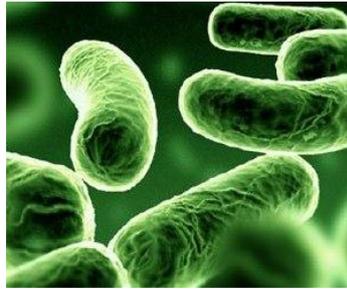


L'antibiogramma 1 Parte



Dr. Andrea Rocchetti
ASO Alessandria



Settore Sistemi Organizzativi e
Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



PUNTO DI CONGIUNZIONE TRA DUE MONDI 



Vitro R = R in Vivo
Vitro S= S o R in Vivo

 Settore Sistemi Organizzativi
Risorse Umane dell'SSR Antibiotico-resistenza - Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018 

L'antibiogramma rappresenta il punto di incontro tra due mondi; quello del «vitro» e quello «del vivo». Si tratta di ambiti molto diversi tra loro.

Le prove di sensibilità fenotipiche avvengono testando il singolo antibiotico contro il singolo microrganismo utilizzando criteri stringenti volte a standardizzare il più possibile la metodica di saggio.

Gli antibiotici vengono saggiati su batteri cresciuti in coltura pura ed in forma planctonica.

Viceversa

- Il paziente spesso ha infezioni polimicrobiche.
- Il paziente ha infezioni associate a «device» dove il microrganismo si trova in forma sessile con produzione di slime.
- Il paziente riceve combinazioni di farmaci.
- Il paziente riceve dosaggi terapeutici non standardizzati o non standardizzabili.
- Il paziente ha infezioni in siti dove la concentrazione è differente da quella che potrebbe essere predetta nel sangue come (PK/PD).
- Il paziente ha un'infezione sostenuta da batteri più o meno virulenti.

In definitiva con l'antibiogramma «*si fanno i conti senza..... l'oste*».

*Ci possiamo fidare del risultato per prevedere l' esito ?
SI!! Ma dobbiamo ricordarci che:*



la sensibilità correla con un esito favorevole:

- nei pazienti immunocompetenti
- con infezioni monomicrobiche
- se trattate con un singolo antibiotico
- se la somministrazione dell'antibiotico è parenterale
- in circostanze in cui la penetrazione del farmaco nel sito dell'infezione è buona

REGIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR Antibiotico-resistenza – Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



Spesso il microbiologo si sente dire dal clinico « Ho trattato il paziente con l'antibiotico X per tre giorni..... mi è arrivato l'antibiogramma che mi dice X = Resistente, ma il paziente sta bene e lo dimetterò tra due giorni.

Esiste la regola « 90 -60». (Rex e Pfaller, 2002):

- Un risultato **S** è associato ad una risposta terapeutica favorevole nel 90-95%
- Con un risultato **R**, nonostante tutto, il 60% dei pazienti risponde alla terapia

L'antibiogramma (AST) è indicato quando la sensibilità di un determinato microrganismo non è attribuibile con certezza: 

- Se tutti i principali microrganismi fossero « wild tipe» non avremmo bisogno di antibiogramma
- L'antibiogramma mette in evidenza solo le resistenze acquisite
- I sintomi clinici possono anche essere un fattore determinante per decidere se eseguire il test di suscettibilità (es. «prima infezione urinaria in paziente immunocompetente»).

L'antibiogramma non trova indicazione quando il ruolo del microrganismo è quello di contaminante o colonizzante.

REGIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR Antibiotico-resistenza – Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018 

Importante è differenziare i casi di colonizzazione dai casi d'infezione.

Colonizzazione: presenza di microrganismi sulle superfici cutanee e/o mucose e/o in altri siti senza evidenza d'invasione tissutale o di reazione infiammatoria loco regionale e/o sistemica e/o risposta dell'ospite. Infezione: presenza di microrganismi sulle superfici cutanee e/o mucose e/o in altri siti con evidenza di invasione tissutale e reazione infiammatoria; prevede l'invasione, la moltiplicazione del microrganismo e la risposta loco regionale e/o sistemica dell'ospite.

Tutto ciò che non rientra nelle definizioni d'infezione, deve essere considerato come colonizzazione.

Se il microbiologo non riceve dal clinico o non riesce ad integrare con ulteriori analisi (es. microscopico, esame citofluorimetrico) le informazioni sul ruolo del microrganismo cresciuto in coltura spesso il risultato è quello di un antibiogramma che consegna di fatto al clinico la «licenza» di somministrare l'antibiotico.

Pensiamo ad alcuni materiali biologici a rischio di possibili errori di interpretazione microbiologica, come:

- Urocoltura
- Materiale respiratori non protetti
- Tamponi di ulcere
- Materiali drenati

Occorre riflettere su questi aspetti per rivedere la nostra posizione su molti esami spesso richiesti senza il fondato sospetto che il paziente abbia in atto un processo infiammatorio di natura infettiva.

PATTO DI FIDUCIA TRA PROFESSIONISTI



Il Laboratorio di Microbiologia è di fatto un forte “induttore” di terapie antibiotiche ... alcune appropriate, altre meno.

Il referto microbiologico può costituire uno strumento formidabile di comunicazione per l’orientamento nell’interpretazione degli esiti, ma anche, uno strumento di formazione e di aggiornamento su specifiche problematiche.

REGIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell’SSR Antibiotico-resistenza – Parte Prima: Un’Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



Il patto tra microbiologo e clinico è

« mandami richieste appropriate, controlla che le procedure per la corretta raccolta dei campioni biologici siano corrette e riceverai in tempi brevi risposte chiare che ti aiuteranno a curare e a seguire bene il tuo paziente».

I saggi di sensibilità nel laboratorio di microbiologia clinica rappresentano la finalizzazione di un percorso diagnostico che nasce fuori dal laboratorio.



Rappresentano:

La gran parte dell'attività di comunicazione con l'utenza
(*clinici/pazienti/direzione aziendale/farmacia/ Agenzia Regionale*)

e sono altamente time-consuming

(*variabile a seconda del livello di specializzazione del laboratorio*)

Tutto il personale dirigente e tecnico del settore di batteriologia è coinvolto nell'eseguire, interpretare e comunicare le prove di sensibilità in vitro



Settore Sistemi Organizzativi e
Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



Si tratta di un'attività impegnativa che coinvolge tutto il personale. Senza una buona raccolta del campione e eccellente identificazione del ceppo batterico isolato, non avremo un buon antibiogramma.

Il dato microbiologico contiene molte informazioni. Data la crescente diffusione del fenomeno dell'**antibiotico-resistenza**, la **valutazione epidemiologica** dei ceppi circolanti nei pazienti ricoverati in una data realtà ospedaliera e dei loro livelli di sensibilità ai farmaci antimicrobici ha assunto un ruolo sempre più significativo rappresentando un supporto fondamentale per i clinici nella scelta dell'**antibiotico-terapia più appropriata**.



L'isolamento di batteri responsabili di patologie infettive e l'esecuzione di test di sensibilità in vitro (antibiogramma) sono effettuati, sia pur con metodiche diverse, in tutti i Laboratori di Microbiologia.



 Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR  Antibiotico-resistenza - Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018 

L'antibiogramma permette la valutazione del profilo di sensibilità di un ceppo microbico, **presunta causa della malattia**, verso uno o più antibiotici. I risultati degli antibiogrammi devono essere adeguatamente interpretati per guidare la scelta terapeutica. A tal fine contribuiscono, ovviamente, le informazioni cliniche e le conoscenze di farmacodinamica e farmacocinetica dei farmaci. Possiamo, quindi, instaurare una terapia «MIRATA»

Servono i saggi di sensibilità?



Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2008) **62**, Suppl. 2, ii105–ii114
doi:10.1093/ac/ckn357

JAC

Clinical implications of antimicrobial resistance for therapy
Alasdair P. MacGowan^{1,2*} on behalf of the BSAC Working Parties on Resistance Surveillance

Recent significant improvement in evidence supporting the clinical predictive value of phenotypic susceptibility testing

Appropriate therapy associated with improved outcomes in serious infections (e. g. BSI, pneumonia), community infections (e. g. UTI), and for specific pathogens (e. g. ESBL, *Pseudomonas*)

Central role of AST in dictating antimicrobial therapy and optimizing outcomes

 Settore Sistemi Organizzativi
Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica – 2018



Negli ultimi anni la letteratura ha fornito prove indiscutibili sull'efficacia dei test di sensibilità fenotipica nel predire l'esito della terapia. La maggior parte dei dati pubblicati sono basati su studi clinici osservazionali, retrospettivi o prospettici nei quali si va a valutare l'esito di una terapia appropriata (antibiotico – batterio Sensibile) o inappropriata (antibiotico - batterio Resistente). La terapia guidata dall'antibiogramma si dimostrata essere efficace nelle infezioni gravi ospedaliere, batteriemie e polmoniti in ICU. L'effetto della terapia antibiotica mirata sul dato dell'antibiogramma è più evidente quando i microrganismi isolati sono multiresistenti (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*).

La situazione si complica per gli *Enterococchi vancomicina-resistenti* forse per via dei fattori legati all'ospite che sono nelle batteriemie da Enterococchi particolarmente importanti.

Questi dati sottolineano l'importanza di avere studi epidemiologici ben strutturati per determinare la prevalenza della resistenza antimicrobica nella pratica clinica e la centralità del laboratorio di microbiologia nella lotta alle resistenze.

Servono i saggi di sensibilità?



REVIEW ARTICLE
CID 2007

A Systematic Review of the Methods Used to Assess
the Association between Appropriate Antibiotic
Therapy and Mortality in Bacteremic Patients

Justin C. McGeer,¹ Shayan E. Hosseini,² Lucina, et.,³ Jean M. Maki

| Appropriate antibiotic therapy definition characteristic | No. (%) of studies ^a |
|---|------------------------------------|
| Accounted for the in vitro antibiotic susceptibility test results | 40 (87) |
| Specified at what point during the patient's admission that antibiotic therapy was assessed | 37 (80) |
| Assessed empiric and/or definitive therapy ^b | 34 (74) |
| Recorded the time at which antibiotic susceptibility test results became available | 11 (24) |
| Included route of administration | 17 (37) |
| Included dosing of antibiotic | 16 (35) |
| Measured time to appropriate therapy | 2 (4) |

 Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica – 2018



Numerosi articoli indicano che una terapia guidata dall'antibiogramma ha un importante impatto sulla mortalità dei pazienti con batteriemia.

***L'importanza del dato microbiologico e
l'importanza di affidarlo in mani esperte !!*** 

- Scelta della terapia antibiotica
- Epidemiologia
locale/regionale/nazionale/europea
- Sorveglianza mirata ad interventi di
infection control (ceppi MDR/XDR)

Rossolini et al.

REGIONE PIEMONTE
Settore Sistemi Organizzativi e
Risorse Umane dell'SSR Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018 

Oggi è possibile, infatti, grazie alla disponibilità degli archivi informatici, elaborare l'insieme dei dati risultanti dagli antibiogrammi ed ottenere una serie di informazioni fondamentale per :

- Produrre una fotografia, costantemente aggiornata, dell'efficacia *in vitro* dei singoli antibiotici sulle diverse specie batteriche, utile per la prescrizione di terapie empiriche, ma anche per la produzione di linee guida;
- Tenere sotto controllo l'andamento delle resistenze batteriche (trend di attività di un antibiotico nel tempo);
- Evidenziare specifiche situazioni epidemiologiche (isolamenti e dati di sensibilità), sia interne, costruendo una mappa epidemiologica dei reparti, che esterne confrontando i risultati della propria struttura con diverse istituzioni o aree geografiche;
- Valutare il peso della pressione selettiva degli antibiotici, attraverso il confronto tra patogeni isolati in ospedale o sul territorio;
- Indentificare possibili errori "sistematici" nell'effettuazione dell'antibiogramma, dal confronto dei propri risultati con i dati di letteratura o di quelli di istituzioni simili ("controllo di qualità");
- Verificare l'evoluzione epidemiologica dei ceppi resistenti per meccanismi di resistenza noti (ESBL, VISA, ...);
- Identificare situazioni che richiedono uno studio epidemiologico per approfondire i meccanismi di diffusione di ceppi resistenti e individuare possibili interventi;

Ogni realtà ospedaliera dovrebbe raccogliere i dati microbiologici ed elaborare report periodici.

I saggi di sensibilità in vitro servono solo se

- sono accurati
- si esplicitano in un referto chiaro, leggibile e che completa le informazioni cliniche
- sono rapidi ...altrimenti



REGIONE PIEMONTE
Settore Sistemi Organizzativi e
Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



Ci vogliono i microbiologi!

L' intrinseca variabilità biologica della sensibilità microbica agli antibiotici rappresenta la principale limitazione dei test di sensibilità, infatti, una serie di fattori intrinseci al singolo microrganismo possono influire sul risultato del test, anche se non sono intervenute variabili esterne, oppure le performance analitiche possono differire da microrganismo a microrganismo all'interno della stessa specie.



L'antibiogramma deve essere eseguito con metodiche validate (i documenti del CLSI devono costituire un riferimento indispensabile), effettuando costanti Controlli Interni di Qualità e partecipando a programmi di Valutazione Esterna di Qualità.

REGIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell' SSR Antibiotico-resistenza – Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



Per eseguire un antibiogramma accurato e riproducibile bisogna fare i conti con la variabilità biologica dei singoli microrganismi.

Bisogna controllare tutti i fattori tecnici mediante rigorosa standardizzazione di tutte le fasi analitiche e post-analitiche (**purezza e concentrazione dell' inoculo batterico**, composizione del terreno, reattivi, condizioni di incubazione, metodi di lettura e di interpretazione dei risultati). Informazioni dettagliate ed aggiornate al riguardo della esecuzione dei test di sensibilità e della interpretazione dei risultati vengono fornite dalla CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute), già NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), e dall EUCAST (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing).

Tutti i sistemi utilizzati per le prove di sensibilità in vitro, **che non sono il metodo di riferimento**, e che vengono utilizzati nei laboratori di microbiologia, richiedono studi clinici (ossia studi di performance) per dimostrare la loro equivalenza al metodo di riferimento al fine di ottenere l'approvazione della FDA (United States Food and Drug Administration) negli Stati Uniti o la marcatura CE.



REGIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR Antibiotico-resistenza – Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018

La FDA e l'ISO hanno criteri di performance simili e molto rigidi che i sistemi per l'antibiogramma con marchio IVD devono soddisfare per ottenere l'autorizzazione o la registrazione, indipendentemente dalla metodologia utilizzata.

≥ 90% di Concordanza Essenziale (CE, ossia, la frequenza percentuale con cui la **MIC** ottenuta con il metodo del test è +/- 1 diluizione al raddoppio rispetto al metodo di riferimento).

≥ 90% di Concordanza di Categoria (CC, ossia, la frequenza percentuale con cui l'interpretazione di sensibile (S), intermedio (I) o resistente (R) della MIC ottenuta con il metodo del test corrisponde all'interpretazione S, I o R del metodo di riferimento).

≤ 3.0% di Major Error sulla base dei soli isolati sensibili (i Major Error sono gli isolati che risultano **“S” con il metodo di riferimento** e **“R” con il metodo del test**).

La FDA e l'ISO hanno tassi VME (**Very Major Error**) accettabili diversi (i VME sono isolati che risultano **“R” con il metodo di riferimento** e **“S” con il metodo del test**): i criteri regolatori della FDA richiedono un tasso VME compreso tra il 7.5% ed il 1.5% per l'intervallo di confidenza al 95%; l'ISO richiede VME ≤ 3.0% in base ai soli isolati resistenti.

Cosa deve fare il microbiologo per assicurare la qualità del risultato



1. Controlla AST ogni 15 g. con nuovo lotto CQ
2. Controlla precisione ed accuratezza
3. Partecipa a programmi di VEQ (controlli esterni di qualità)
4. Effettua la formazione del personale
5. Monitora le manutenzioni
6. Aggiorna il Sistema Esperto
7. Controlla il Sistema informatico
8. Rende chiaro il referto
9. Verifica che i dati correlino con la clinica
10. Esegue AST ed interpreta con EUCAST



Valutazione della MBC

MIC

128 64 32 16 8 4 1 0.1 0.01 0.001 0 controllo

CRESCITA BATTERICA

CRESCITA BATTERICA

NESSUNA CRESCITA

MBC

MIC

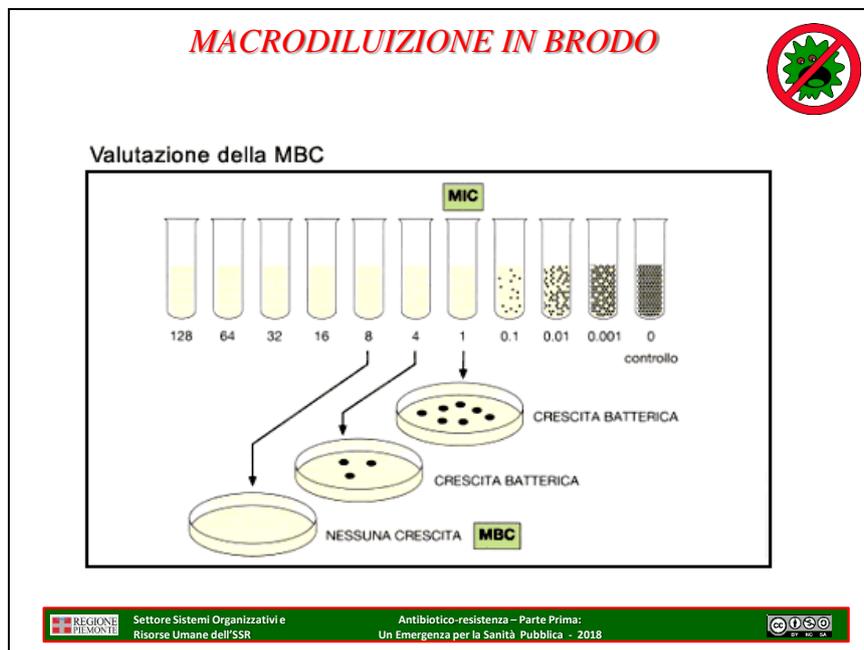
MIC (Concentrazione Minima Inibente) è una misura quantitativa dell'attività di un antibiotico verso un determinato batterio. Definita come la più bassa concentrazione di antibiotico in grado di inibire la crescita batterica visibile. Si esprime in $\mu\text{g/ml}$ (mg/l)

Nel nostro caso MIC = 1 mg/L e MBC = 8 mg/L

REGIONE PUGLIA
Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza - Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018

La definizione di MIC fornita dallo standard CLSI M07-A10² è un po' più complicata : "La MIC 'vera' si colloca tra la più bassa concentrazione del test in grado di inibire la crescita del microorganismo (ossia, la lettura della MIC) e la concentrazione del test successiva inferiore. Se, per esempio, sono state utilizzate diluizioni doppie e la MIC è pari a 16 $\mu\text{g/mL}$, la MIC "vera" sarebbe compresa tra 16 $\mu\text{g/mL}$ e 8 $\mu\text{g/mL}$ ".



A una serie di provette contenenti il terreno di coltura (brodo di Mueller-Hinton) vengono aggiunte diluizioni scalari al raddoppio dell'antibiotico da saggiare.

Ogni provetta viene poi inoculata con una quantità standard (10^5 - 10^8 CFU/ml) del microorganismo in esame.

Dopo 18 ore di incubazione, le provette vengono controllate per la presenza di una crescita batterica visibile (torbidità): l'assenza di torbidità visibile del terreno di coltura denota un'inibizione completa della crescita microbica.

La MIC sarà la minima concentrazione di antibiotico che inibisce la replicazione. Occorre osservare la torbidità; la prima provetta che risulta limpida dopo la successione di provette torbide identifica la MIC.

Se piastriamo le provette limpide vedremo che sulle piastre i batteri cresceranno; la piastra dove non vedo crescita o comunque osservo una riduzione del 99% della carica batterica rappresenta l'MBC cioè la Minima Concentrazione Battericida.

Non sempre MIC e MBC coincidono: azione batteriostatica non battericida.

DILUIZIONE IN AGAR

L'antibiotico è incorporato nell'agar in concentrazioni al raddoppio

AS USED BY THE CDC (CENTERS FOR DISEASE CONTROL & PREVENTION)
... inocula were prepared by suspending the freshly grown bacteria in sterile normal saline and adjusted to a 0.5 McFarland standard (4x10⁸ CFU/ml). The Steers Replicator was used to inoculate the agar with a uniform density of 10⁷ CFU/spot. The agar was then inoculated with Mueller-Hinton agar (BBL Microbiology Systems) with various concentrations of antibiotic agents and incubated at 35°C in ambient air.

www.jeancoobacterSpain.com

REGIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR Antibiotico-resistenza - Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018

Brodo diluizione e agar diluizione sono le metodiche di riferimento

Vantaggi

- Con la brodo diluizione abbiamo la MIC, la MBC e i test di sinergia
- Alta riproducibilità “gold standard”
- Sono i veri test di conferma
- Costano poco

Svantaggi

- Sono test lunghi e difficili da preparare
- Sono test da Centri di Riferimento

Nella routine del laboratorio di microbiologia clinica si utilizzano **diverse tecniche standardizzate** che permettono di definire la categoria di appartenenza (S-I-R) di quel ceppo per l'antibiotico saggiato. 

- **Metodi manuali**
→
 - Metodi in agar diffusione
 - Kirby-Bauer; E-test
 - Gallerie ATB crescita in funzione di concentrazioni antibiotiche
- **Metodi automatici**
in microdiluzione con analisi cinetica della crescita batterica
→
 - Vitek 2
 - Microscan
 - Phoenix

 Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR  Antibiotico-resistenza – Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018 

Le metodiche che possono essere utilizzate dal Microbiologo Clinico per valutare la sensibilità microbica agli antibiotici sono:

FENOTIPICHE (basate sulla attività antimicrobica ed utilizzo dei breakpoints)

QUANTITATIVE (determinazione di MIC)

- Microdiluzione in brodo (gold standard) Manuale od automatizzato
- Agar diluizione (gold standard)
- Epsilon test (E-test) (manuale)

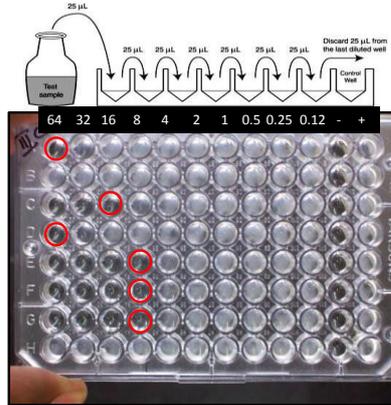
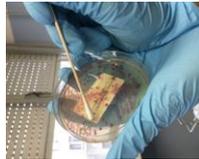
QUALITATIVE (classe di sensibilità)

- Kirby-Bauer o diffusione in agar (manuale)

GENOTIPICHE

(basate sulla ricerca di un gene di resistenza o di un suo prodotto) mecA, blaZ, vanA, vanB, PBP2a,

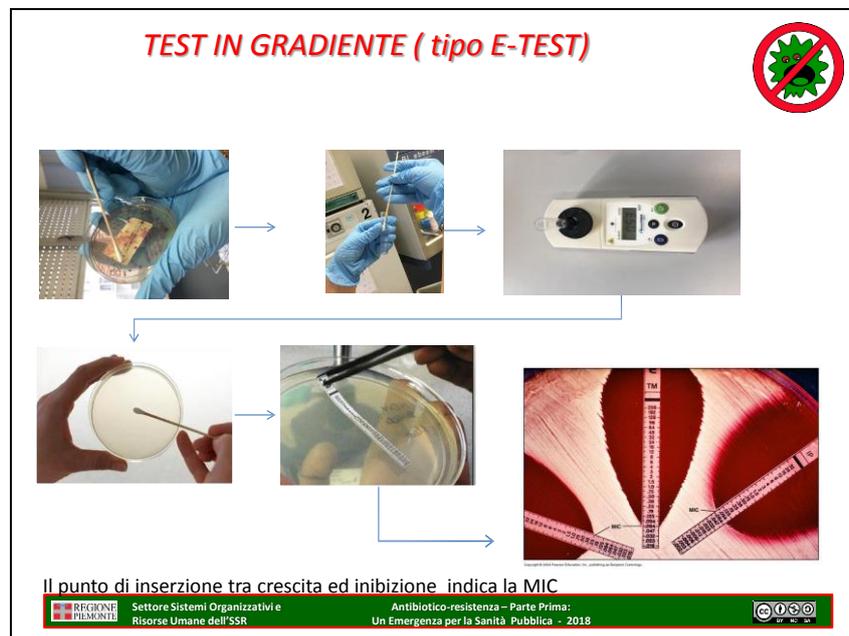
MICRODILUZIONE IN BRODO



Settore Sistemi Organizzativi e
Risorse Umane dell' SSR

Antibiotico-resistenza - Parte Prima:
Un' Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018





In una striscia di plastica inerte e non porosa viene riportata , su una faccia, una scala di lettura graduata corrispondente alle concentrazioni crescenti di antibiotico e sull'altra faccia viene stabilizzato l'antibiotico liofilizzato. L'antibiotico diffonde nell'agar.

Vantaggi

- Possibili i test di sinergia.
- una serie di fattori legati all'individuo possono essere responsabili del fatto che, i valori di un parametro analitico possano variare nello stesso individuo (anche se non sono intervenute patologie), oppure siano differenti da soggetto a soggetto.
- Correlano con i test di riferimento per (*aerobes, anaerobes, pneumococci, streptococci, Haemophilus spp, Neisseriaceae*).
- Vengono utilizzati per confermare gli AST automatici.
- Risentono poco della qualità dell'inoculo.

Svantaggi

- Sono test di seconda linea.
- NON sono facili da leggere.
- Non devono essere usati su alcune combinazioni antibiotico-microorganismo perché sovrastimano la MIC (es. piperacilli-tazobactam, colistina, etc.).

>80% dei Laboratori utilizza sistemi automatizzati

REGIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi Risorse Umane dell' SSR Antibiotico-resistenza - Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018

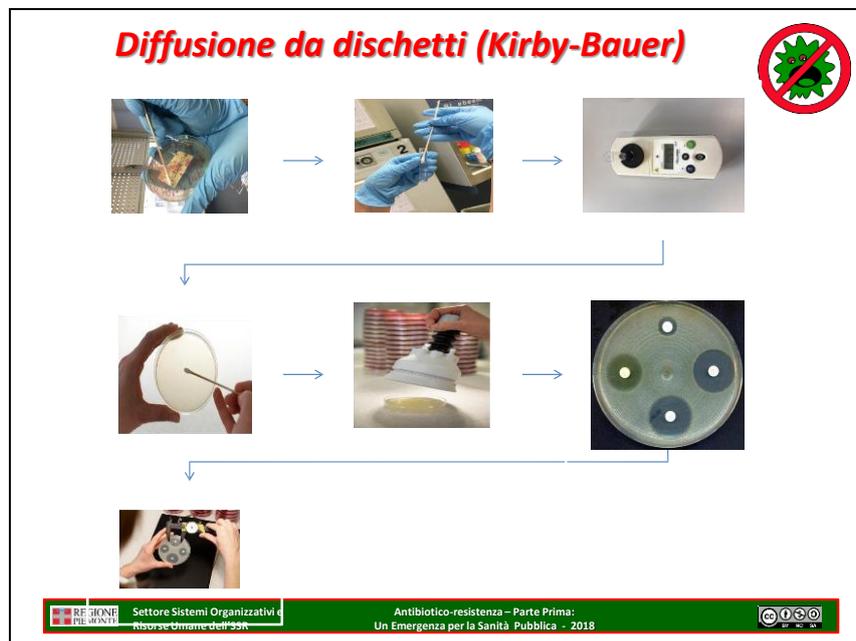
Vantaggi

- Riduzione del lavoro
- Rapidità di refertazione
- Possibilità di estrazione dati per epidemiologia
- Presenza di un software di controllo dei risultati « Sistema Esperto»

Svantaggi

- Scarsa flessibilità: possibilità di saggiare pannelli “standardizzati”
- Problemi con microrganismi a lenta crescita
- Il risultato alcune volte non riporta il valore misurato della MIC perché sono presenti nel pannello solo le concentrazioni critiche* di antibiotico.

* Le concentrazioni che permettono di identificare le categorie interpretative

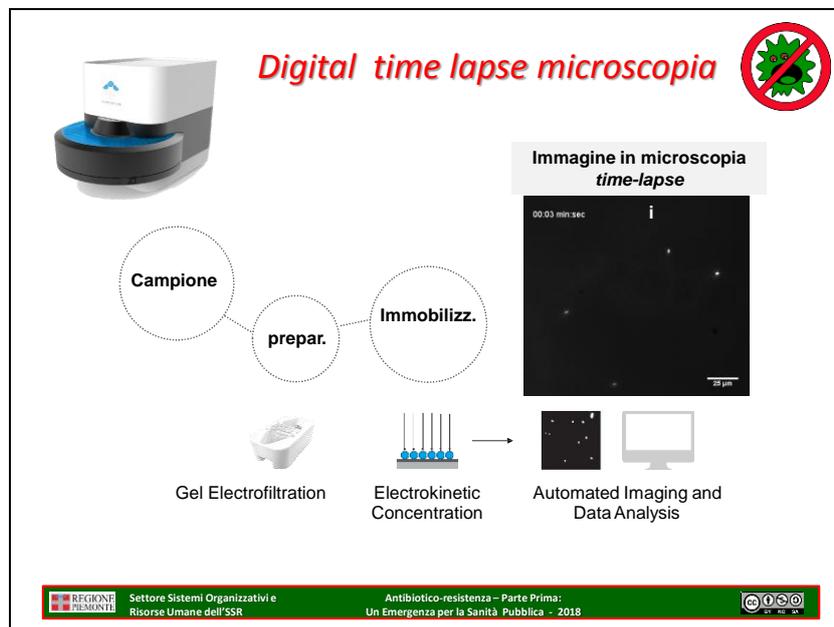


Vantaggi

- Piace ai clinici perchè le categorie S/I/R sono chiare. (NON c'è la MIC)
- Test semplice e non richiede grandi attrezzature
- Sono automatizzabili
- Disponendo di dischetti particolari si possono avere informazioni aggiuntive sui meccanismi di resistenza

Svantaggi

- Gli aloni di alcuni antibiotici ad alto peso molecolare (vancomicina, colistina e macrolidi) si leggono con difficoltà
- Non vanno bene per i microrganismi «esigenti»



Si tratta di una metodica “digital time lapse microscopia” combina la FISH (*Fluorescent in situ hybridization*), una tecnica citogenetica che rileva e localizza la presenza o l'assenza di specifiche sequenze di DNA mediante l'utilizzo di specifiche delle sonde a fluorescenza che si legano in modo estremamente selettivo ad alcune specifiche regioni del genoma batterico con l'analisi morfocinetica cellulare per l'esecuzione di un antibiogramma qualitativo in tempi rapidi.

Vantaggi

- Test è semplice e adatto anche alla gestione in POCT (Point of Care Test). Necessita di 5 minuti di manualità per la preparazione e di personale anche poco esperto.
- Risultati in tempi rapidi 6 h.
- Si presta a valutazioni in termini di cost-effectiveness.

Svantaggi

- Performance in corso di valutazione
- Costi molto elevati.

I test di sinergismo possono dare informazioni spendibili in termini clinici e medico legali

Etest methods

Time-kill assays

Double-disk

Ci vogliono metodiche più semplici, rapide e standardizzate

Checkerboard assay

REGIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell' SSR Antibiotico-resistenza - Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018

Il sinergismo è l'azione combinata di più farmaci che, assunti insieme, accrescono le proprie specifiche potenzialità.

- Permette di ridurre la MIC di un farmaco A in presenza di un farmaco B
- L'associazione può rendere efficace un farmaco non attivo rispetto ad un dato microrganismo (aminoglicosidi vs *Enterococcus spp*, rifampicina vs gram-)
- Clinicamente rilevante solo se la MIC in associazione è nel «range» raggiungibile nella pratica clinica
- Migliora l'efficacia di una terapia, incrementa il rapporto AUC/MIC o T/MIC o Cmax/MIC
- Può rendere un farmaco battericida (es. cotrimossazolo)

I test di sinergia vengono anche utilizzati dal microbiologo per mettere in evidenza alcuni meccanismi di resistenza.

| <i>Klebsiella pneumoniae</i> KPC | | | |
|----------------------------------|------------------|----------------|------------------|
| ANTIBIOTICO | MIC mg/L (S/I/R) | ANTIBIOTICO | MIC mg/L (S/I/R) |
| Amoxi/Clav | > 16 R | Amp/Sulb | > 32 R |
| Pip/Tazo | > 64 R | Pip/Tazo | > 128 R |
| Ceftazidime | > 32 R | Ceftazidime | > 128 R |
| Cefepime | > 32 R | Cefepime | > 64 R |
| Ertapenem | > 4 R | Ertapenem | > 4 R |
| Imipenem | > 8 R | Imipenem | > 16 R |
| Meropenem | > 8 R | Meropenem | > 64 R |
| Amikacina | > 32 R | Amikacina | > 16 R |
| Gentamicina | 4 I | Gentamicina | 2 S |
| Ciprofloxacina | > 2 R | Ciprofloxacina | > 2 R |
| Tigeciclina | 4 R | Tigeciclina | 1 S |
| Colistina | ≤ 0.5 S | Colistina | ≤ 0.5 S |
| SXT | > 160 R | SXT | > 160 R |

Sistema automatico Microdiluzione in brodo (sistema di riferimento)

Antibiogrammi eseguiti con metodiche differenti possono avere risultati non sovrapponibili.

Il laboratori di microbiologia clinica devono utilizzare più di un sistema per valutare alcune combinazioni specie/antibiotico.

I laboratori di riferimento devono poter eseguire, quando necessario, metodiche standard di riferimento, test di sinergia e test di batteriocidia.

Devono diffondersi metodiche rapide, in Biologia Molecolare, in grado di rilevare i determinanti genici di resistenza da utilizzarsi nei pazienti critici e nelle situazioni in cui si rende necessaria intraprendere una terapia antibiotica il più rapidamente possibile «mirata».



**Test Genotipici...
L'antibiogramma genotipico**

Metodi di determinazione dei determinanti di resistenza:

- Single and multiplex PCR
- Real-time PCR
- DNA sequencing
- Hybridisation-based techniques
- Liquid-phase microarray
- Solid-phase microarray

RECHIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR Antibiotico-resistenza – Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018

Sono disponibili molti sistemi commerciali in grado di rilevare rapidamente i determinanti di resistenza

Conferma dei test fenotipici

- Diversi studi hanno descritto l'uso della PCR per confermare la presenza di KPC in Enterobacteriaceae dopo il rilevamento della resistenza da parte dei test fenotipici.
- Il test fenotipici per rilevare la presenza di Carbapenemasi vengono sempre più spesso affiancati o sostituiti da test genotipici in Biologia Molecolare che sono in grado di rilevare in tempi brevi (< 1 ora) la maggior parte dei geni di resistenza di interesse clinico.

Predire il fallimento terapeutico

- Gli enterobatteri mostrano spesso sensibilità con MIC basse per molti antibiotici beta-lattamici, ma la terapia con questi antibiotici falliscono in quanto alcuni meccanismi di resistenza come ESBL e AmpC vengono espressi ad alti livelli solo quando indotti da uno stimolo ambientale, assente nell'impostazione sperimentale di un test fenotipico.
- Le metodiche molecolari che rilevano la presenza del gene *mecA* e *mecC* nel ceppo coinvolto hanno un potere predittivo positivo dell'insuccesso terapeutico nei pazienti con infezioni da *Staphylococcus aureus* aureus trattati con β -lattamici rispetto a qualsiasi AST in vitro

Sebbene, però, sia riconosciuto che pochi test soddisfano tutti i seguenti criteri, le caratteristiche ideali di un test diagnostico molecolare sono:

- Sia disponibile 24 ore al giorno, 7 giorni alla settimana, con risultati disponibili entro non più di poche ore.
- Sia sufficientemente semplice da consentire il test anche da personale non esperto.
- Abbia un prezzo ragionevole che si traduca in risparmi sui costi dimostrabili, riduzione dell'uso di antibiotici, miglioramento dell'esito clinico o benefici per la salute pubblica (non solo costi); ad esempio, risparmi sui costi e benefici per la salute pubblica possono essere attribuibili a una combinazione di uso ridotto di agenti antibatterici empirici, cicli più brevi di terapia antimicrobica, spese farmaceutiche più basse.
- Contribuisca a ridurre i tempi di ospedalizzazione abbia esiti clinici migliori e / o uso di un minor numero di altri test diagnostici.
- Sia in grado di quantificare o semi-quantizzare per aiutare a distinguere i colonizzatori dagli organismi infettanti

Test Genotipici....verso test fenotipici



1. L' assenza di un marker di resistenza non significa necessariamente che il microorganismo sia suscettibile dal momento che esistono centinaia di geni di resistenza e possibili meccanismi di resistenza.
2. La presenza di un gene di resistenza non sempre correla con la resistenza fenotipica dal momento che i geni possono essere espressi in maniera incompleta o non essere espressi affatto. Inoltre, ESBL idrolizzano in maniera variabile i vari target.
3. La presenza di un gene di resistenza non fornisce informazioni sulla sensibilità e sulla MIC che svolge invece un ruolo fondamentale nel percorso terapeutico in alcune situazioni cliniche.

***CHE COSA CI DEVE SUGGERIRE
L'ANTIBIOGRAMMA ?***



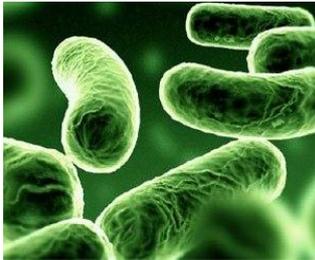
STANDARD !!!!!!!

un messaggio forte e chiaro per i laboratori!! 

- Adottare valori standard e monitorarli ha lo scopo di poter valutare le performance del laboratorio in termini di organizzazione, risorse e qualità della prestazione.
- Monitorare periodicamente e con regolarità gli standard consente di adottare efficacemente eventuali azioni correttive.
- L'adozione di standard permette a ciascun laboratorio di valutare non solo le proprie performance ma di avviare programmi di confronto sistematico con altri laboratori.

REGIONE Umbra
Settore Sistemi Organizzativi e
Risorse Umane dell'USR Antibiotico-resistenza - Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018 

L'antibiogramma 2 parte



Dr. Andrea Rocchetti
ASO Alessandria

REGIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR Antibiotico-resistenza - Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



Domande frequenti 

Avete sbagliato... c'è qualche cosa che non va!!!. « Ho ricevuto l'antibiogramma ma non avete testato il cefamandolo» è possibile farlo?

Non è possibile! «Avete isolato uno *Stenotrophomonas maltophilia* ma vedo refertato solo il Trimethoprim – sulfamethossazolo»

Sto vedendo un paziente febbrile dimesso dall'ospedale 15 giorni fa .Sospetto una recidiva di infezione delle vie urinarie. Ho in mano l'antibiogramma . *Proteus mirabilis* 10⁶UFC/ml . Devo scegliere l'antibiotico con la MIC più bassa?

REGIONE PIEMONTE | Settore Sistemi Organizzativi | Risorse Umane dell'SSR | Antibiotico-resistenza – Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018 | 

Antibiotici equivalenti – Antibiotici che, rispetto al farmaco di riferimento, di norma hanno risultati con una interpretazione simile ed una efficacia clinica comparabile nei confronti della categoria di microrganismi in esame, per cui non è necessario saggiarli in duplicato.

Non essendo possibile testare tutti gli antibiotici disponibili , di norma vengono previste nei diversi profili dell'antibiogramma le molecole effettivamente indispensabili, oppure quelle "di riferimento", la cui valutazione può essere predittiva, dell'attività di altre molecole non testate (es. l'attività della **Cefoxitina** nei confronti di uno stafilococco è predittiva del comportamento delle penicilline associate ad inibitore, delle cefalosporine e dei carbapenemi perché è in grado di rilevare il fenotipo espressa dai geni *mec A* e *mec C* della meticillino-resistenza).

Alcune molecole possono essere testate ma non refertate (mascheramento) per favorire una migliore appropriatezza della terapia antibiotica evitando il ricorso a molecole di ultima generazione e/o a spettro d'azione più ampio quando ve ne siano altre disponibili che presentino pari efficacia ma minor impatto sulle resistenze.

Diapositiva 3

| <i>1 Klebsiella pneumoniae KPC</i> | | <i>2 Klebsiella pneumoniae MBL</i> | |
|------------------------------------|------------------|------------------------------------|------------------|
| ANTIBIOTICO | MIC mg/L (S/I/R) | ANTIBIOTICO | MIC mg/L (S/I/R) |
| Amoxi/Clav | > 16 R | Amp/Sulb | > 32 R |
| Pip/Tazo | > 64 R | Pip/Tazo | > 128 R |
| Ceftazidime | > 32 R | Ceftazidime | > 128 R |
| Cefepime | > 32 R | Cefepime | > 64 R |
| Ertapenem | > 4 R | Ertapenem | > 4 R |
| Imipenem | 8 I | Imipenem | 4I |
| Meropenem | > 8 R | Meropenem | 1S |
| Amikacina | > 32 R | Amikacina | > 16 R |
| Gentamicina | 4 I | Gentamicina | 2 S |
| Ciprofloxacina | > 2 R | Ciprofloxacina | > 2 R |
| Tigeciclina | 4 R | Tigeciclina | 1 S |
| Colistina | ≤ 0.5 S | Colistina | ≤ 0.5 S |
| SXT | > 160 R | SXT | > 160 R |

Antibiotipo di *Klebsiella pneumoniae* resistente ai Carbapenemi.

- Fenotipo di resistenza di tipo KPC
- Fenotipo di resistenza di tipo MBL (metallo β lattamasi)

Diapositiva 4

| 3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> +deficit porine | | 4 <i>Klebsiella pneumoniae</i> OXA 48 | |
|--|------------------|---------------------------------------|------------------|
| ANTIBIOTICO | MIC mg/L (S/I/R) | ANTIBIOTICO | MIC mg/L (S/I/R) |
| Amoxi/Clav | > 16 R | Amp/Sulb | > 32 R |
| Pip/Tazo | 1S | Pip/Tazo | 32 R |
| Ceftazidime | > 32 R | Ceftazidime | 2S |
| Cefepime | > 32 R | Cefepime | 1S |
| Ertapenem | > 4 R | Ertapenem | > 2 R |
| Imipenem | 1S | Imipenem | 1S |
| Meropenem | 2S | Meropenem | 1S |
| Amikacina | > 32 R | Amikacina | > 16 R |
| Gentamicina | 4 I | Gentamicina | 2 S |
| Ciprofloxacina | > 2 R | Ciprofloxacina | > 2 R |
| Tigeciclina | 4 R | Tigeciclina | 1 S |
| Colistina | ≤ 0.5 S | Colistina | ≤ 0.5 S |
| SXT | > 160 R | SXT | > 160 R |

Antibiotipo di *Klebsiella pneumoniae* resistente ai Carbapenemi.

- Fenotipo di resistenza di tipo ESBL+ deficit di porine
- Fenotipo di resistenza di tipo OXA

ALCUNI NON VEDONO

ALCUNI VEDONO LA STESSA COSA IN COSE DIVERSE

NON TUTTI VEDIAMO LA STESSA COSA ALLO STESSO MODO



REGIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell' SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



Interpretazione “critica” dell’antibiogramma 

1. La MIC
2. La MBC
3. Le note interpretative
4. Il Killing quotient
5. Le «Expert rules»



REGIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR Antibiotico-resistenza - Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018 

Interpretare l’antibiogramma è molto più che prendere atto della sensibilità o resistenza di un microorganismo ad un determinato antibiotico. Interpretare l’antibiogramma prevede un ragionamento.

L’insieme dei risultati dei test in vitro dei singoli antibiotici deve essere vista come una « mappa» per orientarsi sulla scelta della terapia antibiotica.

L’«antibiotipo» rappresenta l’espressione fenotipica dei meccanismi di resistenza del singolo ceppo isolato. Per esempio i ceppi di enterococco vancomicina-resistenti appartengono a quattro differenti fenotipi di glicopeptide-resistenza: A, B, C e D. Il fenotipo *van A* è il più frequente: questi geni sono spesso localizzati in un trasposone e quindi trasferibili facilmente ad altre specie enterococciche per coniugazione; si tratta di una resistenza inducibile dall’esposizione ai glicopeptidi. Il fenotipo di resistenza *vanB* determina resistenza alla vancomicina ma non alla teicoplanina; è anch’esso inducibile e trasferibile. I determinanti della resistenza *van C* e *van D* sono costitutivi, cioè localizzati nel cromosoma batterico e raramente trasferibili.

La lettura e la comprensione dell’antibiogramma, e quindi la sua interpretazione, si basa sul riconoscimento del possibile meccanismo che sta alla base della resistenza e che può interessare con la sua espressione anche farmaci non testati o che al momento risultano ancora sensibili.

Facciamo un esempio: la presenza di *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente MRSA (oxacillina resistenti, cefazolina resistenti) determina la resistenza a tutti i beta-lattamici ad esclusione delle nuove molecole (Ceftarolina o Ceftobiprol) o come nel caso di isolamento di *Klebsiella pneumoniae* produttore di carbapenemasi o CRE (confermata con test fenotipico) dove alcuni Carbapenemi possono rientrare nel range di sensibilità.

È importante quindi essere aggiornati sulla resistenza agli antibiotici ed imparare a riconoscere i principali fenotipi di resistenza, le resistenze naturali e le combinazioni di antibiotici-organismi per le quali c’è un’elevata probabilità di sviluppare una resistenza in corso di terapia.

I sistemi automatici per l’esecuzione degli antibiogrammi possiedono all’interno del Software Gestionale un Sistema Informatico Esperto che interpreta i dati di lettura.

Le Regole introdotte nel Sistema Esperto permettono di rilevare, in maniera continuamente aggiornata, tutti i più noti e recenti meccanismi di resistenza.

MIC = Numero magico ? 

1. I valori di MIC consentono un miglior rilevamento **della resistenza insorgente**
2. I risultati di MIC **possono influenzare** la scelta dell'antibiotico in grado di offrire la migliore risposta clinica
3. **Può essere utile** ma bisogna comprenderne il significato ed i casi in cui è realmente indispensabile:
 - condizioni del paziente,
 - presenza di microrganismi multiresistenti
 - altre infezioni difficili per sede di infezione
 - Endocardite
 - osteomielite



 Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR Antibiotico-resistenza – Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018 

La disponibilità della MIC è molto utile ma deve essere interpretata alla luce delle conoscenze di farmacocinetica e farmacodinamica e dell'epidemiologia locale. Spetta al microbiologo spiegarne il significato.

Serve la MIC o complica solo la vita al clinico?

Antimicrobial Agents
SUSCEPTIBILITY AND CHEMOTHERAPY

Clinical Therapeutics

Impact of Vancomycin MIC on Treatment Outcomes in Invasive Staphylococcus aureus Infections

Kyoung Hee Song¹, Wonil Kim¹, Chang Jung Kim^{1*}, Seung Eun Choi¹, Yun Jung Choi¹, Seung Ho Park¹, Joonik Ahn¹, Hee-Chang Song¹, Kyoung Hee Park¹, Seok Hee Song¹, Baek Yoon¹, Dong-Won Kim¹, Jongsik Hwang¹, Chang Gook Lee¹, Sun Hee Park¹, Yoo Gyoung Kwak¹, Kyu Suk Kim¹, Seung Yeon Park¹, Younsun Park¹, Hyeon S Lee¹, Young Seem Lee¹, Kiyoung Ahn¹, Hyun Heehee Shim¹, Hyeon Seung Song¹

Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials

SHORT REPORT Open Access

High fluoroquinolone MIC is associated with fluoroquinolone treatment failure in urinary tract infections caused by fluoroquinolone susceptible Escherichia coli

Phyo Rattanaumpakorn^{1,2,3}, Irving Nachamkin⁴, Warren B. Bliemel⁵, Jason A. Roy⁶, Joshua P. Motylay⁷, Theodor E. Zabalski⁸, Tobias L. Zuber^{9,10} and on behalf of the CLIC prevention operations program

AAC 2013

Impact of the MIC of Piperacillin-Tazobactam on the Outcome of Patients with Bacteremia Due to Extended-Spectrum-β-Lactamase-Producing Escherichia coli

Phil Karamanolis¹, Eleni Lignos², Christos Megas³, Angelos Mouton⁴, Petros Petrosidis⁵, Jozsef Heltay⁶, et al.

| MIC PIP/TAZO | 30-day mortality |
|--------------|------------------|
| ≤2 mg/L | 0/18 (0%) |
| 4 - 8 mg/L | 3/10 (30%) |
| >8 mg/L | 4/7 (57%) |

I/R

The Clinical Significance of Vancomycin Minimum Inhibitory Concentration in Staphylococcus aureus Infections: A Systematic Review and Meta-analysis

CID 2012

Y. Li, M. H. Li, F. Li, et al.

Mortality 15 studies: 3.64 (1.14 - 12.37)

Treatment failure 11 studies: 2.89 (1.60 - 4.51)

MIC ≤1 mg/L, MIC >1 mg/L

REGIONE PUGLIA
Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018

Numerosi studi suggeriscono un'associazione tra i valori elevati MIC all'interno della categoria SENSIBILE e gli effetti negativi sull' outcome occorrono ulteriori studi. La maggior parte degli studi sono però retrospettivi e con pochi casi.

SARA e la **MIC**

antibiotico

MIC

Dosaggi di antibiotico che correlano con esiti favorevole

Microrganismo libero da resistenze

REGIONE PIEMONTE
Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018

E' evidente che più la MIC espressa dalla combinazione microrganismo/antibiotico è alta e distante dalla rispetto alla MIC espressa dai «**ceppi selvaggi**» (esenti da meccanismi di resistenza per quell'antibiotico) e più sarà difficile per l'antibiotico superare le resistenze messe in campo dal microrganismo.

Ma allora, il medico deve scegliere la molecola antibiotica con la MIC più bassa?

LA RISPOSTA è NO !!!!!!!

NON sempre la MIC più bassa identifica l'antibiotico più efficace.

Bisogna introdurre il concetto di breakpoint

La conversione dei valori di MIC in «*CATEGORIE INTERPRETATIVE DELL'EFFICACIA TERAPEUTICA*» viene effettuata facendo riferimento a specifici valori limite denominati

BREAKPOINT

Che sono stabiliti da COMITATI Nazionali ed Internazionali



REGIONE PUGLIA Settore Sistemi Organizzativi Risorse Umane dell'SSR Antibiotico-resistenza - Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018

I risultati dei nostri test in vitro vengono definiti come endpoints.

I diametri degli aloni di inibizione (Kirby-Bauer) ed valori di MIC (brodo/agar diluizione, E-test) devono essere **interpretati** mediante valutazione comparativa **con valori soglia o breakpoints**.

I breakpoints vengono stabiliti, per ciascuna combinazione specie-antibiotico, da **Comitati Nazionali od Internazionali quali CLSI ed EUCAST**.

I breakpoints variano e vengono aggiornati periodicamente.

I diversi standard a valenza nazionale utilizzati in vari paesi europei per l'interpretazione dell'antibiogramma sono stati unificati e armonizzati in un unico sistema europeo ad opera dell'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

I laboratori di microbiologia italiani adottano dal 2012 le nuove Linee guida EUCAST, in considerazione del fatto che quello europeo è l'unico standard ufficialmente riconosciuto dalla European Medicines Agency (EMA), l'istituzione che autorizza l'immissione dei farmaci in tutti i Paesi dell'Unione Europea stabilendone anche la posologia di riferimento.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters

Version 8.0, valid from 2018-01-01

This document should be cited as "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>."

| Content | Page | Additional information |
|---|------|--|
| Notes | 1 | |
| Guidance on reading EUCAST Breakpoint Tables | 2 | |
| Changes | 3 | |
| Enterobacteriaceae (new taxonomy: Enterobacterales) | 5 | Includes all Enterobacterales |
| <i>Pseudomonas</i> spp. | 10 | |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 14 | Link to Guidance Document on <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> |
| <i>Burkholderia cepacia</i> | - | Link to Guidance Document on <i>Burkholderia cepacia</i> group |
| <i>Acinetobacter</i> spp. | 15 | |
| <i>Staphylococcus</i> spp. | 19 | |
| <i>Enterococcus</i> spp. | 24 | |
| <i>Streptococcus</i> groups A, B, C and G | 29 | |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 34 | |
| Viridans group streptococci | 40 | |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 45 | |
| <i>Moraxella catarrhalis</i> | 50 | |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 54 | |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | 58 | |
| Gram-positive anaerobes | 62 | |
| <i>Clostridium difficile</i> | 67 | |
| Gram-negative anaerobes | 68 | |
| <i>Haemobacter pylori</i> | 72 | |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 73 | |
| <i>Pasteurella multocida</i> | 74 | |
| <i>Campylobacter jejuni</i> and <i>coli</i> | 76 | |
| <i>Corynebacterium</i> spp. | 77 | |
| <i>Aerococcus</i> <i>sanguinicola</i> and <i>urinae</i> | 79 | |
| <i>Klebsiella</i> <i>rhinoscleromatis</i> | 81 | |
| <i>Aeromonas</i> spp. | 83 | |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 85 | |
| Topical agents | 86 | Link to Guidance Document on Topical Agents |
| PK-PD (Non-species related) breakpoints | 87 | |
| Disinfectants | 91 | |
| Expert Rules | - | Link to EUCAST Expert Rules |
| Detection of Resistance Mechanisms | - | Link to EUCAST Guidelines on Detection of Resistance Mechanisms |
| Antimicrobial susceptibility tests on groups of organisms or agents for which there are no EUCAST breakpoints | - | Link to Guidance Document on how to test and interpret results when there are no breakpoints |

Già dalla prima pagina si possono trarre informazioni su come orientarsi all'interno delle pagine EUCAST.

Sono presenti utili link per approfondimenti tematici ed il formato in "excell" consente « cliccando sul dato relativo all' antibiotico o alla MIC» di ottenere utili indicazioni terapeutiche ed epidemiologiche aprendo nuove pagine elettroniche.

Categoria – raggruppamento dei risultati in Sensibile, Intermedio, Resistente, in base ai risultati quantitativi (MIC o mm), interpretati sulla base di criteri predefiniti.



REGIONE PIEMONTE
Settore Sistemi Organizzativi e
Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



Sensibile (S)

Il livello di attività dell'antibiotico nei confronti del microrganismo è associato ad un'elevata probabilità di successo terapeutico

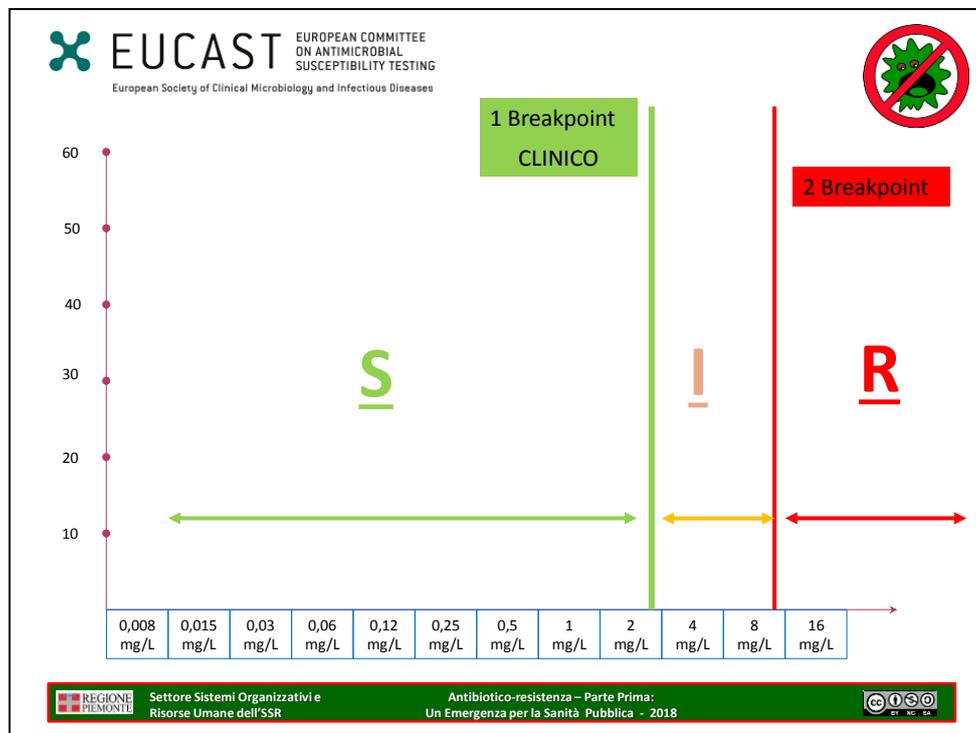
Intermedio (I)

Il livello di attività dell'antibiotico nei confronti del microrganismo è associato ad un effetto terapeutico incerto. Non è escluso che l'infezione possa essere trattata appropriatamente in distretti corporei in cui il farmaco è attivamente concentrato o utilizzato ad alti dosaggi

Resistente (R)

Il livello di attività dell'antibiotico nei confronti del microrganismo è associato ad un'elevata probabilità di fallimento terapeutico

-



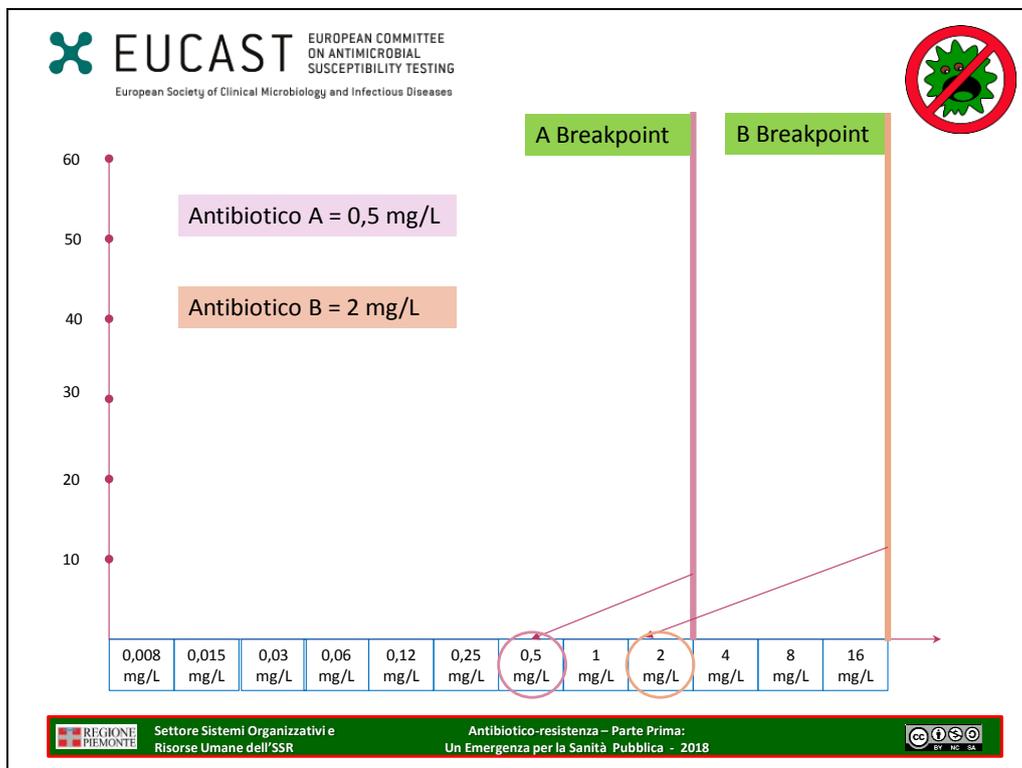
I breakpoints sono dei valori soglia a cui vengono rapportate le MIC del microrganismo isolato espresse nei confronti dell'antibiotico testato.

Mentre il valore di MIC è reale il valore soglia (*breakpoint*) è arbitrario.

I breakpoints vengono fissati da alcune Istituzioni scientifiche per le diverse combinazioni microrganismo-antibiotico e rivalutati periodicamente sulla base delle evidenze scientifiche relative agli studi di efficacia condotti sui farmaci.

Attraverso il confronto tra i *breakpoints* ed gli endpoints possiamo tradurre il risultato dell'antibiogramma nelle cosiddette Categorie Interpretative:

- S (sensibile)
- I (intermedio)
- R (resistente).



E' la distanza dal valore soglia (breakpoint) della MIC che ci fornisce informazioni di efficacia. Ogni combinazione specie /antibiotico ha il suo breakpoints per cui quando il medico non dispone sul referto del valore soglia ma solo della categoria e della MIC non deve basarsi solo sul «numero magico» dal valore più basso .

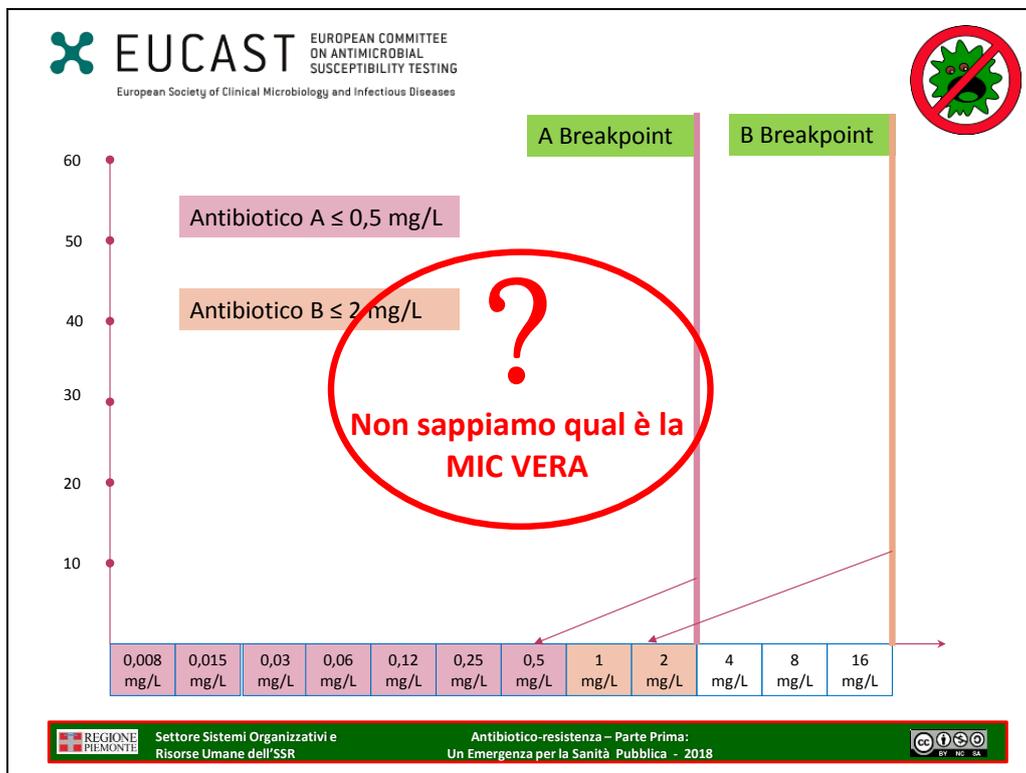
E' fondamentale il rapporto tra breakpoint (BP) e MIC,

Se ci trovassimo nella condizione di scegliere tra due antibiotici con analoghe caratteristiche di PK/PD sulla base della MIC potremmo fare questo esempio:

l' antibiotico A con MIC=0,5 mg/L e BP=2 (rapporto BP/MIC=4) è da considerarsi meno efficace in vitro dell'antibiotico B con MIC= 2 mg/L e BP=16 (rapporto BP/MIC=8) pur avendo una MIC più bassa.

Servono i breakpoints e servirebbe poterli riportare sul referto.

Per ogni chiarimento in merito si faccia riferimento ai documenti disponibili nel sito web di EUCAST (<http://www.eucast.org/>).



Spesso nel referto i valori di MIC sono preceduti dal segno \leq . Significa che la crescita del microrganismo è stata inibita dalla più bassa concentrazione dell'antibiotico utilizzata per il test ed esprime una notevole sensibilità del microrganismo indipendentemente dal valore numerico. In pratica non conosciamo quale sia la vera MIC al di sotto del valore rilevato.

Se ci trovassimo nella condizione di scegliere tra due antibiotici con analoghe caratteristiche di PK/PD sulla base della MIC potremmo fare questo esempio:

L'antibiotico A con $MIC \leq 0,5$ mg/L e $BP=2$ (rapporto $BP/MIC=4$) è da considerarsi di pari efficacia dell'antibiotico B con $MIC \leq 2$ mg/L e $BP=16$ (rapporto $BP/MIC=8$).

Quando troviamo il segno $>$ sappiamo che la crescita non è stata inibita dalla massima concentrazione utilizzata e quindi ci troviamo di fronte ad una resistenza elevata;

Per ogni chiarimento in merito si faccia riferimento ai documenti disponibili nel sito web di EUCAST (<http://www.eucast.org/>).

| | Categoria | MIC mg/L | BREAKPOINT | |
|--------------------------------|-----------|-------------|------------|-----|
| | | | ≤ S | > R |
| Ampicillina | R | 64 | 8 | 8 |
| Amoxicillina/acido clavulanico | R | 16 | 8 | 8 |
| Piperacillina/Tazobactam | S | 2 | 8 | 16 |
| Cefotaxime | R | 64 | 1 | 2 |
| Ceftriaxone | I | 4 | 1 | 2 |
| Cefepime | I | 2 | 1 | 4 |
| Gentamicina | S | 0,125 | 2 | 4 |
| Ciprofloxacina | R | 8 | 0,25 | 0,5 |
| Nitrofurantoina | S | 16 | 64 | 64 |
| Fosfomicina | S | 16 | 32 | 32 |
| Trimethoprim/ sulfamethoxazole | R | 1 | 2 | 4 |

Ceppo ESBL “possibilità di un insuccesso terapeutico con Beta -lattamici nella terapia delle infezioni gravi”.



Esempio:

Il Laboratorio di microbiologia oltre al valore di MIC dovrebbe fornire, per ogni combinazione specie/antibiotico, il breakpoint clinico ed un commento al fenotipo di resistenza rilevato.

Femmina di 60 anni con infezione della vie urinarie.

Esame del sedimento : numerosi leucociti –numerosi batteri

Urocoltura : *Escherichia coli* carica 1.000.000 UFC/ml.

**MBC minima concentrazione battericida
Serve?**

MIC vs. MBC

The diagram shows 12 test tubes with decreasing antibiotic concentrations: No antibiotic, No inoculum, Neat, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, and 1/512. A horizontal line indicates the MIC level. Petri dishes below the tubes show bacterial growth, with the last tube (1/512) showing no growth, indicating the MBC level.

REGIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'USR Antibiotico-resistenza – Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018

Si tratta della Minima Concentrazione di antibiotico capace di uccidere il 99,9% della popolazione batterica iniziale. Ci informa sulle caratteristiche dell'antibiotico testato in termini di azione battericida o batteriostatica.

Al fine di determinare le MBC, successivamente alla lettura dei risultati delle MIC, da tutti i pozzetti limpidi (assenza visibile di crescita batterica) si prelevano aliquote di brodo che seminate in piastra e incubate a 37°C per 24 ore. Il valore delle MBC si ottiene dal confronto della conta batterica effettuata nelle sub-culture rispetto all'inoculo iniziale.



Attività battericida: killing quotient

La informazione sulla natura battericida di un antibiotico nei confronti di un isolato può essere desunta anche dal calcolo del Killing Quotient:

- **Tasso di uccisione (KQ) = MBC / MIC**
 - 1 ≥ KQ ≤ 4 per antibiotici **battericidi**
(β-lattamici, aminoglicosidi, chinolonici, glicopeptidi, cotrimossazolo, etc.)
 - KQ > 4 per antibiotici **batteriostatici**
(macrolidi, sulfamidici, trimethoprim, tetraciline, cloramfenicolo, etc.)

 **REGIONE PIEMONTE**
Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



La MIC acquista significato quando viene messa in relazione con le caratteristiche farmacocinetiche del farmaco.

La determinazione delle MIC rappresenta sicuramente una metodica affidabile e di semplice esecuzione per la valutazione dell'attività microbiologica di un antibiotico. Ciò nondimeno, per alcune classi (es. fluorochinoloni) i valori di MIC mal si correlano con l'attività battericida. Infatti un'attività antibatterica molto simile, in termini di MIC, può rilevare, disponendo delle « time-kill curves» e degli indici di batteriocidia, un'attività battericida migliore di un antibiotico rispetto ad un altro.

La determinazione dell'attività battericida di un antibiotico è abitualmente effettuata a mezzo delle MBC e delle time-kill curves. Tuttavia le MBC, sia pur di facile esecuzione, indicano unicamente la concentrazione di antibiotico alla quale l'attività battericida ha inizio, senza tenere da conto quanto avviene alle concentrazioni più elevate. Le time-kill curves si effettuano esponendo colture batteriche a valori di concentrazioni di antibiotico multiple rispetto alle MIC e misurate nel tempo. L'indice di batteriocidia (BI) rappresenta il kill batterico totale indotto da un antibiotico testato a valori di concentrazioni pari a quelle ottenibili *in vivo*.

Naturalmente queste valutazioni non sono alla portata di tutti i laboratori in quanto si tratta di test che richiedono tempo e personale esperto.

Conoscere alcuni simboli che possono comparire sull'antibiogramma serve!



Guidance on reading EUCAST Breakpoint Tables EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 7.1, valid from 2017-03-10

The intermediate category is not listed but is interpreted as the values between the S and the R breakpoints. If the S and R breakpoints are the same value there is no intermediate category.

Agent A: No intermediate category
 Agent B: Intermediate category: 4 mg/L, 23-25 mm
 Agent G: Intermediate category: 1-2 mg/L, 24-29 mm

Disk diffusion (EUCAST standardised disk diffusion method)
 Medium:
 Inoculum:
 Incubation:
 Reading:
 Quality control:

EUCAST method for antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion and recommendations for quality control

Breakpoints with a species name apply only to that particular species (in this example *S. aureus*)

| Antimicrobial agent | MIC breakpoint (mg/L) | | Disk content (µg) | Zone diameter breakpoint (mm) | | Notes |
|---|-----------------------|-----|-------------------|-------------------------------|-----|--|
| | S ≥ | R > | | S ≥ | R < | |
| Antimicrobial agent A | 1* | 1* | X | 20* | 20* | 1. Notes that are general comments and/or relating to MIC breakpoints. |
| Antimicrobial agent B, <i>S. aureus</i> | 2* | 4 | Y | 28 | 28 | 2. New comment |
| Antimicrobial agent C | IE | IE | | IE | IE | 3. Replaced comment |
| Antimicrobial agent D | - | - | - | - | - | A. Comment on disk diffusion |
| Antimicrobial agent E | IP | IP | | IP | IP | |
| Antimicrobial agent F (screen) | NA | NA | Y | 25 | 25 | |
| Antimicrobial agent G | 0.5 | 2 | Z | 30 | 24 | |

Screening breakpoint to differentiate between isolates without and with resistance mechanisms

Not Applicable

In Preparation

Changes from previous version highlighted in yellow

MIC breakpoints in blue are linked to MIC distributions

Insufficient evidence that the organism or group is a good target for therapy with the agent

Zone diameter breakpoints in blue are linked to zone diameter distributions

No breakpoints. Susceptibility testing is not recommended

Antimicrobial agents in blue are linked to EUCAST rationale documents

2


Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
 Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



E' molto importante saper leggere le Tavole proposte da EUCAST. Può capitare di leggere referti con i seguenti simboli

"-" indica che i test di suscettibilità non sono raccomandati poiché la specie batterica risulta essere non raggiungibile dall'antibiotico in questione. Gli isolati possono essere segnalati come R.

"IE" indica che non vi è sufficiente prova che l'organismo o il gruppo sia raggiungibile dall'antiotico in questione. Può essere segnalata la MIC raggiunta con un commento ma senza una classificazione S, I o R a.

NA = Non applicabile

IP = In preparazione

“expert rules”



Nella valutazione dei meccanismi di resistenza una « expert rule» ER «regola esperta» permette di estendere a uno o più antibiotici dei vincoli di refertazione. Esse sono basate sui breakpoints clinici attualmente utilizzati sulla conoscenza dei meccanismi di resistenza.

1. Resistenza naturale
2. Fenotipi rari
3. Regole interpretative

REVIEW 10.1113/1468-2615.2011.02700.3

EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing

R. Leclercq¹, R. Canton^{1,2}, D. F. J. Brown³, C. G. Glahn^{4,5}, P. Heilig⁶, A. P. MacGowan⁷, J. W. Morrison⁸, P. Nordmann⁹, A. C. Rodrik¹⁰, G. H. Rossau¹¹, C. J. Smeyers¹², M. Struelens¹³, T. G. Wintzinger¹⁴ and G. Kahlmeter¹⁵

1) Laboratoire de Microbiologie, CHU Côte de Nice, Coen, France; 2) EUCAST Subcommittee on Expert Rules; 3) Servicio de Microbiología and CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Hospital Universitario Ramón y Cajal, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Madrid, Spain; 4) EUCAST Steering Committee; 5) Clinical Microbiology, HPC/Karolinska Institutet, Karolinska University Hospital, Solna, Sweden; 6) Department of Pharmacy, Biology & Microbiology, University of Hamburg, Hamburg, Germany; 7) Department of Medical Microbiology, Southmead Hospital, Bristol, UK; 8) Department of Medical Microbiology, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, The Netherlands; 9) Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital de Brest, Le Kremlin-Bicêtre, France; 10) Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Leipzig, Leipzig, Germany; 11) Dipartimento di Bacteriologia, Sezione di Microbiologia, Siena, Italy; 12) Hospital Haver Møller, Service de Bactériologie, Creteil, France; 13) Department of Bacteriology and Immunology, Division of Infectious Disease Control, Norwegian Institute of Public Health, Oslo, Norway; 14) Department of Microbiology, Royal Hallamshire Hospital, Sheffield, UK and 15) Clinical Microbiology, Central Hospital, Västerås, Sweden



Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



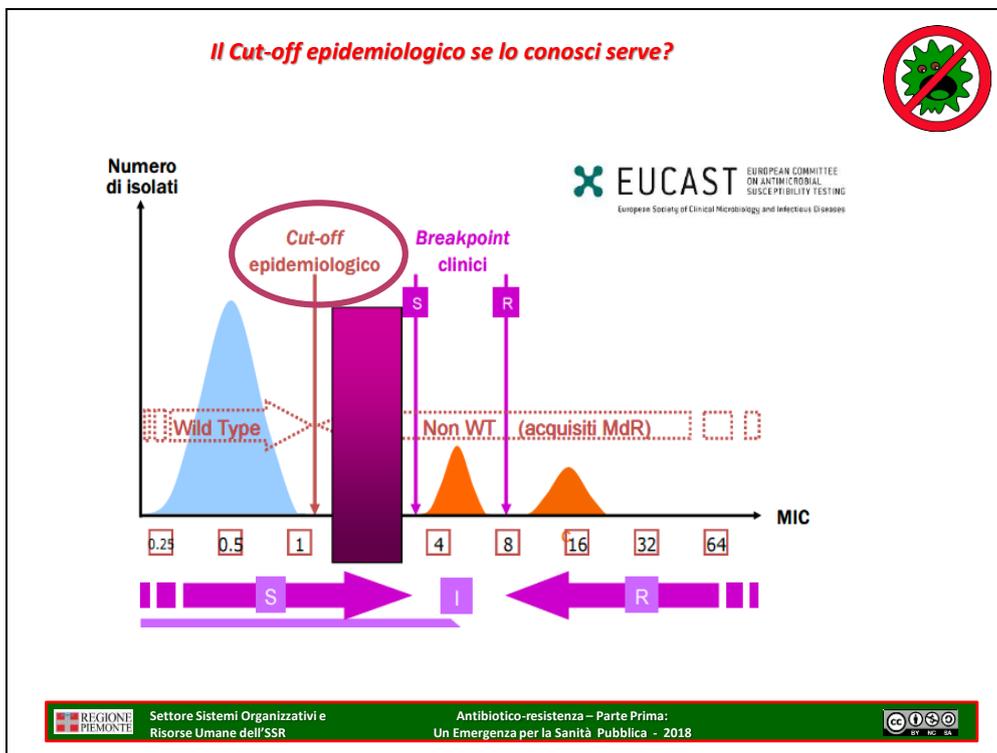
I fenotipi rari rappresentano l'espressione di alcune specie batteriche che si verificano raramente o per la prima volta.

E' evidente che debbono essere monitorati, potendo indicare un errore identificativo e/o tecnico. Se confermato "localmente", il ceppo batterico in esame dovrebbe essere inviato ad un Centro di riferimento per una conferma "indipendente".

Anche questi fenotipi possono evolvere nel tempo. Pertanto, alcuni di essi potrebbero essere straordinari in un'area, ma più frequenti in altre.

Esempi:

- Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina
- Enterococcus faecium* sensibile ad ampicillina
- Streptococcus pyogenes* resistente alla penicillina
- Enterobacteriaceae* resistenti a carbapenemici (rari, ma in aumento)
- Anaerobi resistenti a metronidazolo



Il Cut-off epidemiologico serve per riconoscere precocemente lo sviluppo di resistenze in quanto anche in presenza di un dato di sensibilità dal punto di vista CLINICO è possibile mettere in evidenza i meccanismi di resistenza.

I valori ECOFF definiscono l'estremità superiore della distribuzione dei ceppi *wildtype*, per cui i microrganismi con valori di MIC superiori all'ECOFF hanno verosimilmente acquisito qualche meccanismo di resistenza.

| Perché è importante conoscere i meccanismi di resistenza? | |
|---|----|
| Categorizzare i batteri sensibili e i resistenti | NO |
| Per la salute pubblica | SI |
| Per controllare le infezioni | SI |

Per esempio la resistenza ai carbapenemi negli enterobatteri costituisce un problema clinico rilevante, dato che questi antibiotici rappresentano i farmaci di riferimento per la terapia delle infezioni invasive da enterobatteri Gram negativi multiresistenti

.

REGIONE PIEMONTE
Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR
Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



Carbapenemasi:

- Il trattamento ottimale delle infezioni dovute a microrganismi produttori di carbapenemasi è incerto e le opzioni terapeutiche sono limitate
- Dal momento che la presenza di KPC o metallo-enzimi conferisce resistenza a tutte le penicilline, cefalosporine e carbapenemi la scelta del trattamento antibiotico deve basarsi sui risultati dei test di sensibilità su molecole appartenenti a classi diverse dai beta-lattamici e dai carbapenemi
- Sono necessari ulteriori test di sensibilità per colistina, aztreonam, tigeciclina, fosfomicina e rifampicina
- Inoltre, nonostante i limitati dati clinici disponibili, per i pazienti con infezioni gravi dovute a microrganismi gram-negativi produttori di carbapenemasi, a causa dell'elevata mortalità, viene suggerito l'utilizzo di terapie antibiotiche di combinazione con due o tre farmaci
- La gestione dei pazienti con infezioni dovute a batteri produttori di carbapenemasi deve essere effettuata in collaborazione con un esperto in trattamento di infezioni da microrganismi multi-resistenti

Le Carbapenemasi più importanti
dal punto di vista epidemiologico



Classificazione delle carbapenemasi

| Classe molecolare di Ambler * | Serina carbapenemasi | | Metallo β -lattamasi |
|-------------------------------|--|--|--|
| | A | D | B |
| Gruppo funzionale di Bush ** | 2f | 2df | 3 |
| Esempi | KPC (1-17) SME (1-5) GES (1-24) IMI (1-4) NMC-A SFC-1 SHV-38 | OXA-48 OXA-163 OXA-181 OXA-23 OXA-24 OXA-51 OXA-58 OXA-143 | VIM (1-40) NDM (1-10) IMP (1-47) SPM GIM SIM DIM AIM KHM FIM |

* Ambler RP. The structure of β -lactamases. *Biol Sciences* 1980, 285:321-331. ** Bush et al. Updated functional classification of β -lactamases. *AAC* 2010; 54: 363-76. Webella di Karen Bush della Lahey Clinic: <http://www.lahay.org/Studies/>.


 Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR

 Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



Abbiamo numerosi tipi di enzimi con caratteristiche epidemiologiche e cliniche differenti che bisogna conoscere perché sono in grado di influenzare la scelta dell'antibiotico terapia. Inoltre la resistenza ai Carbapenemi in *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e nei confronti delle Enterobatteriacee si associa frequentemente a resistenze in molte altre classi di antibiotici in quanto il gene che codifica tale resistenza è localizzato su elementi mobili che contengono geni di resistenza per altri antibiotici.

- MDR= multidrug-resistant (resistente a tutti gli antibiotici in almeno 3 classi potenzialmente attive)
- XDR = extensively drug-resistant (resistente a tutti gli antibiotici tranne 2 o meno classi potenzialmente attive)
- PDR= pandrug-resistant (resistente a tutti gli antibiotici di tutte le classi testate)

Quando sospettare la produzione di carbapenemasi alla lettura dell'antibiogramma? 

In tutti gli isolati di *Klebsiella pneumoniae* o CRE per i quali le MIC dei carbapenemi risultino superiori ai rispettivi cut-off epidemiologici (ECOFF) dei ceppi selvaggi o *wild-type* della specie corrispondente.

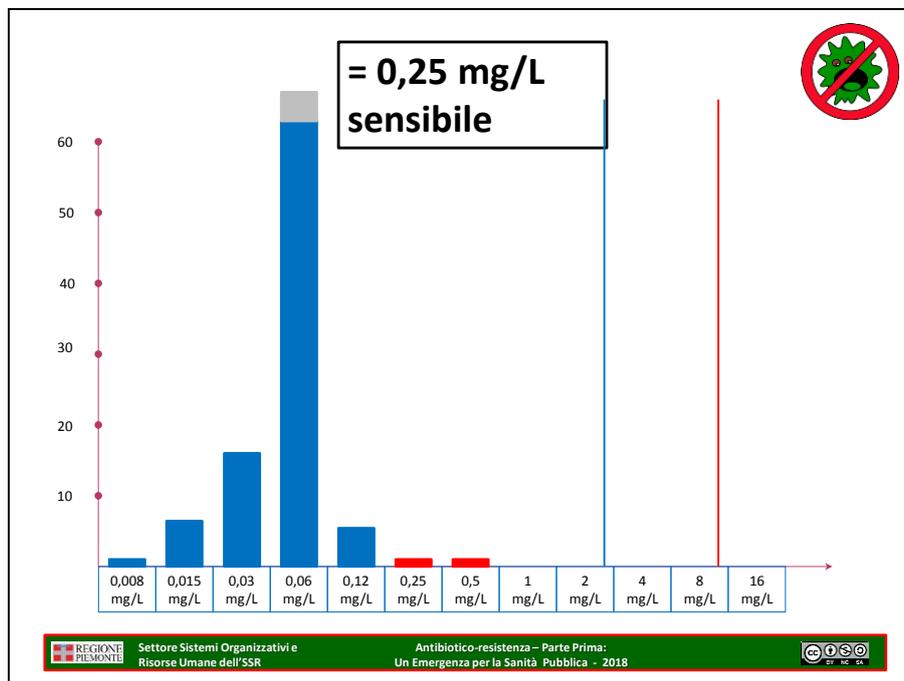
Nella comune pratica di laboratorio è consigliabile sospettare la produzione di carbapenemasi in presenza di una ridotta sensibilità al **meropenem**:

MIC > 0,125 mg/L o alone di inibizione ≤ 25 mm

REGIONE PIEMONTE Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'SSR Antibiotico-resistenza - Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018 

Sulla base di queste considerazioni, nella comune pratica di laboratorio è consigliabile sospettare la produzione di carbapenemasi in presenza di una ridotta sensibilità al **meropenem**:

I breakpoints clinici dei Carbapenemi sono più elevati dei valori di ECOFF, ed i sistemi utilizzati nella pratica di laboratorio per determinare la sensibilità agli antibiotici non sempre consentono di misurare valori di MIC dei Carbapenemi nel range degli ECOFF per cui bisogna che il microbiologo si possa avvalere di più strumenti per mettere in evidenza meccanismi di resistenza per microrganismi che hanno MIC comprese nell'intervallo di sensibilità.



Facciamo un esempio.

Il ceppo di *Klebsiella pneumoniae* isolato ha una MIC di 0,25 mg/L che rientra ampiamente nei limiti di Sensibilità mail valore di ECOFF è 0,125 mg/L. Siamo in presenza, forse, di un ceppo produttore di Carbapenemasi o di un ceppo con resistenza estesa ai beta-lattamici associata ad un deficit di porine. (impermeabilità!)

Come confermiamo la presenza di fenotipi di resistenza?

Per esempio abbiamo un ceppo di Escherichia coli Sensibile al meropenem con MIC di 1 mg/L.. Siamo in presenza di un ceppo CRE? E di che tipo?

RECENTI PROIEZIONI | Settore Sistemi Organizzativi e Risorse Umane dell'ISSR | Antibiotico-resistenza - Parte Prima: Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018

I test per mettere in evidenza la presenza di carbapenemasi e per differenziarne la tipologia avviene attraverso l'utilizzo di diverse metodiche che mirano a valutare le caratteristiche fenotipiche di resistenza antibiotica oppure indagano gli aspetti genomici relativi alla presenza o meno dei geni di resistenza nel ceppo isolato.

Alcuni esempi:

- **Test di Hodge (MHT- modified Hodge test):**

- E' il test base che ci indica solo se il ceppo è produttore di carbapenemasi.
- Si basa sulla riduzione di attività del carbapenemico, saggiato nei confronti di un ceppo indicatore sensibile, mediata dalla carbapenemasi prodotta dal microorganismo in esame.

- **Test di sinergia:**

- Mediante metodica "di combinazione" su dischetto o striscia
- Il ceppo viene testato nei confronti del Meropenem in presenza di specifici **inibitori** delle carbapenemasi.

- **Test di rilevamento diretto dell'idrolisi:**

- distingue esclusivamente la resistenza ai carbapenemi trasmissibile. Il test ha alta sensibilità e specificità (entrambe pari al 97,8%*).

- **Test genotipici in Biologia Molecolare**

Rilevano i determinanti di resistenza noti (da campione clinico, emocoltura positiva o colonie isolate) con tempi di rilevazione molto rapidi

Limitazioni:

- Informazioni solo su alcuni determinanti R
- Non rilevano i geni silenti
- Il costo è ancora elevato ma si stanno sempre più diffondendo

Diapositiva 27

Come refertare l'antibiogramma ?



Nel caso di isolamento di *K. pneumoniae* produttore di carbapenemasi o CRE (confermata con test fenotipico) da siti infetti le MIC di alcuni Carbapenemi **possono rientrare nel range di sensibilità.**

Il referto dovrebbe riportare una nota esplicativa.

Esempio

“Ceppo produttore di carbapenemasi; la terapia con carbapenemi potrebbe risultare scarsamente efficace o inefficace anche se “in vitro” il ceppo appare sensibile a questi farmaci. Nel caso in cui si intendano utilizzare tali farmaci si raccomanda una preventiva consulenza con un esperto di terapia antibiotica”.

Bisogna fare l'antibiogramma sui ceppi provenienti da colture di sorveglianza?



L'esecuzione dell'antibiogramma è utile negli isolati da **test di screening/culture di sorveglianza** sia per definire il fenotipo di resistenza degli isolati che a scopo epidemiologico.

In questo caso la refertazione dell'antibiogramma potrebbe indurre a terapie antibiotiche inappropriate.

Il referto dovrebbe riportare una nota esplicativa.

Esempio:

“Colonizzazione da *Klebsiella pneumoniae* o CRE produttore di carbapenemasi: non è indicato un trattamento antibiotico in assenza di infezione. Si raccomanda di utilizzare le precauzioni standard e da contatto per prevenire la diffusione del microrganismo”

Che cosa ci deve suggerire l'antibiogramma?



REGIONE PIEMONTE
Settore Sistemi Organizzativi e
Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



***Cosa si può fare per migliorare il
valore predittivo clinico?***



- Stabilire breakpoints clinici il più possibile vicini alla realtà della clinica (necessità di studi clinici accuratamente strutturati).
- Rilevare determinanti di resistenza batterica direttamente nel materiale clinico attraverso test in biologia molecolare.

Cosa si può fare per migliorare il valore predittivo clinico?



- Anche se i dosaggi molecolari hanno un potenziale importantissimo non possono sostituire al momento le prove fenotipiche e cioè gli antibiogrammi.

- Finché non avremo a disposizione elementi per predire l'esito della terapia antibiotica il microbiologo deve «muoversi !!!»interagendo con il clinico nel tentativo di ottimizzare l'utilizzo dei risultati AST

Il prossimo futuro.....



REGIONE PIEMONTE
Settore Sistemi Organizzativi e
Risorse Umane dell'SSR

Antibiotico-resistenza – Parte Prima:
Un'Emergenza per la Sanità Pubblica - 2018



In queste lezioni abbiamo illustrato vari sistemi di AST, manuali ed automatici, e abbiamo accennato sugli avanzamenti più recenti, come le metodiche molecolari, destinate a diventare uno strumento sempre più competitivo, soprattutto con l'avanzare delle tecnologie di sequenziamento e dell'espansione dei database contenenti tutti i geni del "resistoma".

La resistenza ai farmaci potrà essere rilevata mediante AST di routine, in base alla misurazione di diverse caratteristiche molecolari, come l'attività di enzimi che degradano o modificano direttamente antibiotici, mutazioni geniche, cambiamenti nei profili delle componenti microbiche intracellulari o secrete (proteomica, metabolomica) o cambiamenti di espressione in risposta agli antibiotici (analisi del trascrittoma).

Si auspica che tali tecnologie diagnostiche innovative possano portare in futuro a prescrizioni di antibiotici sempre più mirate ai singoli pazienti e in particolare ai singoli agenti patogeni.