



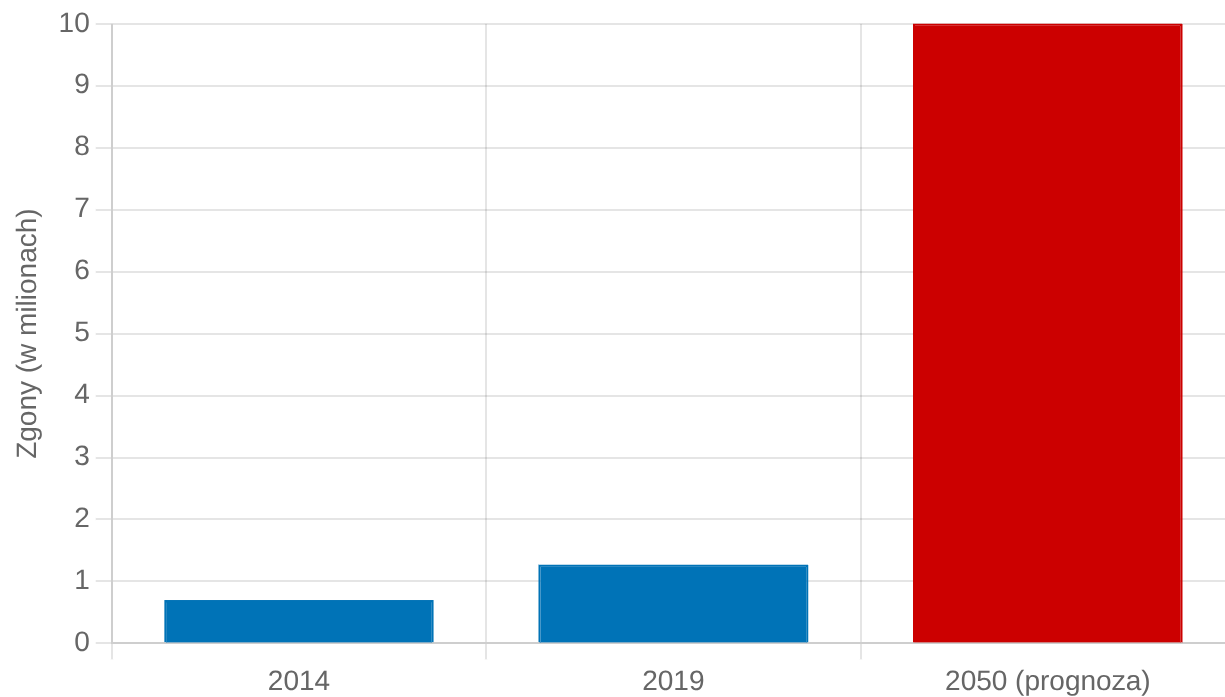
Od próbki do mapy mikrobiologicznej: integracja danych, typowanie szczepów, wdrażanie zaleceń w nadzorze CPE

Aldona Olechowska-Jarząb

Zakład Mikrobiologii

Szpital Uniwersytecki

Globalny problem antybiotykooporności



Źródło: The Lancet 2022; AMR Review 2014



1,27 mln

zgonów w 2019 r. bezpośrednio przypisanych przypisanych AMR (The Lancet 2022)



10 mln

zgonów/rok do 2050 r. (AMR Review, O'Neill O'Neill 2014)



AMR już dziś przewyższa HIV/AIDS & malarię malarię łącznie (WHO 2019)

Prognozy demograficzne zgonów AMR

Projekcja zgonów do 2050 (mln/rok):

2024

1.3 mln

2030

2.4 mln

2040

6.1 mln

2050

10.0 mln

Stan rozwoju nowych antybiotyków

Zatwierdzenia FDA

2000-2010 ● **16** leków

2010-2020 ● **12** leków

2020-2024 ● **8** leków

Źródło: FDA approvals – Shi 2023, Zevtera 2024

Parametry ekonomiczne

\$ Średni koszt rozwoju **1,5 mld USD**

🕒 Czas **15-20 lat**

📈 Prawdopodobieństwo sukcesu **5-10%**

📉 Średnia ROI **-50% do -80%**

Źródło: Anderson 2023 (Nat Rev Drug Disc)



WHO Pipeline 2024: tylko 32 kandydaty, z czego 12 innowacyjnych

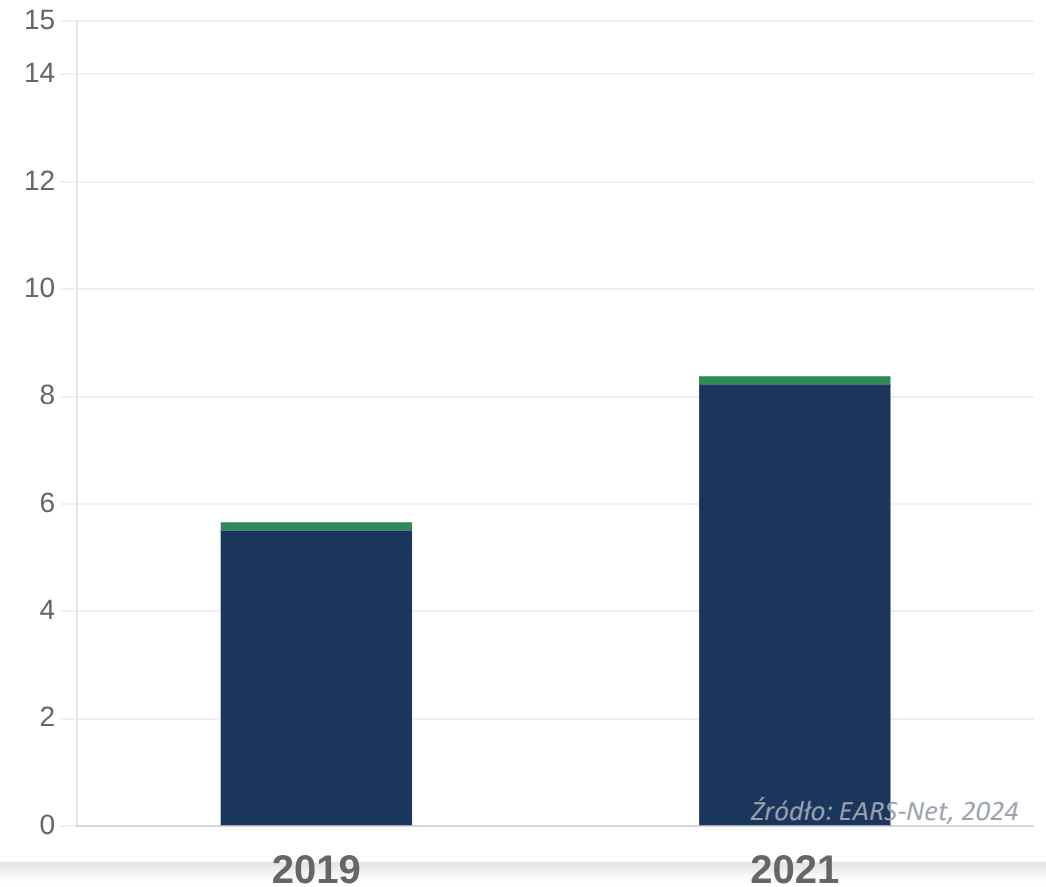
Dlaczego CPE jest problemem?

- 🦠 Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae
- ⚠️ Oporność na antybiotyki ostatniej szansy
- 📈 Gwałtowny wzrost w regionie UE/EEA
- 👤 Wysoka śmiertelność i potencjał epidemiczny

Skutki kliniczne i ekonomiczne

- 🏥 Wydłużony czas hospitalizacji
- 🏥 Zwiększona śmiertelność
- 💰 Wzrost kosztów terapii o 10-40%

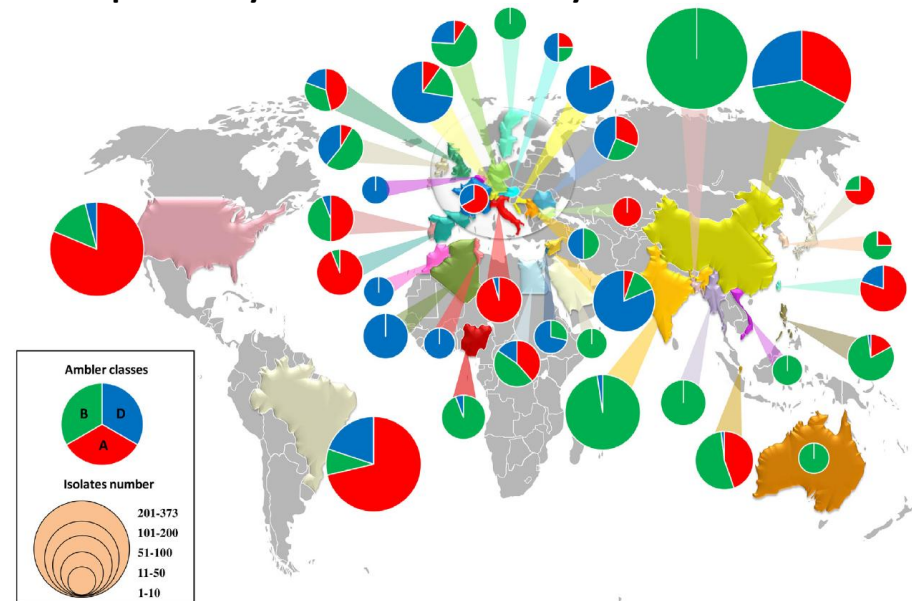
Trend CRKP w UE/EEA (2019 vs 2021)



Szczepy CPE w środowisku szpitalnym i pozaszpitalnym

- Środowisko szpitalne – najważniejsze problemy:
 - Transmisja CPE między: pacjentami, personelem i wyposażeniem oddziałów (powierzchnie, toalety)
 - Ogniska epidemiologiczne
 - Wzrastający odsetek nosicielstwa → dlaczego?
- Środowisko pozaszpitalne:
 - Niskie wymagania wzrostowe, łatwość transmisji
 - Zbiorniki wodne i ścieki rezerwuarem CPE
 - Hodowla zwierząt oraz przemysł spożywczy
 - Aglomeracje miejskie – toalety, odpływy, powierzchnie dotykowe

Karbapenemazy w zbiornikach wodnych



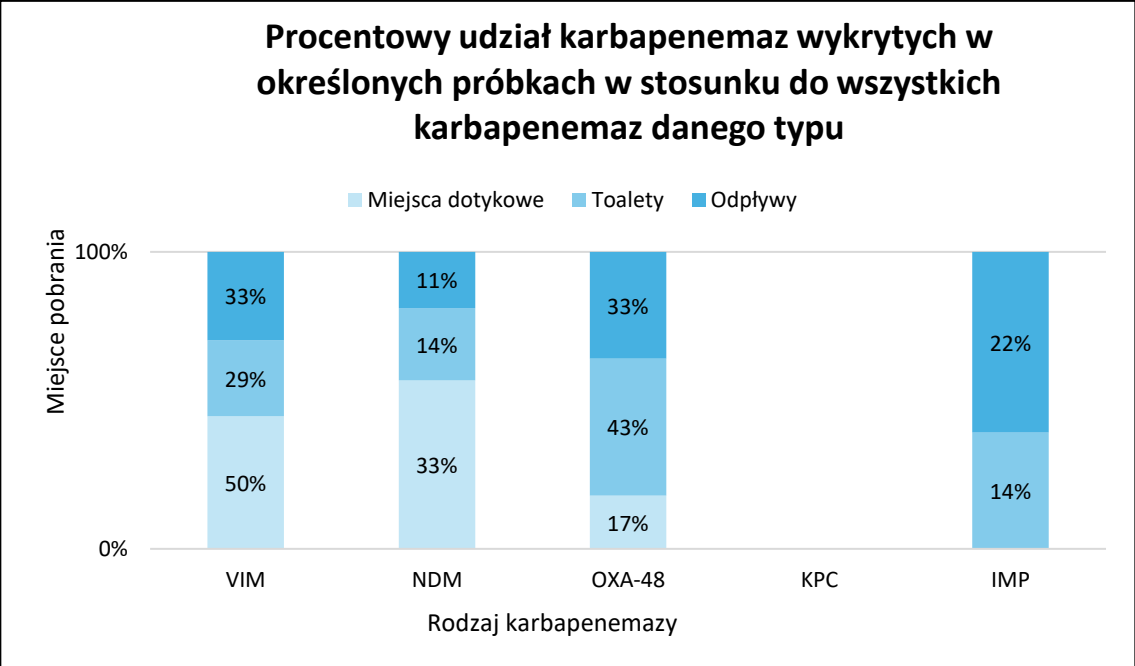
Źródło: Cheraik Z., et al.: Carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in aquatic environments: a review. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2021; 25: 287-309.

1. Wykaz liczby wszystkich próbek oraz liczby próbek dodatnich, uwzględniający udział pozytywnych wyników wśród określonych rodzajach próbek oraz wśród wszystkich materiałów.

MP	LP	LP (+)	% (+)	% (+) C
Miejsca dotykowe	26	5	19,2	6,3
Toalety	39	5	12,8	6,3
Odpiływy	15	6	40	7,5
łącznie	80	16	20	20

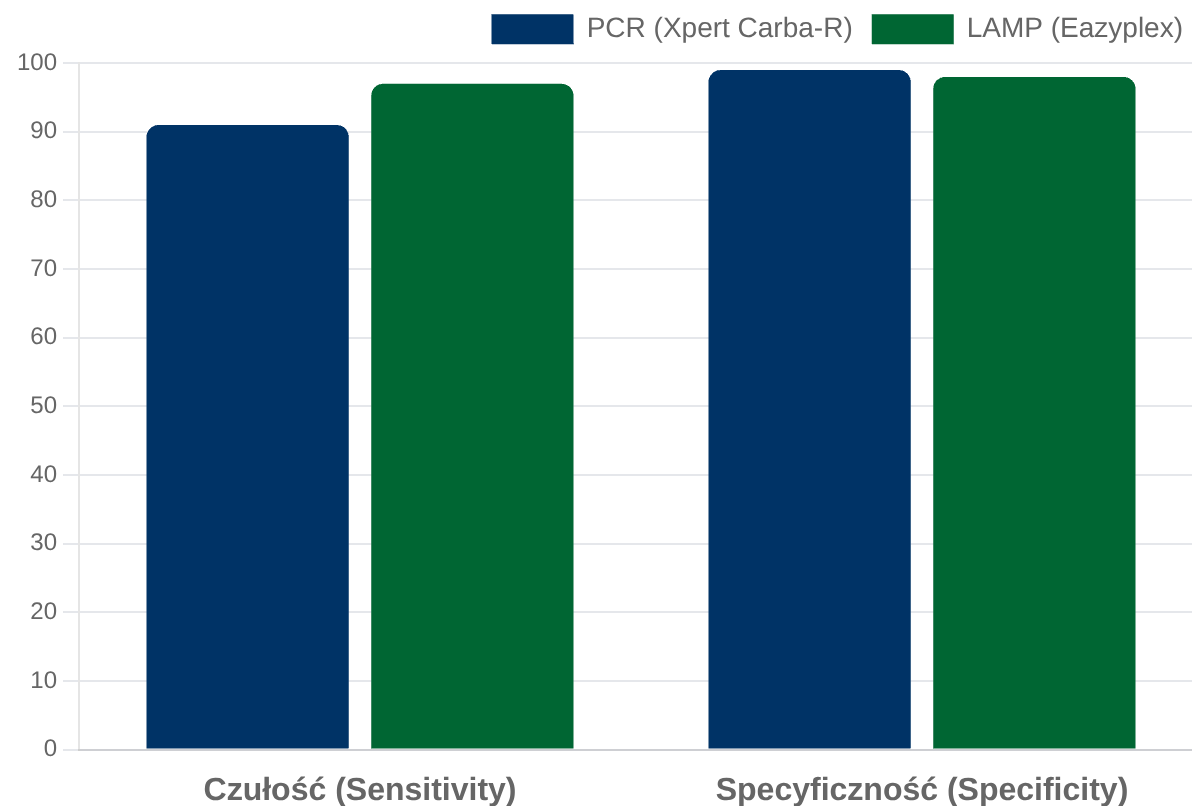
2. Wykaz liczby wykrytych karbapenemaz, uwzględniający udział poszczególnych rodzajów karbapenemaz wykrytych w określonych rodzajach próbek.

MP	LK	Wykryte karbapenemazy									
		VIM		NDM		OXA-48		KPC		IMP	
		L	%	L	%	L	%	L	%	L	%
Miejsca dotykowe	6	3	50	2	33	1	17	0	0	0	0
Toalety	7	2	29	1	14	3	43	0	0	1	14
Odpiływy	9	3	33	1	11	3	33	0	0	2	22
łącznie	22	8	36	4	18	7	32	0	0	3	14



Szybkie testy molekularne vs. hodowla i ocena nosicielstwa

Porównanie parametrów diagnostycznych (%)



RT-PCR

Meta-analiza (n=10,807)

99% Specyficzność

Wysoka wiarygodność wykluczenia, standard referencyjny w szybkiej diagnostyce.

LAMP

Sękowska 2022 (n=302)

97% Czułość

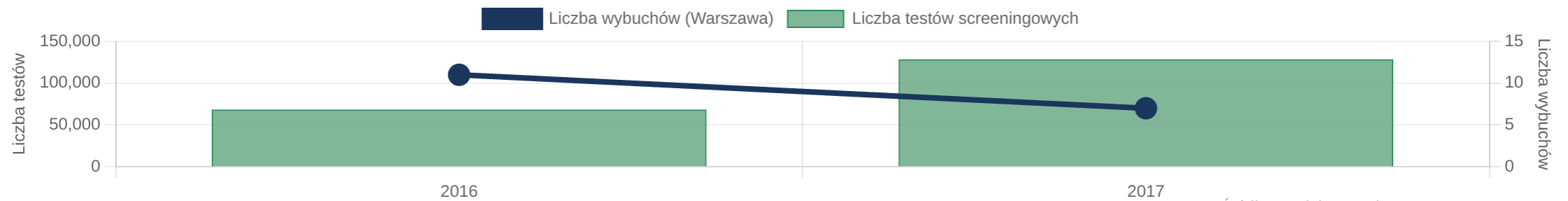
Szybszy czas uzyskania wyniku (<30 min), idealny do screeningu przy przyjęciu.

Źródła: PMC11399503; MDPI Antibiotics 11(2):138, 2022

Czy testowanie działa?

Liczba testów
+88%

Liczba ognisk
-36%



Źródło: Pawlak M et al., 2022, PMC9072043

Zarządzanie polityką antybiotykową

„Mapa mikrobiologiczna to ustrukturyzowane zestawienie danych o lokalnej lekowrażliwości drobnoustrojów na antybiotyki, służące optymalizacji empirycznej antybiotykoterapii w danym środowisku medycznym.”

🎯 Cel mapy

- ✓ Dostosowanie terapii do lokalnej sytuacji epidemiologicznej
- ✓ Optymalizacja doboru empirycznej antybiotykoterapii
- ✓ Zmniejszenie presji selekcyjnej na drobnoustroje drobnoustroje

⚠️ Zastrzeżenia

- ⚠️ Nie zastępuje oceny klinicznej
- ⚠️ Wymaga regularnych aktualizacji
- ⚠️ Zależna od jakości i ilości badanych próbek

Standardy i Wytyczne



European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

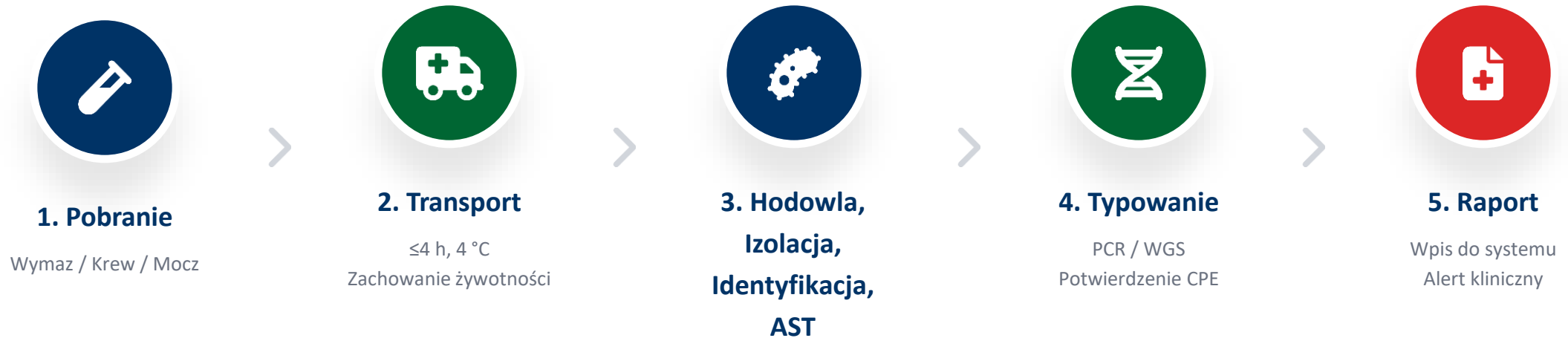
- ✓ Europejski standard interpretacji wyników lekowrażliwości
- ✓ Aktualizowane corocznie wartości graniczne (breakpoints)
- ✓ Uzgodnione zalecenia metodologiczne



Clinical & Laboratory Standards Institute

- ✓ Amerykański standard interpretacji antybiogramów
- ✓ Dokument M39 – wytyczne do tworzenia map tworzenia map mikrobiologicznych
- ✓ Kompleksowe standardy metodyczne i interpretacyjne

Od próbki do danych – Workflow



Krytyczny punkt: Czas od pobrania do raportu determinuje skuteczność izolacji pacjenta.



Źródła danych

- Materiały kliniczne
- Dokumentacja a pacjentów



Gromadzenie

- System LIS
- Dedykowana baza danych
- Gromadzenie ciągłe
- Sortowanie wg. pojedynczych izolatów



Wizualizacja




- Tabele
- Heatmapy
- Wykresy trendu
- Wnioski

- 1 Wybór okresu analizy (zwykle 12 miesięcy) – zależny od ilości badań mikrobiologicznych
- 2 Ustalenie kryteriów włączenia/wyłączenia próbek
- 3 **Pierwsza izolacja danego gatunku od pacjenta** w analizowanym okresie
- 4 Eliminacja duplikatów - powtarzające się wyniki z badań kontrolnych
- 5 Statystyczne opracowanie danych zgromadzonych w LIS





Minimalne wymagania

- ✓ Minimalna liczba izolacji: ≥ 30 dla danego gatunku
- ✓ Okres zbierania danych: zwykle 12 miesięcy
- ✓ Źródło danych: rutynowe badania mikrobiologiczne

Stratyfikacja danych


-  Według lokalizacji (oddział, klinika)
-  Według typu próbki (krew, mocz, itd.)
-  Według populacji pacjentów


Metody analizy

-  Procent wrażliwości
Podstawowy wskaźnik dla każdej kombinacji drobnoustrój-antybiotyk
-  95% przedział ufności
Określa wiarygodność wyniku przy małej liczbie izolatów
-  Test χ^2 trendu
Analiza istotności statystycznej zmian w czasie
-  Wykluczenie małych próbek
Dane z $n < 30$ izolatów traktowane jako niepewne statystycznie

Mapowanie do celów terapeutycznych – skumulowany antybiogram

Kodowanie kolorami – progi decyzyjne


 ≥90% - Wysoka wrażliwość

 70-89% - Średnia wrażliwość

 <70% - Niska wrażliwość

Rekomendacje CLSI M39

 Układ tabelaryczny: drobnoustroje × antybiotyki

 Podawanie liczby izolatów (n) dla każdego gatunku gatunku

 Ukrywanie wyników dla <30 izolatów

Urinary isolate antibiogram

Includes isolates from urine cultures. Note the differential sampling periods for Gram negative isolates below. The #strains column indicates an annualised number. Actual tested strain numbers against specific antibiotics are indicated under each cell.





Organism group	# strains (annualised)	% total	Unrestricted antibiotics						Restricted antibiotics		
			Ampicillin	Amoxicillin+clavulanate	Cefazolin / cephalixin	Gentamicin (aminoglycoside)	Nitrofurantoin	Trimethoprim	Ceftriaxone	Piperacillin+tazobactam	Norfloxacın
All isolates	3,281	100%									
<i>Escherichia coli</i>	1,664	51%	46%	78%	57%	96%	98%	79%	97%	S	94%
			n=415	414	414	415	415	416	416		416
<i>Klebsiella</i> species	224	7%	R	89%	68%	96%	45%	84%	98%	S	95%
				55	56	56	55	56	56		56
<i>Proteus mirabilis</i>	132	4%	91%	94%	76%	100%	R	76%	100%	S	100%
			33	33	33	33		33	33		33
<i>Enterobacter</i> -like species**	304	9%	0%	11%	7%	93%	22%	74%	86%**	S	100%
			76	76	76	76	76	76	76		76
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	172	5%	R	R	R	93%	R	R	R	97%	84%
						43				38	43
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	38	1%	100%	S	S	n/a	100%	92%		S	n/a
			38				38	38			
<i>Enterococcus faecalis</i>	145	4%	98%	S	R	R	99%	R		S	R
			145				145				
Other species	785	24%									

Gram negative organism	2,712	n/a	not available - not routinely tested in this laboratory	95%	percent susceptible
Gram positive organism	569	93%	>90% of isolates susceptible	56	number of strains tested
		S	Susceptible by extrapolation		Restricted - see http://www.hnequm.com for indications.
		75%	70-89% of isolates susceptible		
		45%	<70% of isolates susceptible		
		R	Intrinsically resistant		
		**	<i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Providencia</i> , <i>Morganella</i> species.		
			Though ceftriaxone frequently tests susceptible, this agent is NOT recommended for treatment as resistance will commonly emerge during therapy.		

NB. Gram negative tested are for the quarter April -June 2014

Cele mapowania

Cele:

-  Monitorowanie epidemiologii drobnoustrojów
-  Racjonalizacja terapii empirycznej
-  Wsparcie polityki antybiotykowej
-  Wczesne wykrywanie alarmowych wzorców oporności

Optymalizacja zużycia antybiotyków

Zużycie antybiotyków przed i po wdrożeniu



Źródło: Tongde Hospital ASP, Scientific Reports 2025 (doi:10.1038/s41598-025-06622-5)



Redukcja o 26%

Zmniejszenie całkowitego zużycia antybiotyków z 42 do 31 DDDs/100 PD



Mniej MDR

Spadek częstości izolacji szczepów wielolekoopornych o 17,3%



Celowana terapia

Wzrost trafności empirycznej terapii o 41% dzięki lokalnym danym



Mniej C.diff

Redukcja zakażeń C. difficile o 22,5% dzięki racjonalnej terapii

Wyzwania, ograniczenia i przyszłość mapowania

Ograniczenia

Niewystarczająca liczba izolatów

Dla rzadszych patogenów lub małych jednostek liczba izolatów może być zbyt mała dla wiarygodnej analizy ($n < 30$)

Opóźnienie w aktualizacji

Dane historyczne mogą nie odzwierciedlać aktualnej sytuacji, szczególnie po wystąpieniu ogniska epidemicznego

Selekcja próbek

Trudności przy zebraniu danych – mała ilość badań mikrobiologicznych

Profil pacjentów

Trudności w zbieraniu danych na wybranych oddziałach

Potencjalne rozwiązania

Współpraca międzyośrodkowa

Tworzenie regionalnych map na podstawie danych z kilku mniejszych placówek o podobnym profilu

Systemy raportowania w czasie rzeczywistym

Wdrożenie narzędzi automatycznie aktualizujących dane o lekowrażliwości (dashboards online)

AI prediction

Stosowanie zaawansowanych technologii sztucznej inteligencji do analizy danych z map

Regional Networks

Holistyczne zarządzanie analizą trendów, sieć wymiany danych pomiędzy placówkami

Metody statystyczne

Stosowanie zaawansowanych modeli statystycznych (np. analiza trendów) dla małych próbek

Rola typowania w epidemiologii



Wykrywanie źródeł

Szybka identyfikacja rezerwuaru patogenów w środowisku szpitalnym.



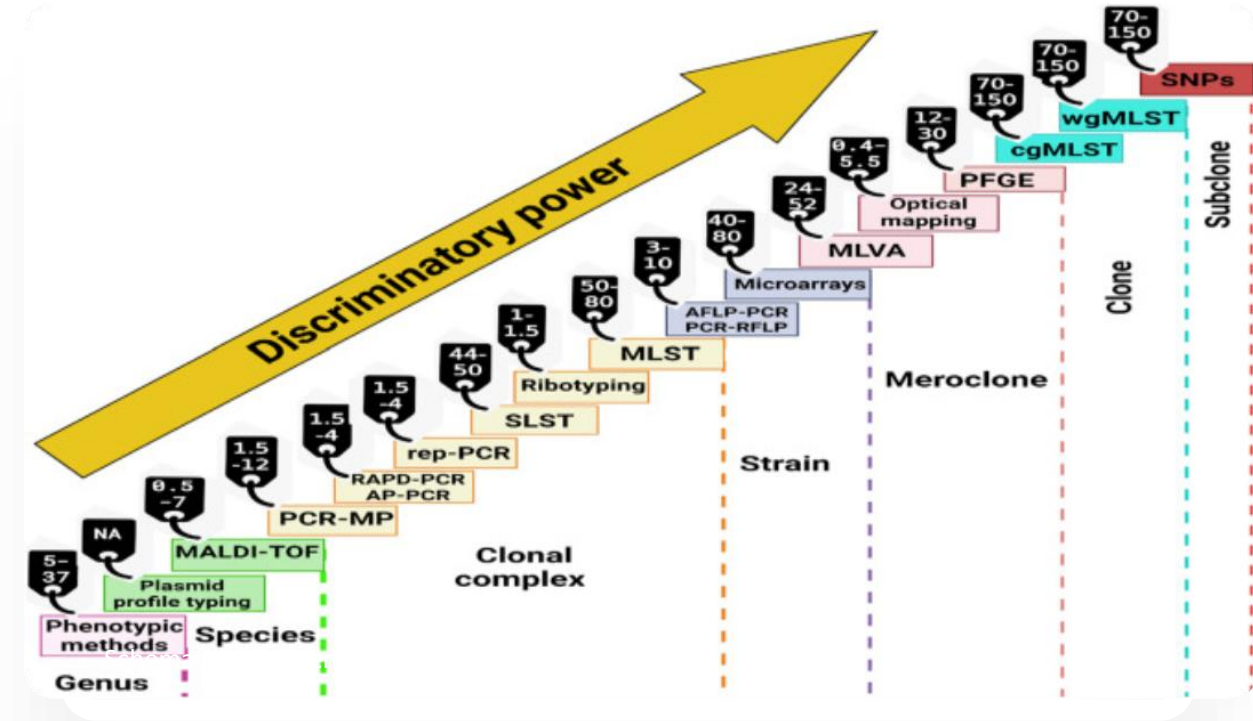
Ograniczanie ognisk

Natychmiastowa izolacja pacjentów zidentyfikowanych jako część łańcucha transmisji.



Monitoring oporności

Śledzenie rozprzestrzeniania się klonów wielolekoopornych.



Czym jest rezystom?



Zbiór wszystkich **genów oporności na antybiotyki (ARGs)** obecnych w danym środowisku

Kliniczny resystem

Geny oporności występujące u patogenów zakaźnych u ludzi

Środowiskowy resystem

Geny oporności obecne w środowisku naturalnym (np. gleba, woda, ścieki)

Komensalny resystem

Geny oporności w bakteriach niepatogennych, stanowiących rezerwuar oporności

Mobilny resystem

Geny oporności znajdujące się na mobilnych elementach genetycznych, takich jak plazmidy, transpozony czy integrony

NGS vs. WGS

1. Ekstrakcja DNA & WGS

Sekwencjonowanie całego genomu (Illumina/Nanopore).

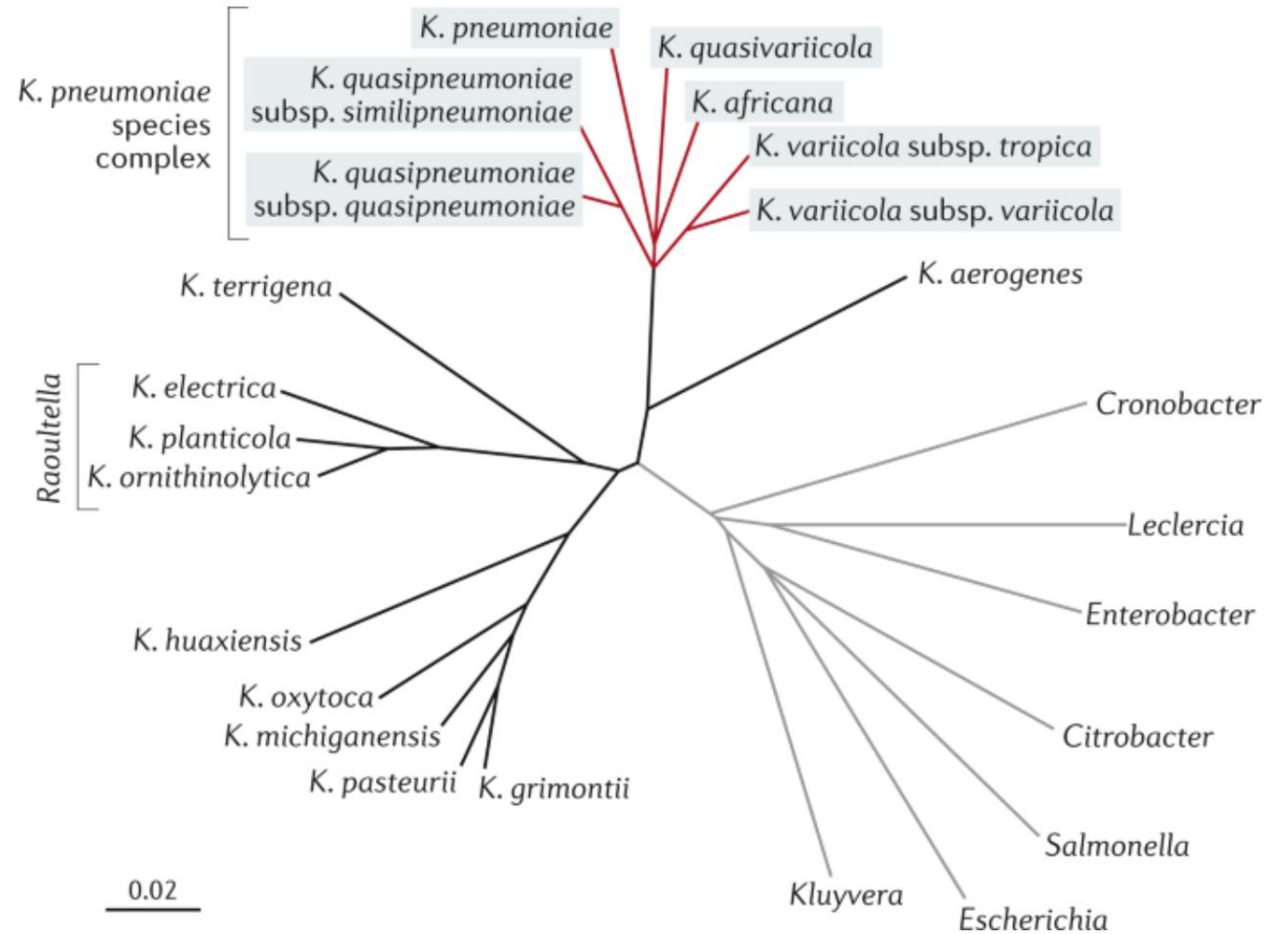
2. SNP-calling

Identyfikacja polimorfizmów pojedynczych nukleotydów,
Identyfikacja i analiza wariantów genetycznych

3. Drzewo filogenetyczne

Wizualizacja pokrewieństwa i śledzenie ścieżek transmisji.

i Analiza WGS pozwala odróżnić transmisję szpitalną od niezależnych importów z precyzją niemożliwą dla PFGE.

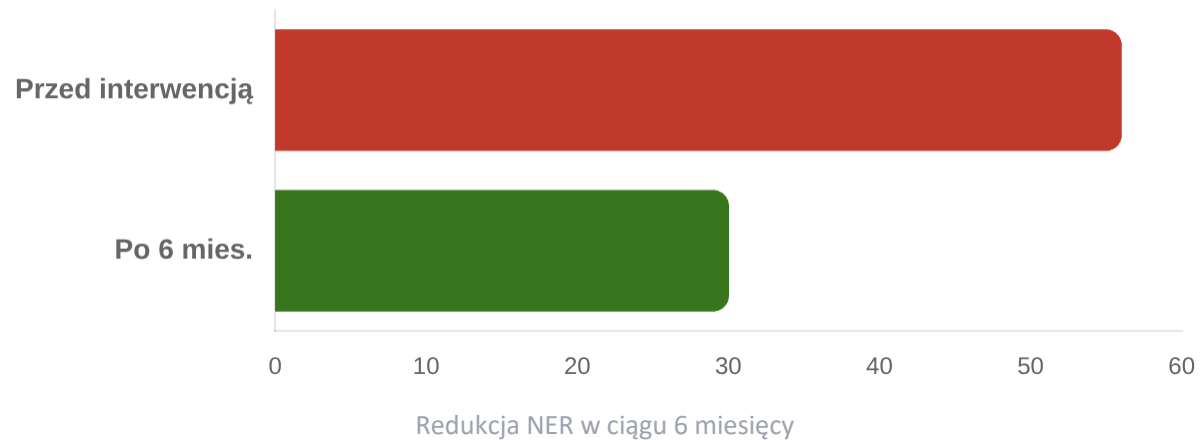


Od danych do działania

Case Study • Nature ICU 2025

Wdrożenie szybkiego WGS + metagenomiki

Dzięki identyfikacji rezerwuarów i szybkiej interwencji, udało się drastycznie zredukować odsetek szczepów opornych (NER) w oddziale.



Kluczowe Interwencje

- ✓ Ukierunkowane działania
- ✓ Dostosowana terapia celowana
- ✓ Izolacja pacjentów "high-risk"

Technologia IR BIOTYPER

Zasada działania

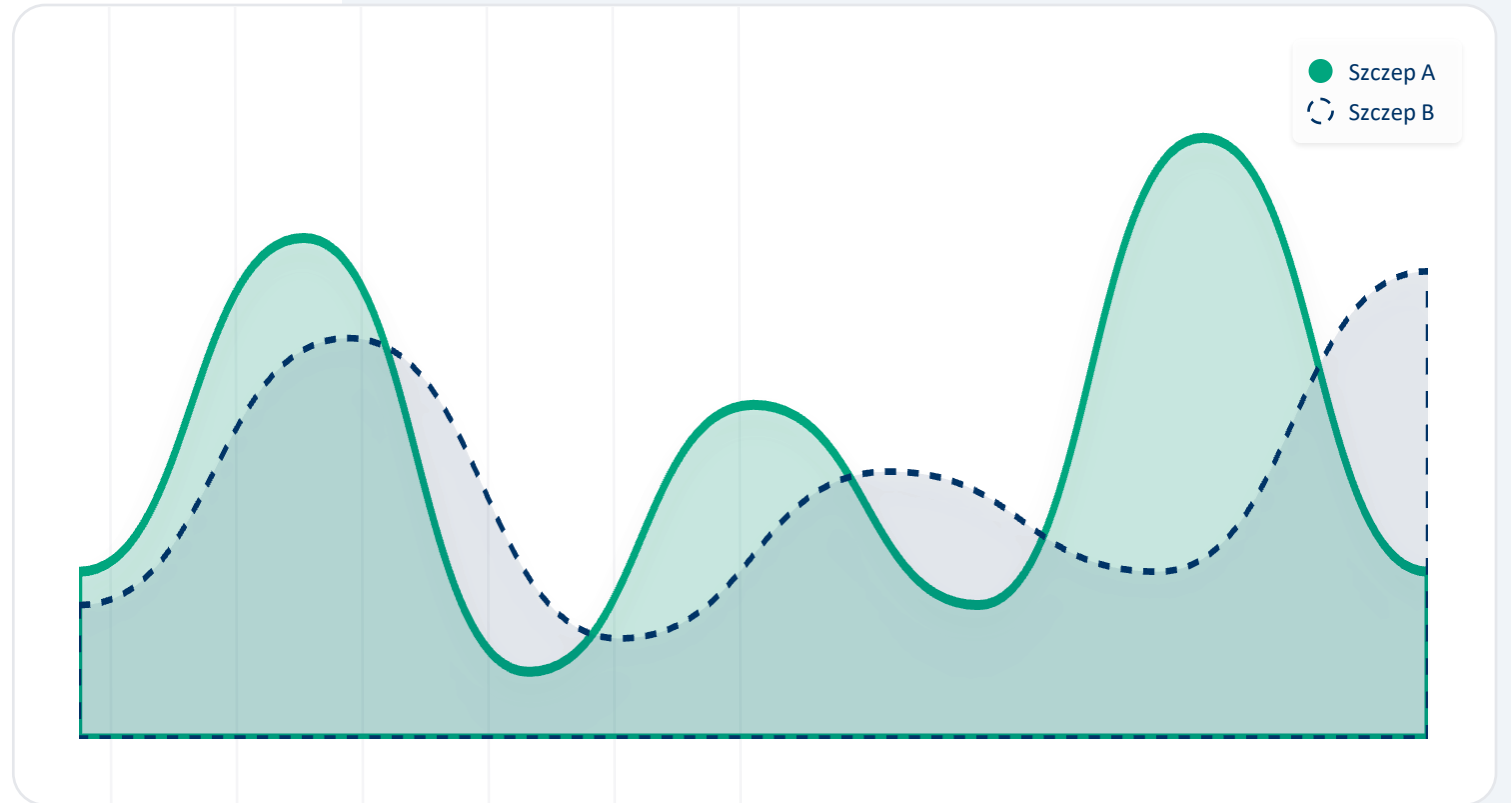
Analiza wibracji cząsteczek pod wpływem światła podczerwonego. Każdy szczep bakterii posiada unikalny "odcisk chemiczny".

Region analityczny

1300–800 cm^{-1}

Fingerprint Region

Polisacharydy (ściana komórkowa) decydują o specyficzności.



Widmo FT-IR



Analiza wielowymiarowa



Macierz podobieństwa

Interpretacja wyników

Cut-off Value

0.15

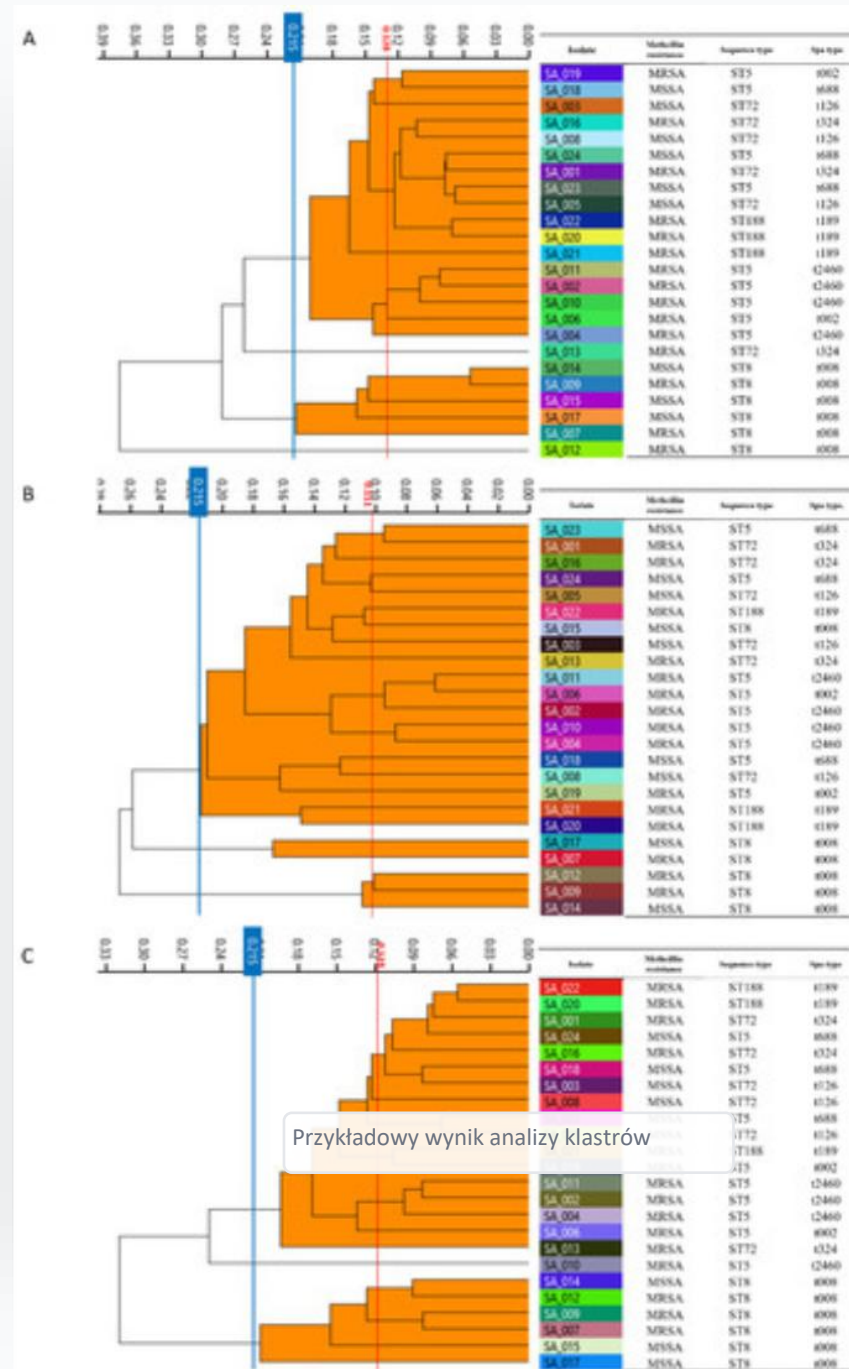
Wartość poniżej tego progu (Distance value) oznacza wysoką homologię.

TEN SAM KLON

Wizualizacja

Automatyczne klastrowanie

Kodowanie kolorami (Traffic light)



Rekomendacje i praktyki



Screening Czynny

Badania przesiewowe przy przyjęciu dla pacjentów z grupy ryzyka (OIOM, transfery zagraniczne).



Izolacja Kontaktowa

Ścisła izolacja pacjentów CPE-dodatnich.
Kohortowanie personelu i sprzętu.



Typowanie Molekularne

Rutynowe stosowanie PCR/WGS dla potwierdzenia mechanizmów i śledzenia ognisk.



Raportowanie

Natychmiastowe zgłaszanie przypadków do Zespołu Kontroli Zakażeń i KORLD



Higiena i Środowisko

Wzmocniona dezynfekcja powierzchni i audyty higieny rąk.



Edukacja

Cykliczne szkolenia personelu medycznego i pomocniczego.



Dziękuję za uwagę