

Hodnocení bakteriální kolonizace spojivkového vaku pacientů léčených intravitreálními injekcemi ranibizumabu

Souhrn

Cíl: Zjistit složení bakteriální mikroflóry ve spojivkovém vaku u pacientů s vlhkou formou věkem podmíněné makulární degenerace (VPMD) indikovaných k intravitreální aplikaci ranibizumabu (Lucentis, Novartis Pharma AG). Zhodnotit účinnost kombinované lokální přípravy širokospektrým antibiotikem moxifloxacin 0,5 % (Vigamox, Alcon) a 5% roztokem jodovaného povidonu (Betadine, Egis Pharmaceuticals, LTD.) a vyhodnotit subjektivní snášenlivost moxifloxacinu.

Metodika a materiál: V prospektivním, nerandomizovaném sledování bylo hodnoceno 20 očí 20 pacientů léčených intravitreálně podávaným ranibizumabem. Všem pacientům byl proveden opakovaně výtěr ze spojivkového vaku léčeného oka, a to v časovém schématu - před zahájením užívání moxifloxacinu, v den intravitreálního podání ranibizumabu před výplachem spojivkového vaku 5% roztokem jodovaného povidonu, dále po výplachu bezprostředně před injekcí a kontrolně též tři dny po intravitreální aplikaci. Zároveň byla dotazníkovou formou hodnocena snášenlivost moxifloxacinu.

Výsledky: Při odběru materiálu ze spojivkového vaku léčeného oka před aplikací moxifloxacinu mělo 17 očí pozitivní bakteriální kultivaci (85 %) a tři oči (15 %) negativní bakteriální kultivaci. U dvou očí s pozitivní kultivací byla nalezena rezistence na moxifloxacin. Po třech dnech aplikace moxifloxacinu byla kultivace negativní u 13 očí (65 %), u 7 očí (35 %) byla bakteriální kultivace pozitivní. Po výplachu oka 5% roztokem jodovaného povidonu byla negativní kultivace u 17 očí (85 %), pozitivní kultivace byla u 3 očí (15 %), ve všech případech byla zjištěna citlivost na moxifloxacin. Tři dny po intravitreální injekci byla negativní kultivace ze spojivkového vaku u 13 očí (65 %), u 7 očí (35 %) byla kultivace pozitivní, bakterie byly citlivé na moxifloxacin. Subjektivní obtíže udávalo během aplikace moxifloxacinu celkem 10 pacientů, 5 pacientů žádné obtíže nemělo a 5 pacientů dotazník neodevzdalo. Průměrný začátek obtíží byl 2. den po zahájení podávání moxifloxacinu a průměrný stupeň obtíží byl 1,6 ze škály 0 až 5.

Závěr: V našem souboru jsme zjistili široké spektrum mikroorganismů kolonizující spojivkový vak pacientů indikovaných k intravitreální léčbě VPMD. Po přípravě moxifloxacinem byla četnost bakteriální kultivace snížena a výplach 5% roztokem jodovaného povidonu tento účinek potencoval. Úplnou eliminaci bakterií u všech očí se nepodařilo dosáhnout. Nejčastějším vykultivovaným patogenem byl *Staphylococcus coagulans* negative. Přestože byla zjištěna rezistence na moxifloxacin u dvou různých bakterií dvou očí na začátku sledování, byla po léčbě moxifloxacinem kultivace těchto bakterií u obou očí negativní a v ostatních případech byly zjištěné bakterie vždy na moxifloxacin citlivé.

Klíčová slova: rezistence, citlivost, moxifloxacin, jodovaný povidon

SUMMARY

Evaluation of Bacterial Colonization of the Conjunctival Sac in Ranibizumab Intravitreal Injections Treated Patients

Aim: To establish the conjunctival sac bacterial flora structure in patients with wet form of the age-related macular degeneration (ARMD) indicated for the intravitreal application of Ranibizumab (Lucentis, Novartis Pharma AG). To evaluate the efficacy of combined local preparation with broad-spectrum antibiotic moxifloxacin 0.5 % (Vigamox, Alcon) and povidone iodine solution, 5 % (Betadine, Egis Pharmaceuticals, LTD.) and to evaluate subjective toleration of moxifloxacin.

Materials and methods: In a prospective, non-randomized study were evaluated 20 eyes of 20 patients treated by means of intravitreally-applied ranibizumab. In all patients, the swabs from the conjunctival sac of the treated eye were repeatedly taken in a given time-schedule – before the start of using moxifloxacin, on the day of the intravitreal application of ranibizumab – before the irrigation of the conjunctival sac with povidone iodine solution, 5 %, further after the irrigation - immediately before the injection and the control was taken three days after the intravitreal injection. At the same time, the moxifloxacin toleration was evaluated by a questionnaire.

Studnička J.¹, Beránek J.¹,
Ryšková L.², Rencová E.¹,
Hejsek L.¹, Rozsival P.¹

¹Oční klinika FN a LF UK, Hradec Králové,
přednosta prof. MUDr. Pavel Rozsival,
CSc., FEBO

²Ústav klinické mikrobiologie FN,
Hradec Králové,
přednosta doc. RNDr. Vladimír Buchta, CSc.

Předneseno na XI. kongresu České
vitreoretinální společnosti dne 25. 11.
2011 v Mikulově

✉ Do redakce doručeno dne
13. 1. 2012

📄 Do tisku přijato dne 7. 5. 2012

MUDr. Jan Studnička, Ph.D.
Oční klinika FN a LF UK Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail.: jan.studnicka@post.cz

Results: The samples taken from the conjunctival sac of the treated eye before the application of moxifloxacin had positive bacterial culture in 17 eyes (85 %) and negative culture in 3 eyes (15 %). Furthermore, in 2 eyes with positive culture, there was established resistance to moxifloxacin. After 3 days of moxifloxacin application, there was negative culture in 13 eyes (65 %), in 7 eyes (35 %) was the bacterial cultivation positive. After the irrigation with povidone iodine 5 % solution was the cultivation negative in 17 eyes (85 %), positive cultivation was in 3 eyes (15 %); in all three cases, the cultures were susceptible to moxifloxacin. Three days after the intravitreal injection, the negative cultivation from the conjunctival sac was found in 13 eyes (65 %), and in 7 eyes was the cultivation positive; the cultivated bacteria were moxifloxacin susceptible. Subjective symptoms after moxifloxacin application were reported by 10 patients altogether; 5 patients were without symptoms and 5 patients did not return the questionnaire. On average, the symptoms started the second day of moxifloxacin treatment and the average grade of symptoms was 1.6 on the scale from 0 to 5. Conclusion: In our group we found a broad spectrum of microorganisms colonizing the conjunctival sac of patients indicated to the ARMD intravitreal treatment. After the prophylaxis with moxifloxacin, the incidence of positive bacterial cultivation decreased and the povidone iodine 5 % solution irrigation this effect increased. The most common pathogen species was *Staphylococcus coagulans negative*. Although the resistance to moxifloxacin in two different bacteria in two eyes in the beginning of observation was established, after moxifloxacin treatment, the cultivation of these bacteria in both eyes was negative, and in all other cases the cultivated bacteria were susceptible to moxifloxacin.

Key words: resistance, susceptibility, moxifloxacin, povidone iodine

Čes. a slov. Oftal., 68, 2012, No. 2, p. 51–55

ÚVOD

Předoperační příprava před opakovanými intravitreálními injekcemi látek proti vaskulárnímu endotelovému růstovému faktoru (anti VEGF) v léčbě vlhké formy VPMD zahrnuje preventivní podávání lokálních antibiotik ve formě kapek, výplach léčeného oka a očištění víček a okolí oka těsně před intravitreální injekcí roztokem jodovaného povidonu (Betadine, Egis Pharmaceuticals LTD.). Tento postup je odvozen z přípravy k intravitreálním injekcím v rámci randomizovaných klinických studií zjišťujících účinnost a bezpečnost ranibizumabu (Lucentis, Novartis Pharma AG) a pegaptanibu (Macugen, Pfizer LTD) v léčbě vlhké formy VPMD. Do běžné klinické praxe byl implementován pro výskyt minimálních zánětlivých komplikací v těchto studiích. Ve studii MARINA byla zjištěna endoftalmitida u 5 očí z celkového počtu 10 443 injekcí (0,05 %) (9), ve studii ANCHOR byla zjištěna endoftalmitida u 3 očí z celkového počtu 5921 injekcí (0,05 %) (2).

Opakované podávání lokálních antibiotik však s sebou přináší riziko vzniku rezistence bakterií na podávaná antibiotika a zvyšuje ekonomickou náročnost vlastní léčby. V klinické studii DRCR.net, která hodnotila účinek a bezpečnost ranibizumabu a triamcinolonu v léčbě diabetického makulárního otoku, byla příprava před intravitreálními injekcemi ponechána na rozhodnutí ošetřujícího lékaře. Ve studii bylo aplikováno celkem 3226 injekcí ranibizumabu a 612 injekcí triamcinolonu. Lokální antibiotikum bylo podáno pouze v den intravitreální injekce u 361 oka (9,4 %), několik dní po injekci u 813 očí (21,2 %), v den injekce

a několik dní po injekci u 1388 očí (36,2 %) a vůbec nebyla podávána u 1276 očí (33,3 %). Endoftalmitida byla zjištěna u 3 očí (0,09 %), ve všech případech se jednalo o oči, u kterých byla antibiotika podána (1).

SOUBOR

V našem souboru jsme v rámci prospektivního, nerandomizovaného sledování hodnotili na Oční klinice FN v Hradci Králové od 25. 8. do 20. 10. 2011 20 očí 20 pacientů (15 žen, 5 mužů) průměrného věku 77 let léčených intravitreálně podávaným ranibizumabem pro vlhkou formu VPMD. Všichni pacienti byli nově indikováni k léčbě nebo byli indikováni ve sledovací fázi s minimální dobou tří měsíců od poslední aplikace Lucentisu. Pacienti aplikovali v rámci předoperační přípravy tři dny před intravitreální injekcí lokálně moxifloxacin 0,5 % (Vigamox, Alcon) 4xD do léčeného oka, intravitreální injekce byla provedena na operačním sále za standardních podmínek (aseptické podmínky operačního sálu, sterilní spekulum, dezinfekce okolí oka a očních víček), těsně před injekcí byl proveden výplach oka roztokem 5 % jodovaného povidonu. Pacienti souhlasili s léčbou i s provedeným vyšetřením.

Cílem sledování bylo zjistit výskyt a složení bakteriální mikroflóry ve spojivkovém vaku u těchto pacientů, zhodnotit odpověď na předoperační přípravy kombinace lokálního, širokospektrého antibiotika moxifloxacinu a 5 % roztoku jodovaného povidonu a vyhodnotit snášenlivost lokálního antibiotika.

METODIKA

Ke zjištění výskytu a složení bakteriální mikroflóry ve spojivkovém vaku a k zhodnocení odpovědi na předoperační přípravy byl proveden opakovaně odběr materiálu ze spojivkového vaku léčeného oka, a to v časovém schématu – před zahájením užívání moxifloxacinu, v den intravitreálního podání ranibizumabu před výplachem spojivkového vaku 5% roztokem jodovaného povidonu, dále po výplachu bezprostředně před injekcí a kontrolně též tři dny po intravitreální aplikaci. Odebraný materiál byl zpracován v Ústavu klinické mikrobiologie FN Hradec Králové. Výtěrovou tyčinkou bylo naočkováno inokulum na krevní agar, MacConkeyův agar, čokoládový agar a Sabouraudův agar, poté se výtěrová tyčinka zanořila do játrového bujónu (tekuté množovací médium) a po 18–24hodinové kultivaci se z bujónu naočkoval krevní a MacConkeyův agar. Naočkované pudy krevního agaru, MacConkeyova agaru a Sabouraudova agaru byly kultivovány aerobně v termostatu při teplotě 36 ± 1 °C, čokoládového agaru v CO₂ inkubátoru při teplotě 36 ± 1 °C. Růst kultur byl odečten a hodnocen nejprve za 18–24 hodin a poté za 42–48 hodin. Citlivost bakterií byla zjišťována diskovou difúzní metodou s využitím antibiotických disků s moxifloxacinem (Oxoid Ltd). Subjektivní snášenlivost moxifloxacinu byla zhodnocena formou dotazníku (tab. 1).

VÝSLEDKY

Při odběru materiálu ze spojivkového vaku léčeného oka před aplikací moxifloxacinu mělo 17 očí pozitivní bakteriální kultivaci (85 %) a tři oči (15 %) negativní bakteriální kultivaci. U dvou očí s pozitivní kultivací byla zjištěna rezistence na moxifloxacin. V jednom případě byla vykultivována rezistentní *Klebsiella pneumoniae ESBL +* a v druhém případě *Staphylococcus coagulans negative*. Po třech dnech aplikace moxifloxacinu byla negativní kultivace u 13 očí (65 %), u 7 očí (35 %) byla bakteriální kultivace pozitivní, ve všech případech se jednalo o *Staphylococcus coagulans negative* citlivého na moxifloxacin. Po výplachu oka 5% roztokem jodovaného povidonu byla kultivace negativní u 17 očí (85 %), pozitivní u 3 očí (15 %), ve dvou případech se jednalo o *Staphylococcus coagulans negative*, v jednom případě byl vykultivován *Dermacoccus Nishinomiyaensis*, ve všech případech byla zjištěna citlivost na moxifloxacin. Tři dny po intravitreální injekci byla negativní kultivace

Tab. 1 Dotazník k hodnocení subjektivních obtíží spojených s použitím moxifloxacinu

Možné obtíže	Vůbec jsem nepocítil(a)					Obtíže byly nesnesitelné	Poprvé jsem pocítil(a) tento problém
	0	1	2	3	4		
Červené oko	0	1	2	3	4	5den
Pocit písku v oku	0	1	2	3	4	5den
Pálení oka	0	1	2	3	4	5den
Řezání v oku	0	1	2	3	4	5den
Světloplachost	0	1	2	3	4	5den
Únava očí	0	1	2	3	4	5den
Bolest oka	0	1	2	3	4	5den

Tab. 2. Zastoupení zjištěné mikroflóry ve spojivkovém vaku sledovaných pacientů

Pacient	1. odběr	2. odběr	3. odběr	4. odběr
č. 1	<i>Staphylococcus aureus C</i>	N	N	N
č. 2	N	N	N	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>
č. 3	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	N	N	N
č. 4	N	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	<i>Dermaococcus Nishinomiyaensis C</i>	N
č. 5	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	N	N	N
č. 6	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	N	N	N
č. 7	<i>Staphylococcus coagulans negative. C</i>	N	N	<i>Acinetobacter Lwoffii C</i>
č. 8	<i>Streptococcus alfa-haemolyticus C</i> <i>Staphylococcus coagulans negative C</i> <i>Klebsiela pneumoniae ESBL+ R</i>	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	N	N
č. 9	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	N	N	N
č. 10	<i>Corynebacterium species C</i> <i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	N	N	N
č. 11	<i>Proteus mirabilis C</i>	N	N	<i>Enterococcus faecalis C</i> <i>Staphylococcus coagulans negative C</i>
č. 12	<i>Corynebacterium Spec ies C</i> <i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	N	N
č. 13	<i>Bacillus species C</i> <i>Staphylococcus coagulans negative R</i> <i>Candida parapsilosis –ojediněle</i>	N	N	N
č. 14	N	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	N	N
č. 15	<i>Staphylococcus aureus C</i> <i>Acinetobacter Lwoffii C</i>	N	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>
č. 16	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	N	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>
č. 17	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	N	N	N
č. 18	<i>Enterobacter species C</i>	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	N
č. 19	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i>	N	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i> <i>Staphylococcus aureus C</i>
č. 20	<i>Staphylococcus coagulans negative C</i> <i>Corynebacterium species C</i>	N	N	N

C – citlivý na moxifloxacin
R – rezistentní na moxifloxacin
N – negativní kultivace

ze spojivkového vaku u 13 očí (65 %), u 7 očí (35 %) byla bakteriální kultivace pozitivní, ve všech případech citlivá na

moxifloxacin. Podrobný přehled vykultivovaných mikroorganismů u jednotlivých pacientů při jednotlivých odběrech uka-

zuje tabulka 2 (tab. 2), souhrnný přehled vykultivovaných mikroorganismů při jednotlivých odběrech ukazuje tabulka 3

Tab. 3 Přehled mikroorganismů vykultivovaných ze spojivkového vaku léčených očí

Kultivace	1. odběr (počet)	2. odběr (počet)	3. odběr (počet)	4. odběr (počet)
negativní	3	13	17	13
<i>Staphylococcus coagulans negative</i>	13	7	2	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	0	0	1
<i>Streptococcus alfa-hemolyticus</i>	1	0	0	0
<i>Klebsiela pneumoniae</i>	1	0	0	0
<i>Corynebacterium species</i>	3	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0	0	0
<i>Acinetobacter Lwoffii</i>	1	0	0	1
<i>Enterobacter faecalis</i>	1	0	0	1
<i>Candida parapsilosis</i>	1	0	0	0
<i>Bacillus species</i>	1	0	0	0
<i>Dermacoccus Nishinomiyaensis</i>	0	0	1	0

Tab. 4 Přehled subjektivních obtíží spojených s užíváním moxifloxacinu

a)

Subjekt. obtíže	Pocit písku	Pálení oka	Zarudnutí oka	Únava očí	Řezání v oku	Bolest oka	Svědění očí
	5x	5x	4x	5x	3x	1x	1x

b)

Den začátku obtíží	1. den	2. den	3. den	4. den	5. den	6. den
	10 x	10 x	1 x	0	3 x	0

c)

Stupeň obtíží	1	2	3	4	5
	15 x	6 x	1 x	2 x	0

(tab. 3). Subjektivní obtíže udávalo během aplikace moxifloxacinu celkem 10 pacientů, 5 pacientů žádné obtíže neudávalo a 5 pacientů dotazník neodevzdalo. Průměrný začátek obtíží byl 2. den po zahájení podávání moxifloxacinu a průměrný stupeň obtíží byl 1,6. Podrobné vyhodnocení subjektivních obtíží pacientů ukazuje tabulka 4 a, b, c (tab. 4 a, b, c). V žádném sledovaném případě nebyly zjištěny známky nitroočního zánetu po intravitreální injekci ranibizumabu.

DISKUSE

Zjištěná kolonizace slzného vaku bakteriální mikroflórou u pacientů v našem souboru koresponduje s výsledky Honda a kol. (5), který udává výskyt kolonizace spojivkového vaku v 67,8 % a s výsledky Perkinse a kol. (8), který udává výskyt bakteriální mikroflóry ve spojivkovém vaku u zdravých jedinců v 90,6 % při použití širšího spektra kultivačních půd. V našem souboru jsme kultivovali bakte-

rie za aerobních i anaerobních podmínek, včetně kultivace v tekutém pomnožovacím médiu.

Přes kombinovanou přípravu před intravitreální injekcí se nám nepodařilo ve všech případech zcela eliminovat bakteriální mikroflóru ze spojivkového vaku. Po aplikaci moxifloxacinu i po výplachu jodovaným povidonem byl prokázán ve spojivkovém vaku dvou očí *Staphylococcus coagulans negative*, který je příčinou většiny endoftalmitid po intravitreální injekci, u kterých byla prokázána bakteriální etiologie. V klinické studii DRCCR.net, kde bylo podání lokálního antibiotika nepovinné, byl vykultivován u dvou ze tří zjištěných endoftalmitid (1). V klinické studii ANCHOR byla pozitivní bakteriální kultivace u jednoho oka ze tří, u kterých byla zjištěna endoftalmitida. Také v tomto případě byl vykultivován *Staphylococcus coagulans negative* (2). Shah a kol. udává výskyt 23 očí s endoftalmitidou z celkového počtu 27 736 intravitreálních injekcí anti VEGF látky podávaných v běžné klinické praxi v rozmezí 16 měsíců 16 vitreoretinálními chirurgy. Kultivace byla pozitivní u 7 očí (30,4 %), z toho ve třech případech se jednalo o *Staphylococcus coagulans negative*,

po jednom případě o čtyři různé bakterie (10).

Přestože jsme v našem souboru prokázali pokles bakterií ve spojivkovém vaku po aplikaci moxifloxacinu, který byl potencován výplachem 5% roztoku jodovaného povidonu, neporovnávali jsme bakteriální kolonizaci spojivkového vaku s kombinovanou lokální přípravou a očí připravovaných pouze výplachem 5% roztokem jodovaného povidonu. Moss a kol. zjistili při porovnání očí s profylaktickým podáním gatifloxacinu tři dny před intravitreální injekcí v kombinaci s výplachem 5% roztokem jodovaného povidonu statisticky nevýznamný rozdíl oproti očím připravovaných pouze výplachem jodovaného povidonu (7). Halachmi-Eyal a kol. prokázali při srovnání očí připravovaných moxifloxacinem 0,5% a 5% jodovaným povidonem v den operace katarakty statisticky nevýznamný rozdíl v pozitivní bakteriální kultivaci oproti očím připravovaným pouze výplachem 5% jodovaného povidonu (4).

V klinické studii ARCaNE (The Antibiotic Resistance of Conjunctiva and Nasopharynx Evaluation) byla zjišťována bakteriální rezistence na opakovanou expozici antibiotik podávaných v průběhu léčby in-