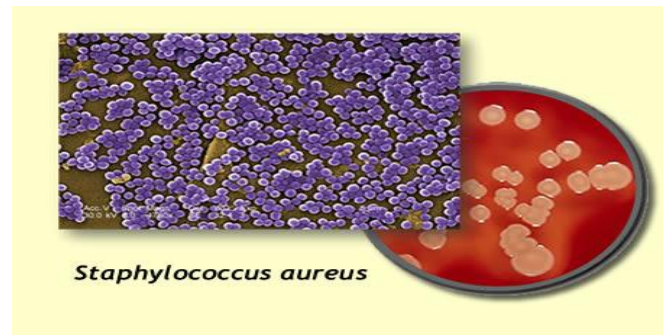
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b> Ευαισθησίες ( MIC mg/l)	<b>MRSA 1</b>		<b>MRSA 2</b>	
Oxacillin	> 2	R	>2	R
Rifampicin	0.5	S	0.5	S
Gentamicin	4	S	>8	R
Levofloxacin	>4	R	>4	R
Fusidic acid	>32	R	>32	R
Cotrimoxazole	<2/38	S	<2/38	S
Clindamycin	>2	R	>2	R
Minocycline	-		4	S
Linezolid	2	S	2	S
Vancomycin	1	S	2	S
Daptomycin	0.25	S	1	S
Teicoplanin	1	S	2	S
Mupirocin	>2	R	> 2	R

- Φυλογενετική ανάλυση και καλλιέργεια διαδοχικών στελεχών MRSA από ασθενή με εμμένουσα βακτηριαιμία. Ανάπτυξη αντοχής σε χορηγούμενα αντιβιοτικά! *Chen et al Front Microbiol 2020*



**FIGURE 2 |** Core genome based phylogenetic analysis of 32 ST5 MRSA strains from a patient with persistent bacteremia. The successive bacteremic strains were belonged to three major genetic clades with two subclades, Ia and Ib, in Clade I. The bacterial colonies of representative strains on blood agar plates were shown for each clade. The colonies of Clade II strains were at significantly smaller size and whiter color when compared to the strains of Clade I.

# Staphylococcus aureus



## Κλινική έκφραση

- Πυογόνος, τοξινογόνος
- 20-40% αποικισμός υγιών.
- Επιπολής (δέρμα, μαλακά μόρια)
- Εν τω βάθει (αποστήματα)
- Κοινότητα (CA), Νοσοκομείο (HCA)
- 1<sup>ο</sup> αίτιο βακτηριαμίας
- Ενδοκαρδίτιδα, οστεομυελίτιδα
- TSST-1, Σήψη
- Λοιμώξεις εμφυτευμάτων
- Αντοχή! MRSA. Επίσης, CLINDA, SMP/TMX, FQ, RIFA, FA

## Ιδιότητες παθογόνου

- Gram +, κοαγκουλάση κόκκος
- Παραγωγή exfoliating toxin ETA/ETB, endotoxin B,C
- MGES ( multiple mobile genetic –exogenous-elements)
- SNPs
- SCC *mec* cassette
- Small colony variants ( SCV)
- Clonal complex (CC)
- Gram staining
- Conventional cultures
- Rapid molecular detection

Table 1 | Selected major genomic elements in Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Category	Gene name	Gene product	Function	Location
Antibiotic resistance	<i>aacA-aphD</i>	Bifunctional AAC-APH protein	Aminoglycoside resistance	Transposon
	<i>aacD</i>	Aminoglycoside acetyltransferase	Aminoglycoside resistance	Plasmid
	<i>ant(4)</i>	D-nucleotidyltransferase(4)	Aminoglycoside resistance	= SCCmec; = Plasmid
	<i>ant(8)</i>	D-nucleotidyltransferase(8)	Aminoglycoside resistance	Transposon
	<i>blaZ</i>	$\beta$ -Lactamase	Penicillin resistance	= Plasmid = Transposon
	<i>bleB</i>	Bleomycin binding protein	Bleomycin resistance	= SCCmec; = Plasmid
	<i>cat</i>	Chloramphenicol acetyltransferase	Chloramphenicol resistance	Plasmid
	<i>dfrA</i> and <i>dfrK</i>	Dihydrofolate reductase	Trimethoprim resistance	Plasmid
	<i>ermA</i>	rRNA methylase	Macrolide resistance	Transposon
	<i>ermC</i>	rRNA methylase	Macrolide, lincosamide and streptogramin resistance	Plasmid
	<i>hly5</i>	Isoleucyl-tRNA synthetase	Mupirocin resistance	Plasmid
	<i>mecA</i>	Penicillin-binding protein 2	Methicillin resistance	SCCmec
	<i>tetK</i>	Tetracycline resistance protein	Tetracycline resistance	Plasmid
	<i>tetM</i>	Tetracycline resistance protein	Tetracycline resistance	Transposon
	Antiseptic or heavy metal resistance	<i>arnBC</i>	Efflux ATPase	Heavy metal resistance
<i>cadA</i> and <i>cadB</i>		Cadmium efflux ATPase	Heavy metal resistance	Plasmid
<i>qacA</i>		Antiseptic resistance protein qacA	Antiseptic efflux pump	Plasmid
<i>merA</i> and <i>merB</i>		Mercuric reductase	Heavy metal resistance	Transposon
Virulence factors*	<i>aur</i>	Aureolysin	Tissue destruction	Core
	<i>capA</i> and <i>capP</i>	Capsular polysaccharide biosynthesis proteins	Immune evasion	Core
	<i>chp</i>	Chemotaxis inhibitory protein	Immune evasion	Bacteriophage
	<i>cjA</i> and <i>cjB</i>	Fibrinogen binding proteins	Adhesion	Core
	<i>coa</i>	Staphylocoagulase	Coagulation	Core
	<i>ebsA</i> and <i>ebsB</i>	Extracellular matrix-binding proteins	Adhesion	Core
	<i>etA</i>	Exfoliative toxin A	Scalded skin syndrome	Plasmid
	<i>etB</i>	Exfoliative toxin B	Scalded skin syndrome	Bacteriophage
	<i>etD</i>	Exfoliative toxin D	Scalded skin syndrome	vSAy
	<i>gel</i>	Lipase	Lipid degradation	Core
	<i>hly</i>	$\alpha$ -Haemolysin	Haemolysis	Core
	<i>hlyA</i> , <i>hlyB</i> and <i>hlyC</i>	$\gamma$ -Haemolysin components	Haemolysis	Core
	<i>hyaA</i>	Hyaluronidase	Tissue invasion	vSaj
	<i>leuD</i> and <i>leuE</i>	Leukotoxins	Immune evasion	SAPI
	<i>leuS-PV</i> and <i>leuF-PV</i>	Panton-Valentine leukocidin	Leukotoxin	Bacteriophage
	<i>slt</i>	Staphylokinase (protease III)	Clot dissolution	Bacteriophage
	<i>sea</i>	Enterotoxin A superantigen	Food poisoning	Bacteriophage
	<i>seb</i> and <i>sec</i>	Enterotoxin B and enterotoxin C (superantigens)	Food poisoning	SAPI
	<i>seq2</i> and <i>seq3</i>	Enterotoxin and superantigen	Food poisoning	SAPI
	<i>sef</i>	Enterotoxin F	Food poisoning	Bacteriophage
	<i>spe</i>	Immunoglobulin G-binding protein A	Immune evasion	Core
	<i>spa</i>	Serine protease	Tissue destruction	Core
	<i>spB</i>	Cysteine protease	Tissue destruction	Core
<i>tst</i>	Toxic shock syndrome toxin 1	Superantigen	SAPI	

List compiled from RICE, rRNA, ribosomal RNA; SAPI, *Staphylococcus aureus* pathogenicity island. \*Not a comprehensive list.

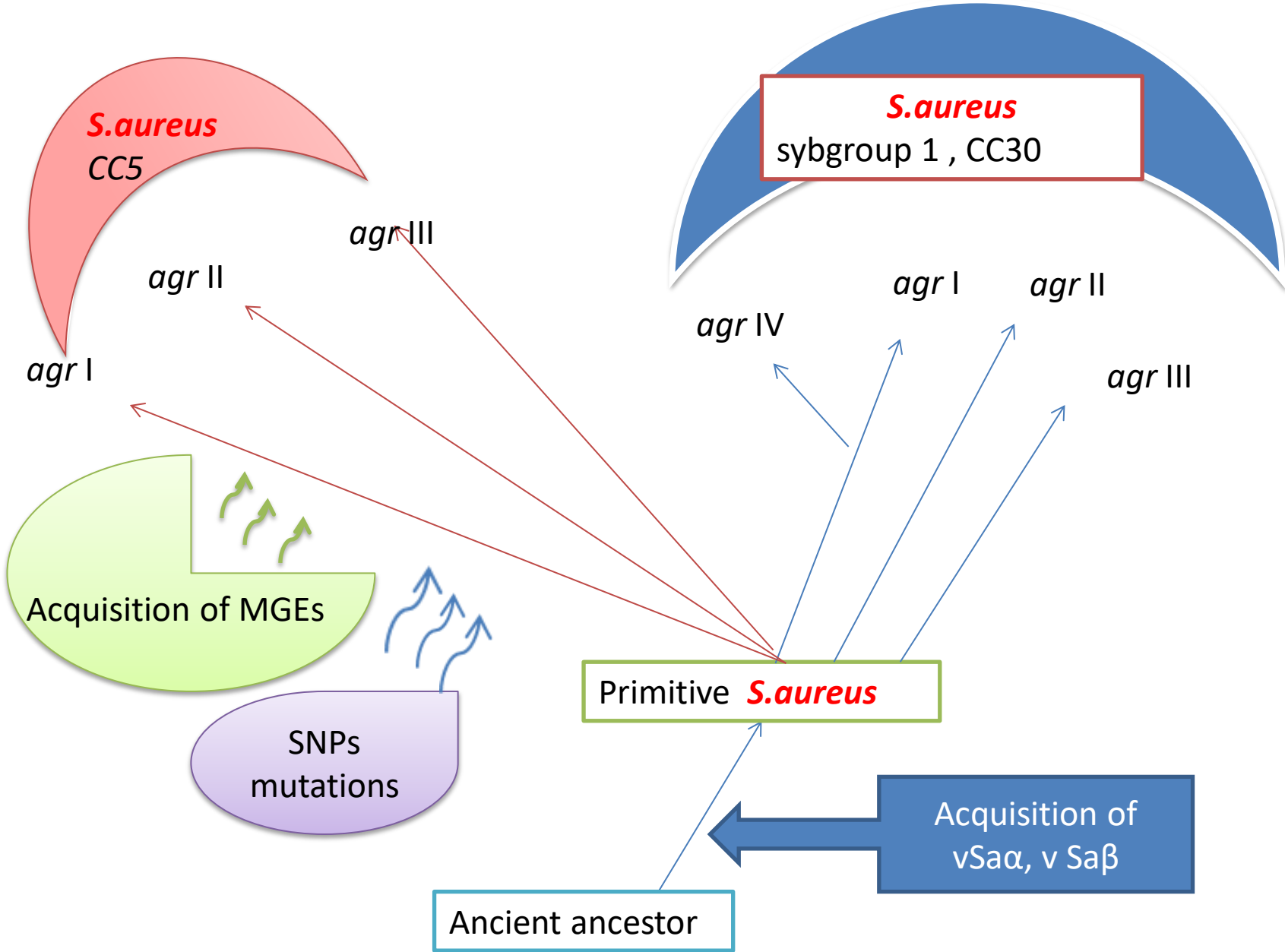
Vance Fowler Jr,  
Nature Reviews Microbiology, 2019

***S. aureus***  
**Core**= Mobile Genetic  
Elements (MGEs)



- Pathogenicity islands
- Bacteriophages
- Chromosomal cassettes
- Transposons
- Plasmids

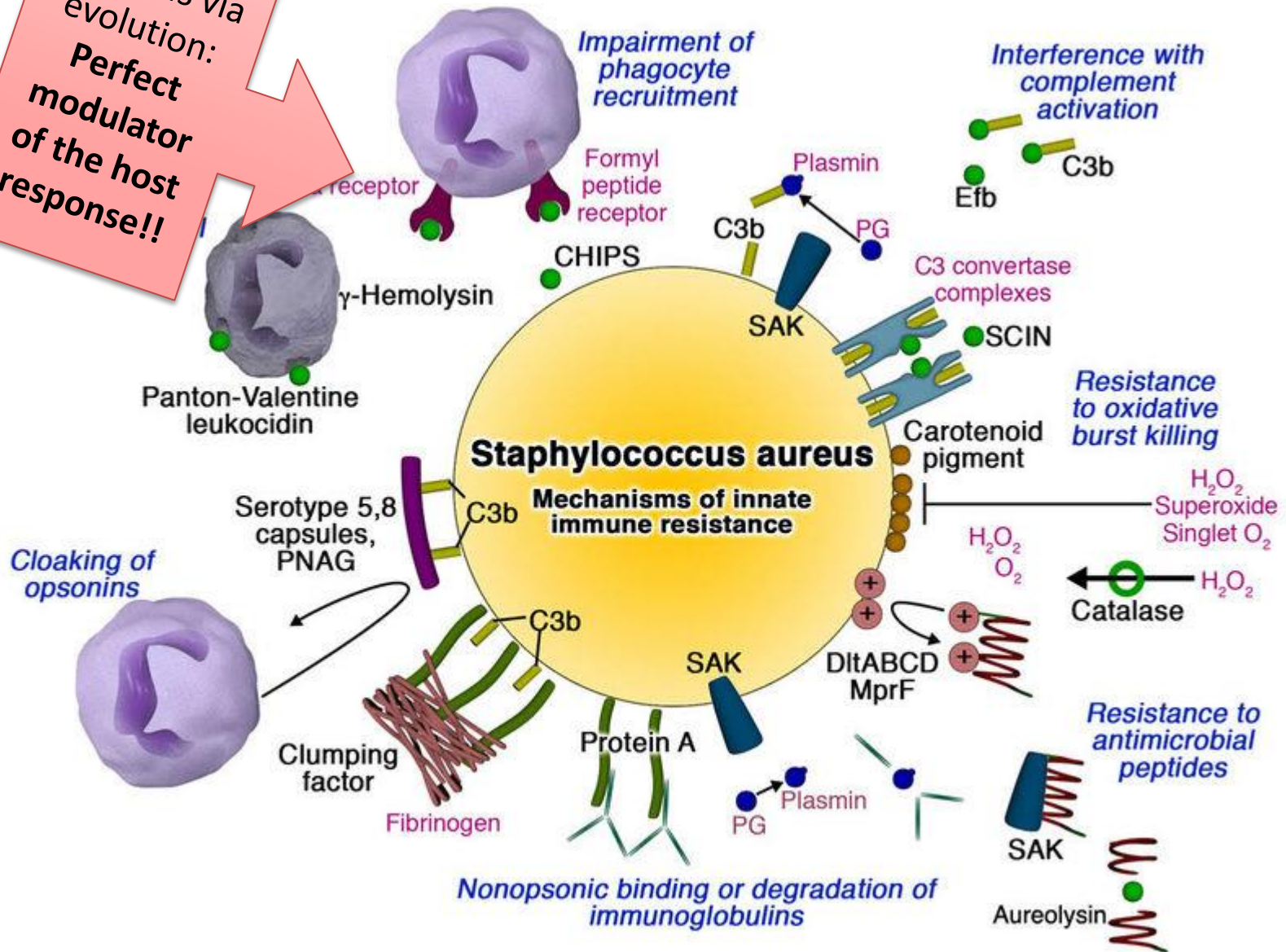
Horizontal  
transmission  
between strains



Adapted from FEMS Microbiol Rev 2008;32:23-37  
8<sup>th</sup> Mandell eds 2015

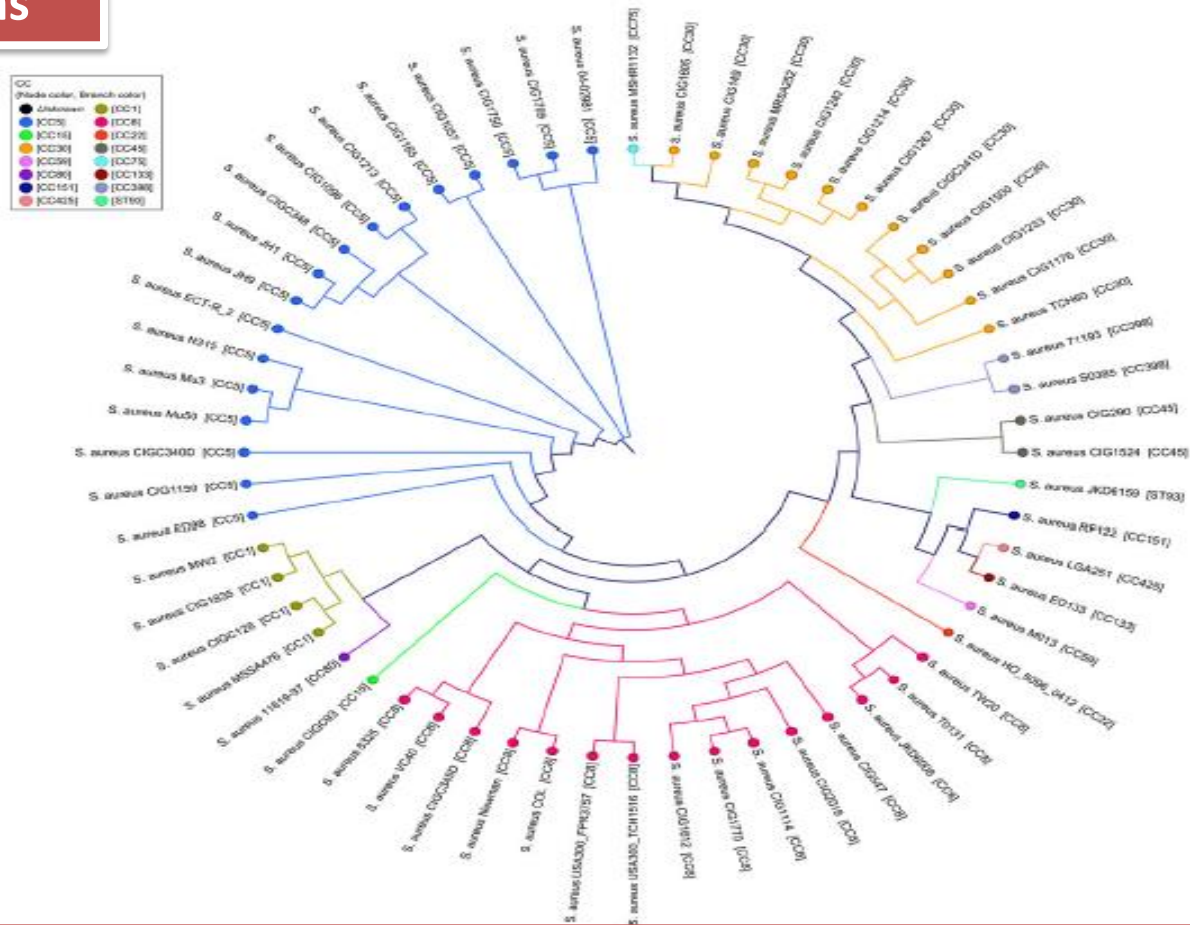
# Staphylococcus aureus

*S. aureus* via evolution: Perfect modulator of the host response!!



# ....And Pathogen's Single Nucleotide Polymorphisms

Sharma-Kuinkel, Open forum Infectious Diseases 2014



CC<sub>30</sub> analysis of *S.aureus* transcriptome revealed 25 unique proteins; among them **SNPs for protein A agrC** and **SNPs partly explaining persistent infection into tissue (bone & valves )**

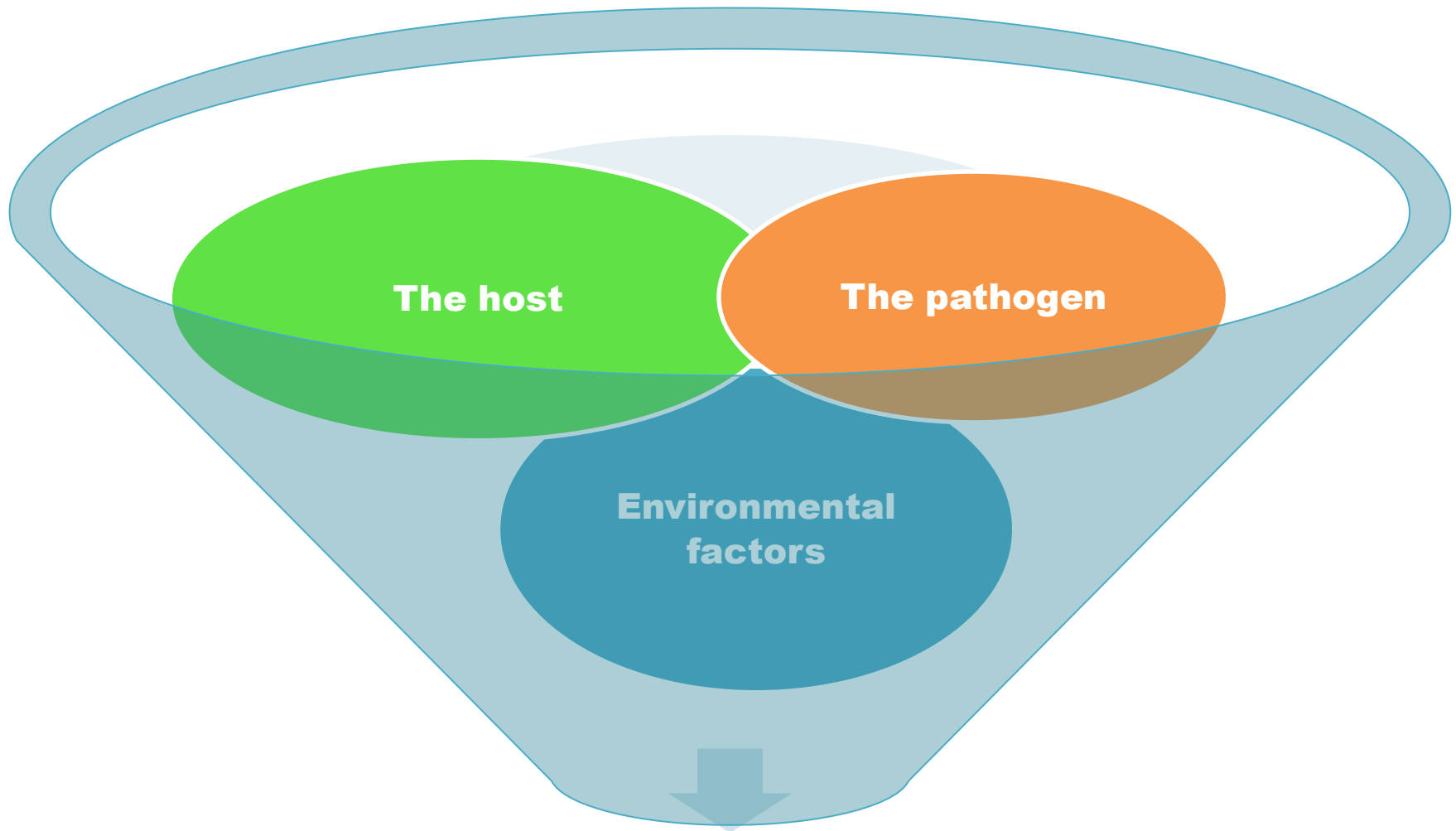
# From genotype to phenotype: can systems biology be used to predict *Staphylococcus aureus* virulence?

*Nicholas K. Priest, Justine K. Rudkin, Edward J. Feil, Jean M. H. van den Elsen, Ambrose Cheung, Sharon J. Peacock, Maisem Laabei, David A. Lucks, Mario Recker and Ruth C. Massey*

## Box 1 | A framework for using systems biology to predict bacterial virulence

- Define the phenotypes that differentiate virulent and avirulent strains.
- Characterize how the relevant phenotypes are encoded, using expression arrays to construct models of the gene-regulatory networks and process diagrams that are informed by the underlying genetics.
- Develop models that predict the gene combinations leading to specific virulence phenotypes.
- Test and refine the model with sets of strains that are independent from those used to build the model.





**Clinically relevant infection**

# Περίπτωση ασθενούς

- Την 13<sup>η</sup> ημέρα μετά την επέμβαση και ενώ ο ασθενής ελάμβανε αντιβιοτικά και ήτνα κλινιοεργαστηριακά βελτιωμένος, εμφανίζει εμπύρετο ως 38,3°C χωρίς εμφανή εστία λοίμωξης.




- Καλλιέργειες αίματος από Κεντρικό φλεβικό καθετήρα



- ***Staphylococcus epidermidis* MRSE**

- ??

# Περίπτωση ασθενούς

- Αιμοκαλλιέργεια θετική από *Staphylococcus epidermidis*
- Αληθώς παθογόνο ή επιμόλυνση;;;
- **Λαμβάνουμε πάντα >1 σετ αιμοκαλλιιεργειών!!**
- **Η αύξηση του αριθμού των θετικών αιμοκαλλιιεργειών ΕΝΤΟΣ 24ωρου στο σύνολο των καλλιιεργειών που ελήφθησαν**  

- 2/2 θετικές, PPV 98%
- 2/3 θετικές , PPV 90%

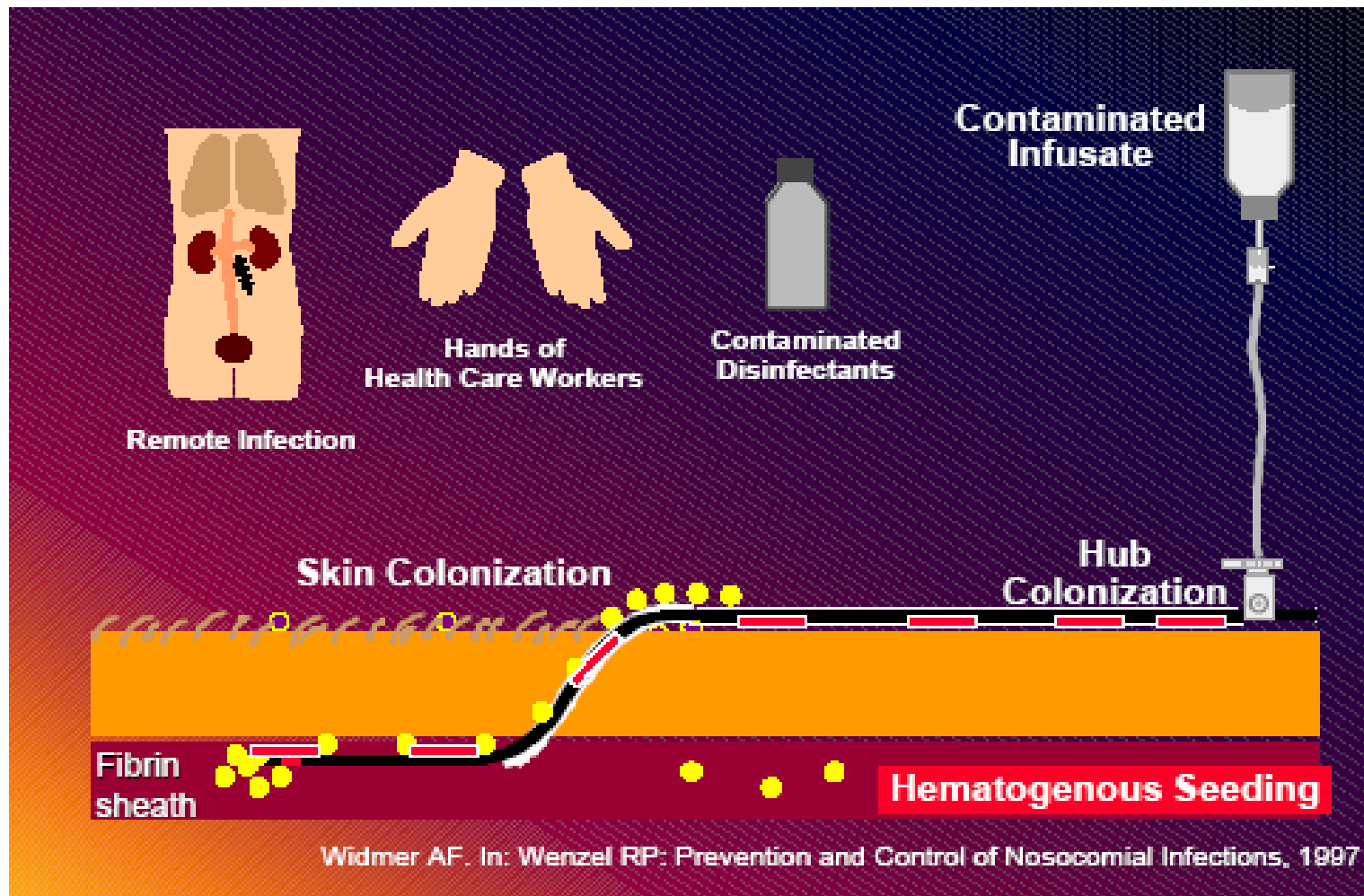
# Βακτηραιμία ΚΦΚ

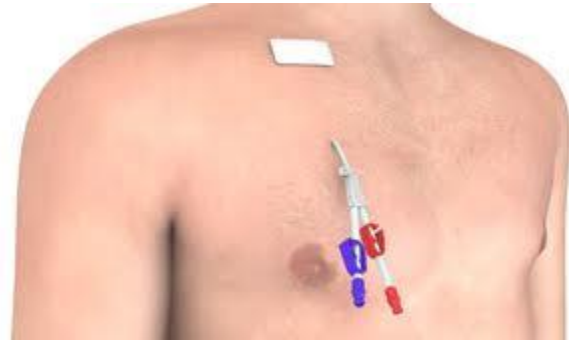
## Ανασκόπηση

- Κλινικής κατάστασης ασθενούς
- Υπαρξης ΚΦΚ
- Πρωτόκολλα διαχείρισης ΚΦΚ
- Υπαρξη εμφυτεύματος!
- Πρωτόκολλα λήψης αιμοκαλλιέργειας
- Για να τεκμηριωθεί βακτηραιμία αποδιδόμενη στον κεντρικό φλεβοκαθετήρα (CLABSI), χρειάζονται δύο θετικές αιμοκαλλιέργειες με το ίδιο παθογόνο που να έχουν ληφθεί ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΑ από την ΚΦΚ και την περιφερική φλέβα (γρηγορότερα θετικοποιείται η πρώτη-time to positivity)



# Ελεγχος-πρόληψη λοιμώξεων ΚΦΚ





Πρόληψη λοιμώξεων

**STOP  
NOSOCOMIAL  
INFECTIONS**

*Always wash  
your hands or  
use an alcohol-  
based hand  
sanitizer  
before and  
after touching  
a patient.*



## Access-related BSI

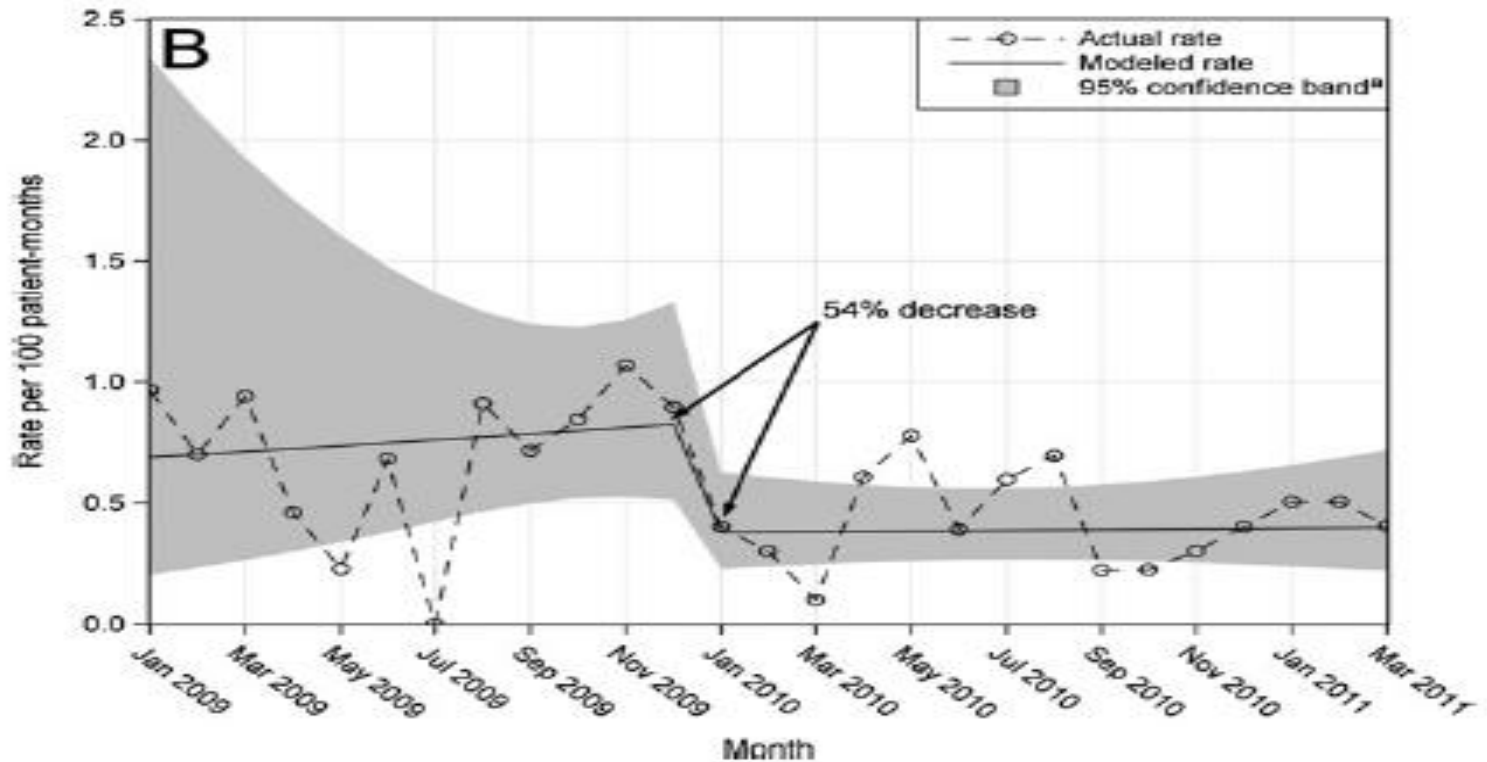
OR (CI95%)

2009

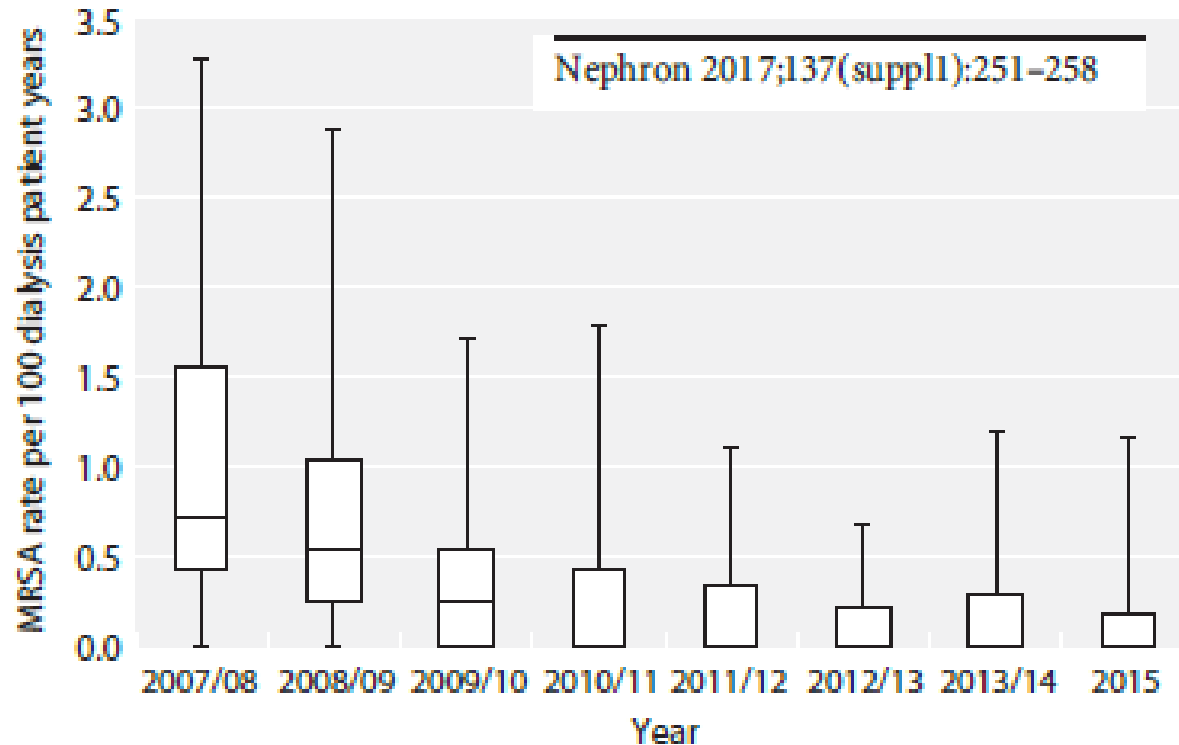
2.46 (1.43-3.94)

2011

1.30 (0.60-2.48)



# Implementation of a bundle of measures aiming to reduce/eliminate MRSA, NHS-UK Results from Renal Registry



**Fig. 10.1.** Box and whisker plot of MRSA rates by renal centre per 100 dialysis patient years, by reporting year

# Εν κατακλείδι

## Ασθενής με Gram + βακτηριαιμία

- Σηπτικός vs όχι
- Αληθώς παθογόνο vs επιμόλυνση
- Υπαρξη εμφυτεύματος ή ΚΦΚ
- Έλεγχος εστίας λοίμωξης(πρωτοπαθής-μεταστατική)  
“source control”
- Αγωγή βάσει αντιβιογράμματος (MIC) και  
φαρμακοδυναμικών ιδιοτήτων
- Διάρκεια αγωγής ανάλογα με την εστία λοίμωξης
- Λήψη αιμοκαλλιεργείων υπό αγωγή- προσοχή σε  
εμμένουσα βακτηριαιμία!



Mr  
Staphylococcus.....

