



XXIV
JORNADES

SOCIETAT
CATALANA
DE
MALALTIES
INFECCIOSES
I
MICROBIOLOGIA
CLÍNICA

23 i 24 d'octubre de 2015
Vilar Rural, Sant Hilari Sacalm

www.scmimc.org

P R O G R A M A



“Uptodate” en eines diagnòstiques i resistències antimicrobianes dels agents causants de ITS

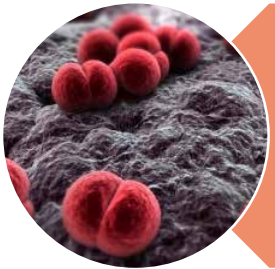
Judit Serra-Pladevall

Sant Hilari Sacalm, 24 octubre 2015

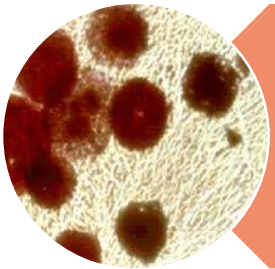
Índex



Diagnòstic microbiològic



Resistència antimicrobiana
Neisseria gonorrhoeae



Resistència antimicrobiana
Mycoplasma genitalium



Diagnòstic microbiològic

URETRITIS

Neisseria gonorrhoeae
Chlamydia trachomatis
Mycoplasma genitalium

Ureaplasma urealyticum

Trichomonas vaginalis

CERVICITIS

Neisseria gonorrhoeae
Chlamydia trachomatis

Trichomonas vaginalis
Mycoplasma genitalium

ULCERES

Herpes simplex virus 2 i 1

Treponema pallidum

Haemophilus ducreyi

C.trachomatis L1, L2, L3: LGV

VAGINITIS

Vaginosis bacteriana

Candida spp

Trichomonas vaginalis

MPI

Neisseria gonorrhoeae

Chlamydia trachomatis

Mycoplasma genitalium

Anaerobis

Gardnerella vaginalis

Haemophilus influenzae

Enterobacteriaceae

Streptococcus agalactiae



Diagnòstic microbiològic

Recollida de la mostra

Tècniques
d'antigenofitació
d'àcid nucleic



Diagnòstic microbiològic



Diagnòstic microbiològic

Recommendations for the Laboratory-Based Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* — 2014

[MMWR Recomm Rep.](#) 2014 Mar 14;63(RR-02):1-19.



En estudi per PCR



ex uretral = 1^{er} raig orina



ex endocervical = ex vaginal





Diagnòstic microbiològic

Rec



Examen en fresc: *T. vaginalis*

tr



Camp fosc: *T. pallidum*

Examen
microscòpic

C



Tinció de Gram:
vaginosis bacteriana



Tinció de Gram: *Candida* spp.

Cultiu
microbiològic



Tinció de Gram:
N. gonorrhoeae

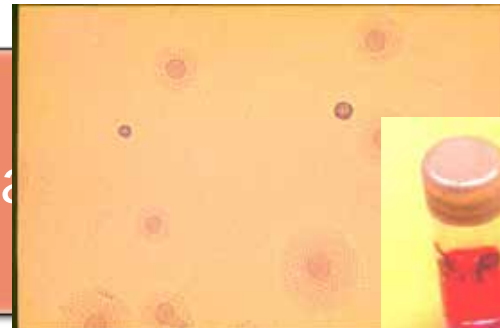


Diagnòstic microbiològic

Agar Bilayer: *Gardnerella vaginalis*



de la



Agar A7B i Brou U9B: *Mycolasma hominis*,
Ureaplasma urealyticum



Tècniques

Examen
microscòpic



Agar Saboureaud: *Candida* spp.

Cultiu
microbiològic



Agar Thayer Martin:
N. gonorrhoeae



Diagnòstic microbiològic

EL NOU
"GOLD STANDARD"
Recollida i identificació



Examen
microscòpic



Tècniques
d'amplificació
d'àcids nucleics



Serologia



Cultiu
microbiològic












Diagnòstic microbiològic

CULTIU (CT i NG)	
✓ Baix cost	✗ Variabilitat interlaboratori
✓ Sensibilitat antimicrobiana	✗ Baixa sensibilitat
✓ Caracterització genètica	✗ Temps resposta llarg
✓ Control fracàs terapèutic	✗ Dificultats en estandardització
	✗ Complexitat
	✗ Requeriments de transport estrictes



Diagnòstic microbiològic

TAANs	
 Alta sensibilitat i especificitat	 Més cost
 Automatitzat	 No estudi sensibilitat
 Menor temps de resposta	 Detecta microorganismes no viables
 Múltiples dianes	
 Detecta microorganismes no viables	
 Control post-tractament	

C. trachomatis
N. gonorrhoeae
M. genitalium
T. vaginalis
U. parvum
U. urealyticum
M. hominis

Papilomavirus

G. vaginalis

Herpes virus 1 i 2
LGV
T. pallidum
H. ducreyi





Diagnòstic microbiològic

Tècniques d'amplificació d'àcids nucleics (TAANs)

- Des de maig 2013: 5 plataformes aprovades per la FDA (EEUU) per la detecció de CT i NG en mostres del tracte genital.
- Mostres → dones: frotis vaginals / endocervicals / orina 1er raig
→ homes: orina 1er raig / exsudat uretral
- CDC recomana TAANs per mostres extragenitals (no aprovat per FDA)



Reaccions creuades amb neissèries sapròfites!
Utilitzar altres dianes

TABLE 3. *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* Nucleic Acid Amplification Test (NAAT) target sequences and possible false reactions, by test type

FDA-cleared NAAT	Nucleic acid target for <i>C. trachomatis</i>	Nucleic acid target for <i>N. gonorrhoeae</i>
Abbott RealTime CT/NG (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL)	Two distinct specific sequence regions within the 7,500 base pair <i>C. trachomatis</i> cryptic plasmid DNA. The test does not detect plasmid free <i>C. trachomatis</i> . No false-positive tests based on analytical specificity testing.	48 base pair sequence within the <i>Opa</i> gene of <i>N. gonorrhoeae</i> . No false-positive tests based on analytical specificity testing.
Aptima COMBO 2 assay Aptima CT assay Aptima GC assay (Hologic/Gen-Probe Inc, San Diego, CA)	Specific region within the 23S rRNA from <i>C. trachomatis</i> (Aptima Combo 2 assay). Specific region with the 16S rRNA from <i>C. trachomatis</i> (Aptima CT assay). Both the Aptima Combo 2 assay and APTIMA CT assay detects nvCT. The test does not detect plasmid-free <i>C. trachomatis</i> . No false-positive tests based on analytical specificity testing.	Specific region within the 16S rRNA from <i>N. gonorrhoeae</i> (Aptima Combo 2 assay). Specific region with the 16S rRNA from <i>N. gonorrhoeae</i> that is distinct from the Aptima Combo 2 assay target (Aptima GC assay). No false-positive tests based on analytical specificity testing.
BD ProbeTec ET CT/GC Amplified DNA assay (Becton Dickinson and Company, Sparks, MD)	One distinct sequence within the 7,500 base pair <i>C. trachomatis</i> cryptic plasmid DNA. The test does not detect plasmid-free <i>C. trachomatis</i> . No false-positive tests based on analytical specificity testing.	Chromosomal pilin gene-inverting protein homologue. <i>Neisseria cinerea</i> , <i>Neisseria subflava</i> and <i>Neisseria lactamica</i> might result in false-positive test results based on analytical specificity testing.
BD ProbeTec Q ^x CT Amplified DNA Assay BD ProbeTec Q ^x GC Amplified DNA Assay (Becton Dickinson and Company, Sparks, MD)	One distinct sequence within the 7,500 base pair <i>C. trachomatis</i> cryptic plasmid DNA. The test does not detect plasmid-free <i>C. trachomatis</i> . No false-positive tests based on analytical specificity testing.	Chromosomal pilin gene-inverting protein homologue. <i>N. cinerea</i> and <i>N. lactamica</i> might result in false-positive test results based on analytical specificity testing.
Xpert CT/NG Assay (Cepheid, Sunnyvale, CA)	One distinct <i>C. trachomatis</i> chromosomal DNA sequence. No false-positive tests based on analytical specificity testing. The test detects plasmid-free <i>C. trachomatis</i> .	Two distinct chromosomal sequences each with a different reporter. Both sequences have to be detected to obtain a positive <i>N. gonorrhoeae</i> result. No false-positives based on analytical specificity testing
cobasCT/NG test (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN)	CT primers CP102 and CP103 to define a sequence of approximately 206 nucleotides within the cryptic plasmid DNA of <i>C. trachomatis</i> . CT primers CTMP101 and CTMP102 to define a sequence of approximately 182 nucleotides within the chromosomal DNA of <i>C. trachomatis</i> . No false-positive tests based on analytical specificity testing. The test detects plasmid-free <i>C. trachomatis</i> .	NG primers NG514 and NG519 to define a sequence of approximately 190 nucleotides (DR-9A) from the DR-9 region. NG primers, NG552 and NG579, to define a second sequence of approximately 215 nucleotides (DR-9B) from the DR-9 region. No false-positive tests based on analytical specificity testing.



Diagnòstic microbiològic

Preguntes freqüents

– Tots els resultat positius s'han de repetir amb una altra diana?

No, a no ser que així ho indiqui el propi fabricant.

Si hi ha una raó clínica o tècnica per posar en dubte el resultat, s'ha de considerar repetir el test.

– S'ha de fer control post-tractament?

Es recomana fer cultiu en cas de sospita de fracàs terapèutic.

En mostres orofaríngies.

TAANs no aprovats per FDA per control post-tractament. CT positiu \pm 3 setmanes, NG positiu \pm 2 setmanes.

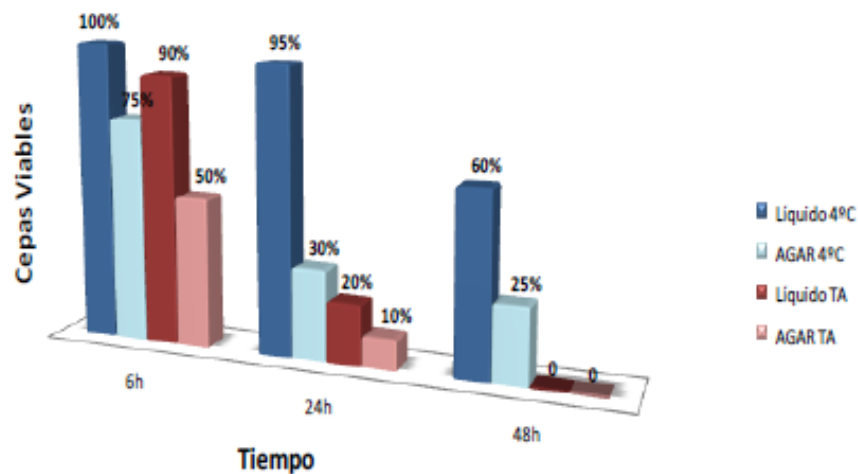


Diagnòstic microbiològic

Preguntes freqüents

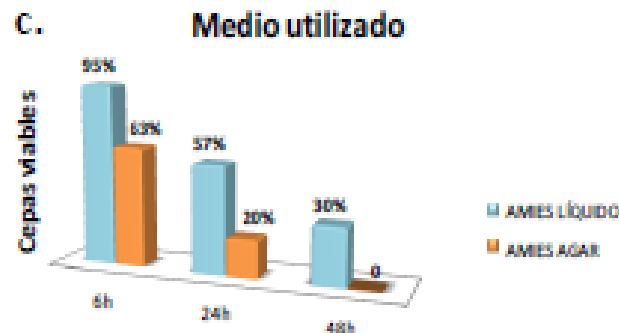
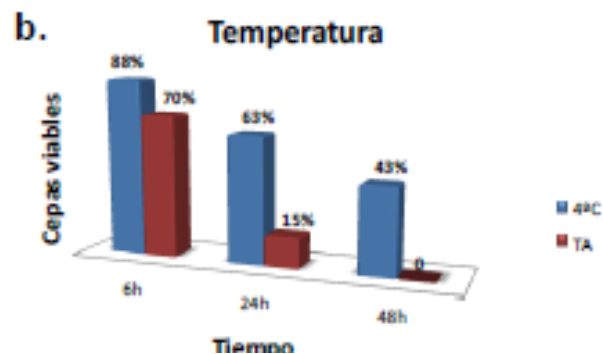
– Com s'han de conservar les mostres un cop preses?

Totes les mostres, després de la seva obtenció i fins el seu processament al laboratori, s'han de conservar a 4°C.



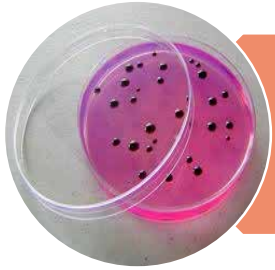
Viabilitat en funció T^a i medi

Viabilitat en funció T^a

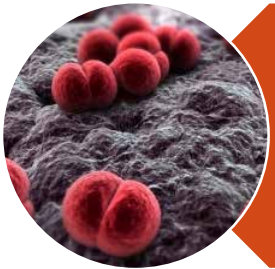


Viabilitat en funció medi

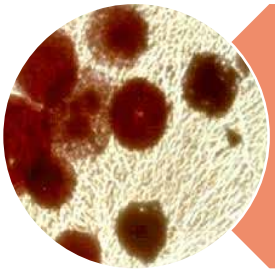
Índex



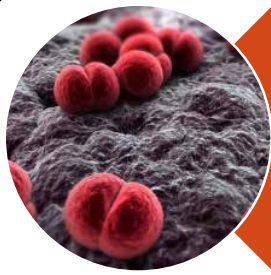
Diagnòstic microbiològic



Resistència antimicrobiana
Neisseria gonorrhoeae

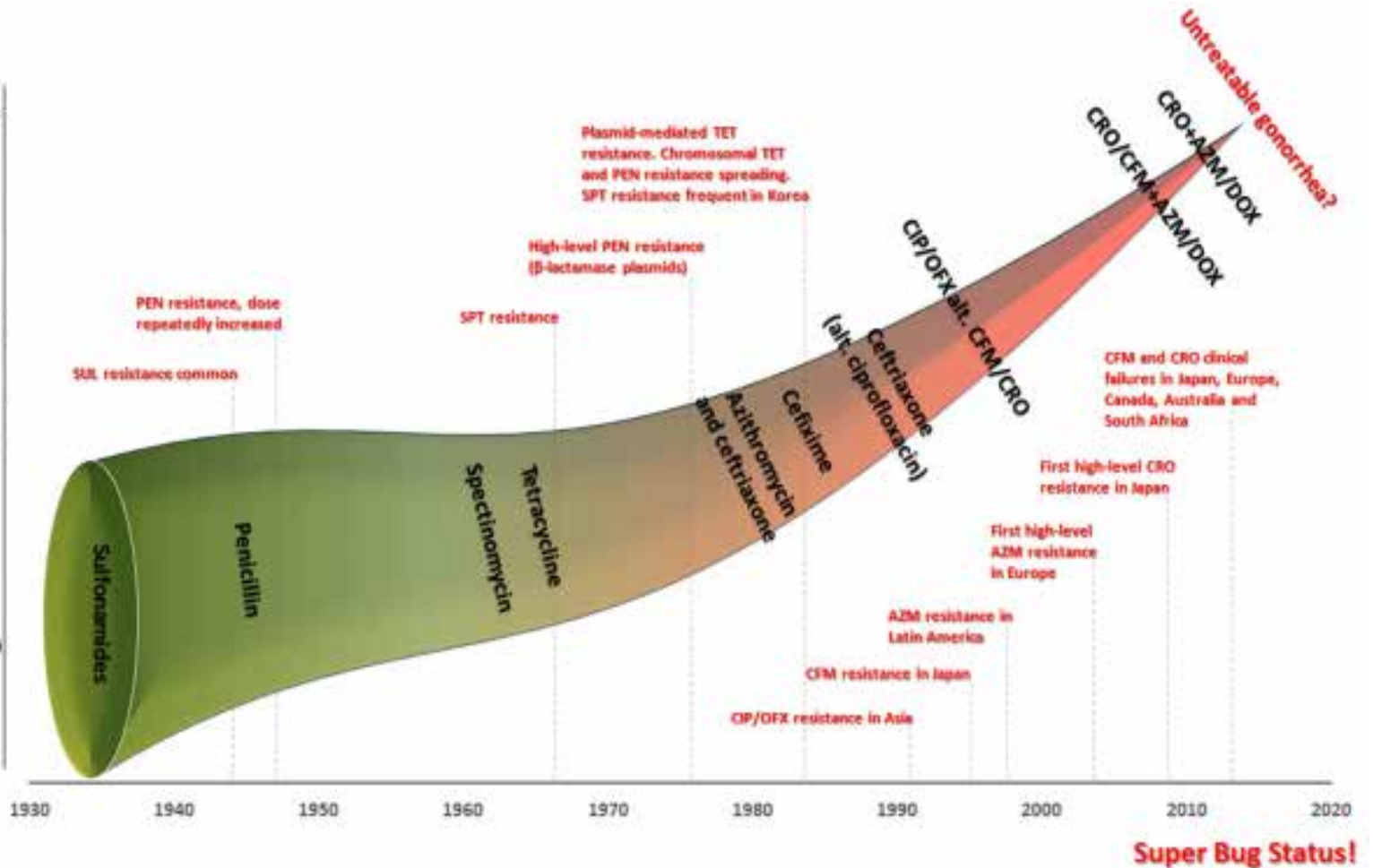


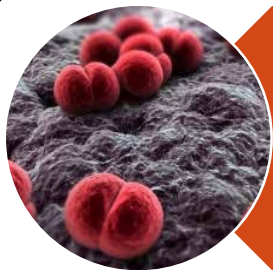
Resistència antimicrobiana
Mycoplasma genitalium



Resistència antimicrobiana *Neisseria gonorrhoeae*

- Main resistance determinants**
- Novel *penA* mosaic alleles (CRO resistance)
 - 23S rRNA/*erm*+*mecA* (AZM resistance)
 - penA* mosaic allele (CFM resistance)
 - gyrA*+*parC* (CIP resistance)
 - tetM* (TET resistance)
 - bla_{TEM-1}* (*bla_{TEM-135}*) (PEN resistance)
 - rpsJ* (*mtrR*+*penB*) (TET resistance)
 - 16S rRNA/*rpsE* (SPT resistance)
 - penA* (*mtrR*+*penB*+*penA1*) (PEN resistance)
 - folP* (SUL resistance)

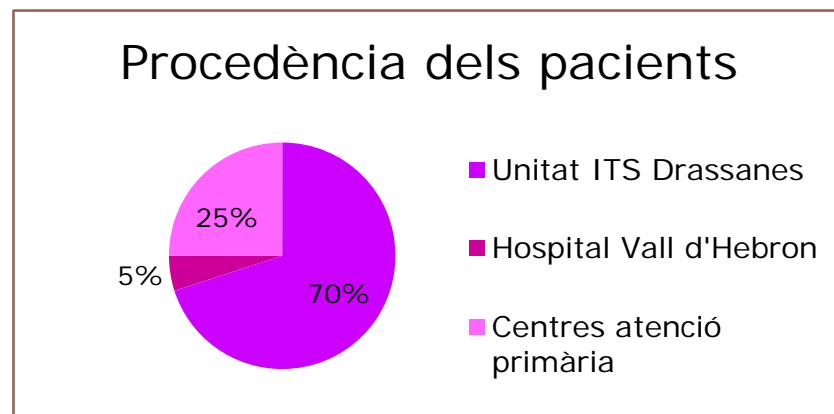




Resistència antimicrobiana *Neisseria gonorrhoeae*

- Servei microbiologia, Hospital Vall d'Hebron:

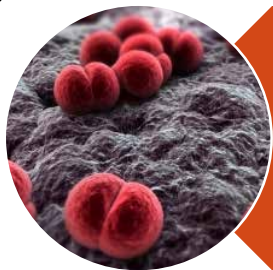
- Hospital de tercer nivell
- Unitat d'ITS de Drassanes
- 150 centres d'atenció primària



- Estudi sensibilitat antimicrobiana:

- Etest en medi GC
- Detecció de beta-lactamasa amb disc nitrocefina
- Interpretació segons punts de tall de EUCAST

- SD cefixima i ceftriaxona: CMI $>0,125 \mu\text{g/ml}$
- R ciprofloxacino: CMI $>0,06 \mu\text{g/ml}$
- R azitromicina: CMI $\geq 1 \mu\text{g/ml}$

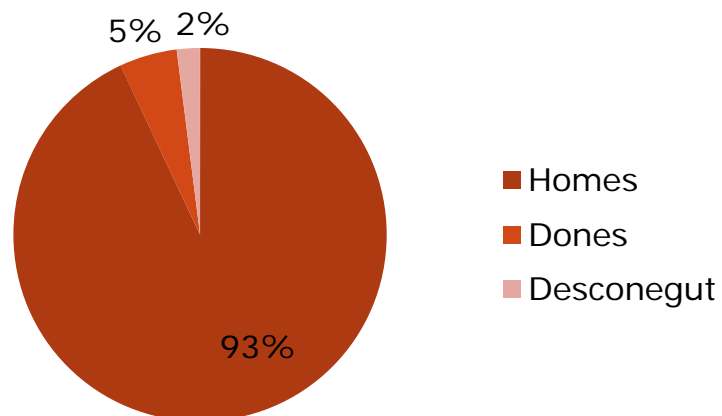


Resistència antimicrobiana *Neisseria gonorrhoeae*

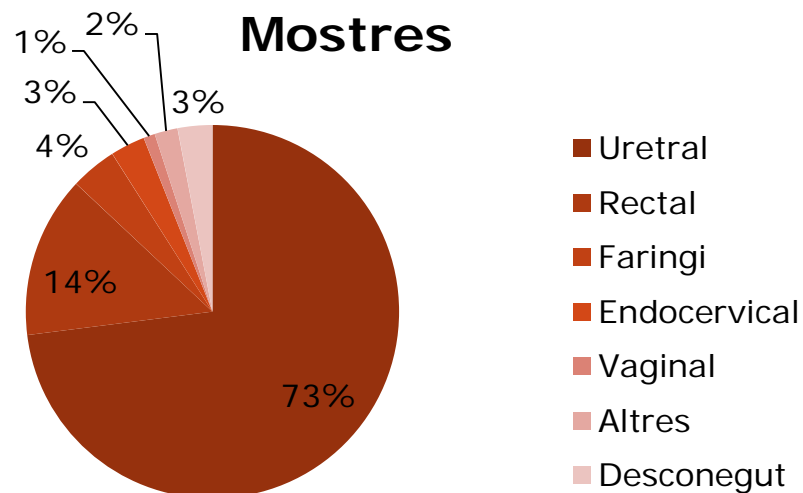
- a) Gener - agost 2011: 100
- b) Juliol – desembre 2012: 144
- c) Gener - desembre 2013: 339
- d) Gener – desembre 2014: 346

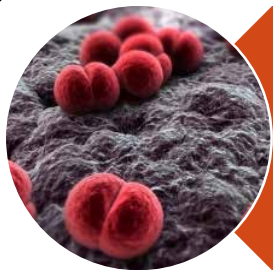
929 soques

Sexe



Mostres



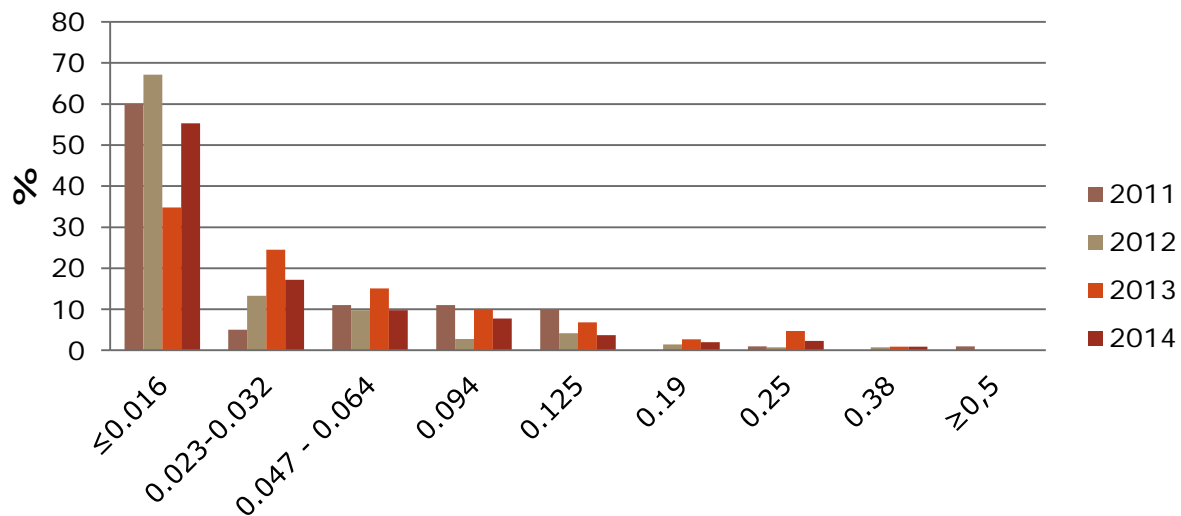


Resistència antimicrobiana *Neisseria gonorrhoeae*

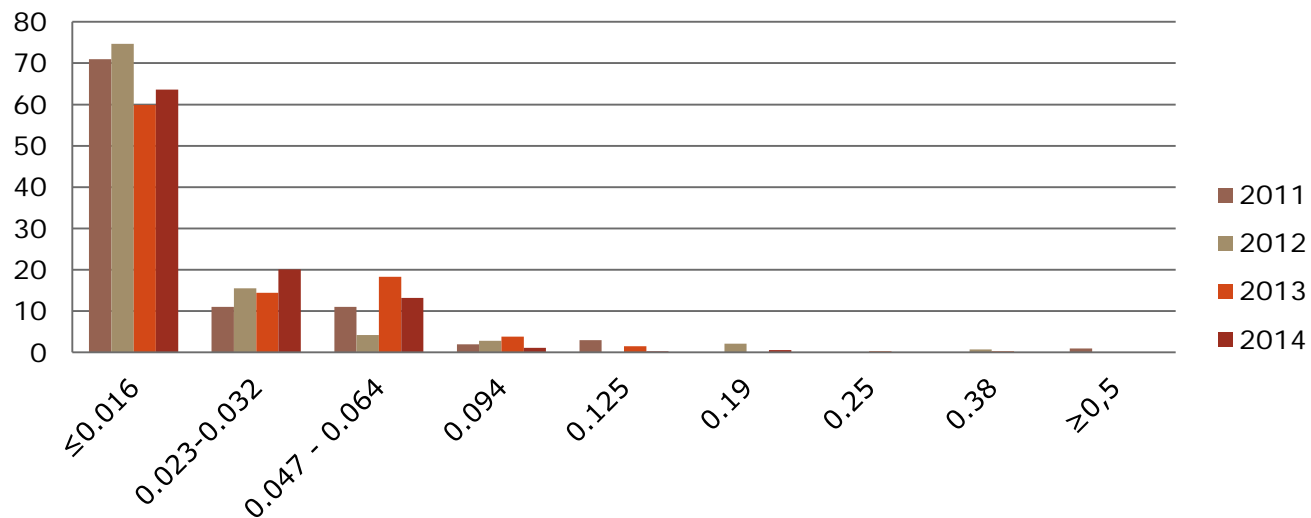
Any	Nº soques	SD cefixima		SD ceftriaxona		Ciprofloxacino	Azitromicina	PPNG	Spectinomicina
		n	%	n	%	%	%	%	%
2011	100	2*	2	1*	1	53	3	7	1
2012	144	4	2,8	4	2,8	49,3	ND	16	0
2013	339	25	8,3	2	0,6	49,6	4,4	17,4	0
2014	346	18	5,2	2	0,6	48,8	2,6	15,3	0

MDR strain (MIC to cefixime 1.5 µg/ml and to ceftriaxone 1.5 µg/ml)
(Camara et al. [J Antimicrob Chemother.](#) 2012 Aug; 67(8):1858-60)

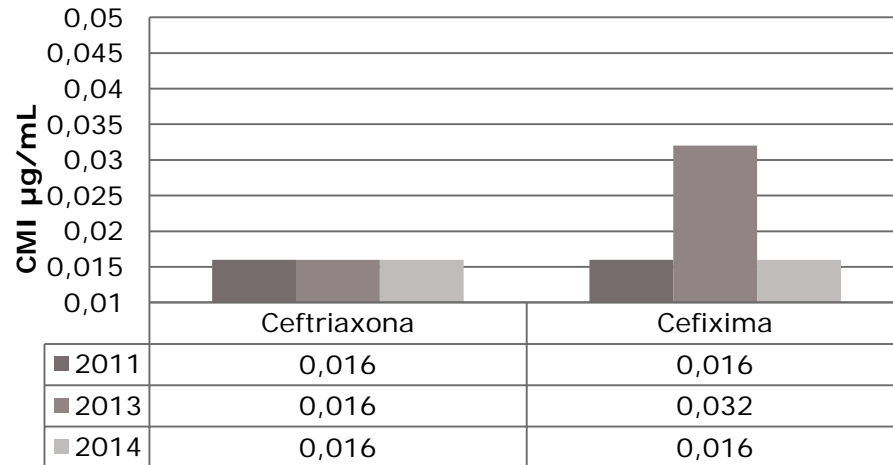
Distribució CMI a cefixima, 2011-2014



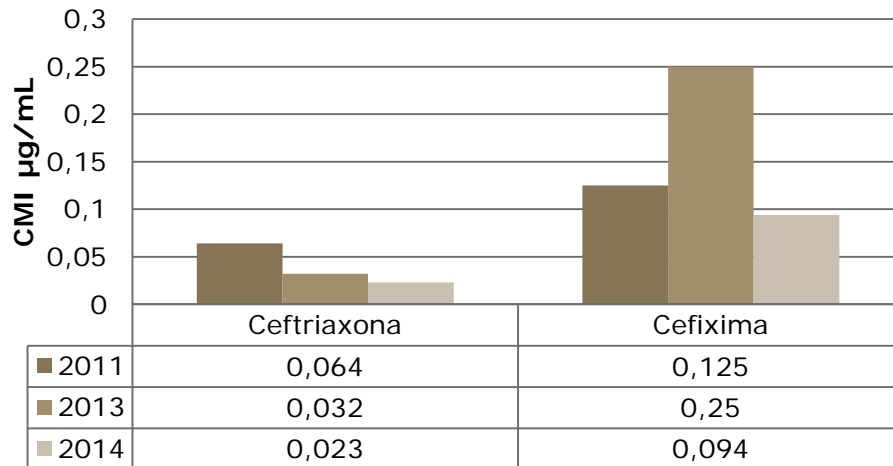
Distribució CMI a ceftriaxona, 2011-2014



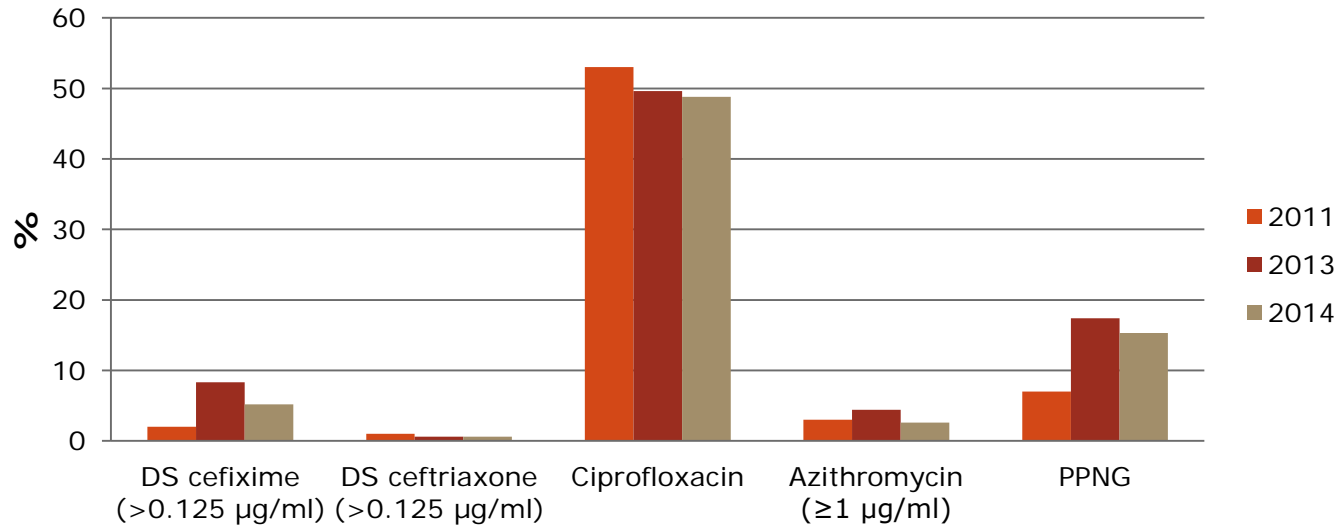
CMI₅₀



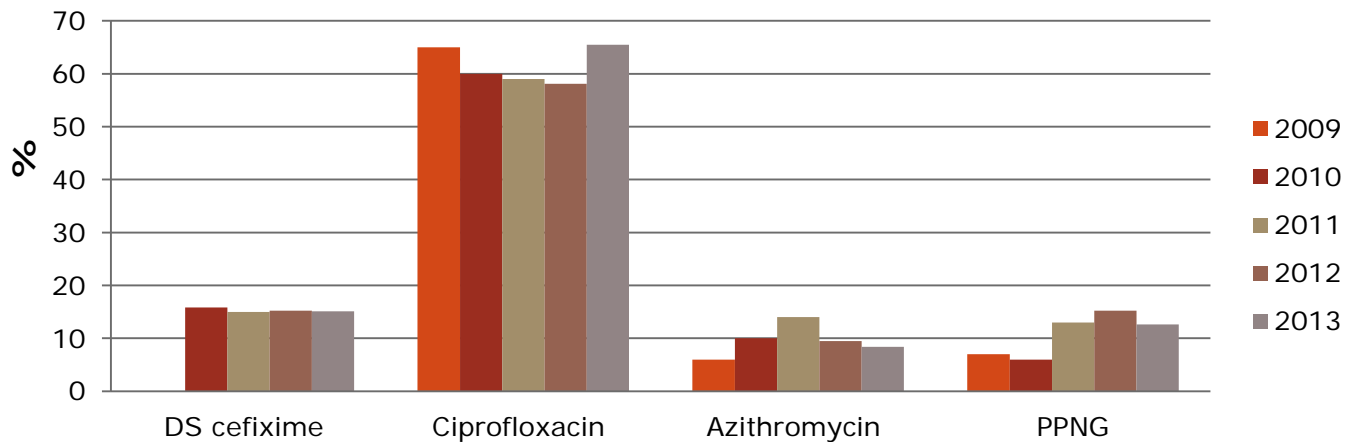
CMI₉₀



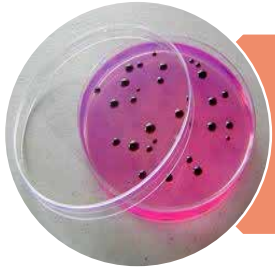
Sensibilitat antimicrobiana *N. Gonorrhoeae*, Hospital Vall d'Hebron



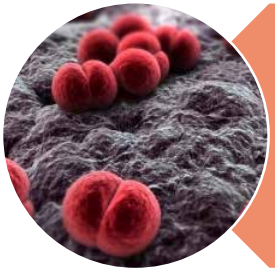
Sensibilitat antimicrobiana *N. Gonorrhoeae*, Espanya (dades Euro-GASP)



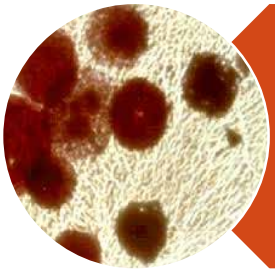
Índex



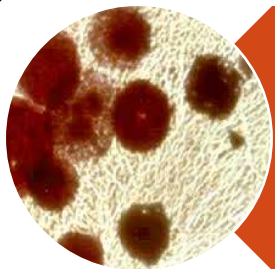
Diagnòstic microbiològic



Resistència antimicrobiana
Neisseria gonorrhoeae



Resistència antimicrobiana
Mycoplasma genitalium



Resistència antimicrobiana *Mycoplasma genitalium*

- *Mycoplasma genitalium* (MG) és un agent causant de uretritis no-gonocòcica (UNG) (10% - 35% UNG).
- Agent etiològic de cervicitis, endometritis i MPI.
- Prevalença variable (NG < MG < CT).
- Increment de la resistència a macròlids en el últims anys (monodosi > tractament prolongat)

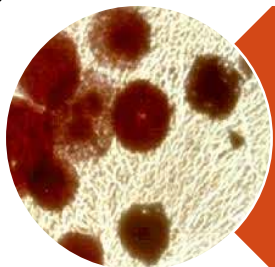


MOXIFLOXACINO



Table 2
Efficacy of standard STI treatment regimens against *M genitalium*

STI Syndrome	Treatment Regimen	Number of Studies	Microbiologic Cure: Median, Range (%)
Nongonococcal urethritis	Doxycycline ^a	11	38, 0–94
	Azithromycin 1 g single dose	14	84, 40–98
	Azithromycin extended dose ^b	7	93, 60–100
	Moxifloxacin ^c	6	100, 100–100
	Levofloxacin/ofloxacin ^d	3	44, 33–60
	Gatifloxacin ^e	2	92, 83–100
	Sitafloxacin ^f	1	100
Cervicitis	Doxycycline ^a	4	42, 29–100
	Azithromycin 1 g single dose	7	88, 79–96
	Azithromycin extended dose ^b	5	100, 78–100
	Moxifloxacin ^c	8	100, 91–100
	Levofloxacin/ofloxacin ^d	2	55, 44–71
	Sitafloxacin ^f	1	86, 79–92
PID	Moxifloxacin 400 mg × 14 d	1	100
	Ofloxacin 400 mg bid plus Metronidazole 500 mg bid × 14 d	1	100
	Cefoxitin 2 g parenterally every 6 h plus doxycycline 100 mg bid × 14 d (inpatient)	1 ^g	57, 56–59
	Cefoxitin 2 g IM plus probenecid 1 g plus doxycycline 100 mg bid × 14 d (outpatient)	1 ^g	57, 56–59



Resistència antimicrobiana *Mycoplasma genitalium*

Seqüenciació del domini V
del 23S RNAr.

Statens Serum Institut de
Copenhaguen

Febrer 2013 – Març 2014:
98 mostres PCR+ per MG

84 mostres de
73 pacients

26 (36%) resistència a
macròlids

26 (36%) resistència a
macròlids



15 (57%) mutació A2059G
11 (43%) mutació A2058G

Edat mitja: 33 (22-46)

92% homes → 77% HSH

77% uretritis

69% uretritis/proctitis/cervicitis prèvia < 12 mesos

53% azitromicina 1g < 12 mesos

Més 50% dels pacients tractats amb azitromicina no van respondre al tractament.

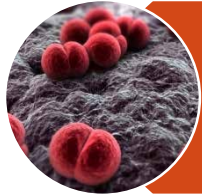
Moxifloxacino va ser administrat en el 75% dels pacients que reberen una segona pauta antibiòtica.

CONCLUSIONS



Diagnòstic microbiològic

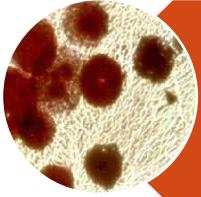
- Importància de la correcte presa de mostra en contenidor adequat.
- Tot i que TAANs nou “gold standard” → mantenir cultiu per poder realitzar estudis de sensibilitat antimicrobiana i epidemiologia.



Resistència antimicrobiana *Neisseria gonorrhoeae*

- Tot i l'augment de resistència observada al 2013, hem observat una disminució important en el 2014.
- Tot i que la combinació de ceftriaxona i azitromicina continua sent una bona opció com a tractament de primera línia, és molt important seguir monitoritzant la sensibilitat antimicrobiana.

CONCLUSIONS



Resistència antimicrobiana *Mycoplasma genitalium*

- L'elevada taxa de *Mycoplasma genitalium* resistent a macròlids detectada a Barcelona pot estar relacionada amb l'ús previ d'azitromicina en el tractament inicial de les uretritis.
- S'ha d'aprofundir en el coneixement dels factors de risc d'adquisició de resistència a macròlids per tal d'adequar les pautes antibiòtiques empíriques de les uretritis.
- És recomanable fer test de curació posterior al tractament d'una infecció per *Mycoplasma genitalium*.

**Moltes gràcies
per la vostra
atenció!**

