

REGIONE DEL VENETO



ULSS8
BERICA



ORDINE DEI MEDICI CHIRURGI
E DEGLI ODONTOIATRI

CORSO DI FORMAZIONE

**Il fenomeno
dell'antibioticoresistenza
al di fuori dell'ambito dell'acuto**



2 OTTOBRE 2019 OSPEDALE SAN BORTOLO
VICENZA

**Epidemiologia internazionale e locale dei germi
multiresistenti e il fenomeno dell'antibiotico
resistenza**

Dr. Mario Rassa
Direttore U.O. Microbiologia e Virologia

Resistenza antibiotica nei batteri Gram positivi e negativi ESKAPE



Klebsiella pneumoniae



Acinetobacter baumannii

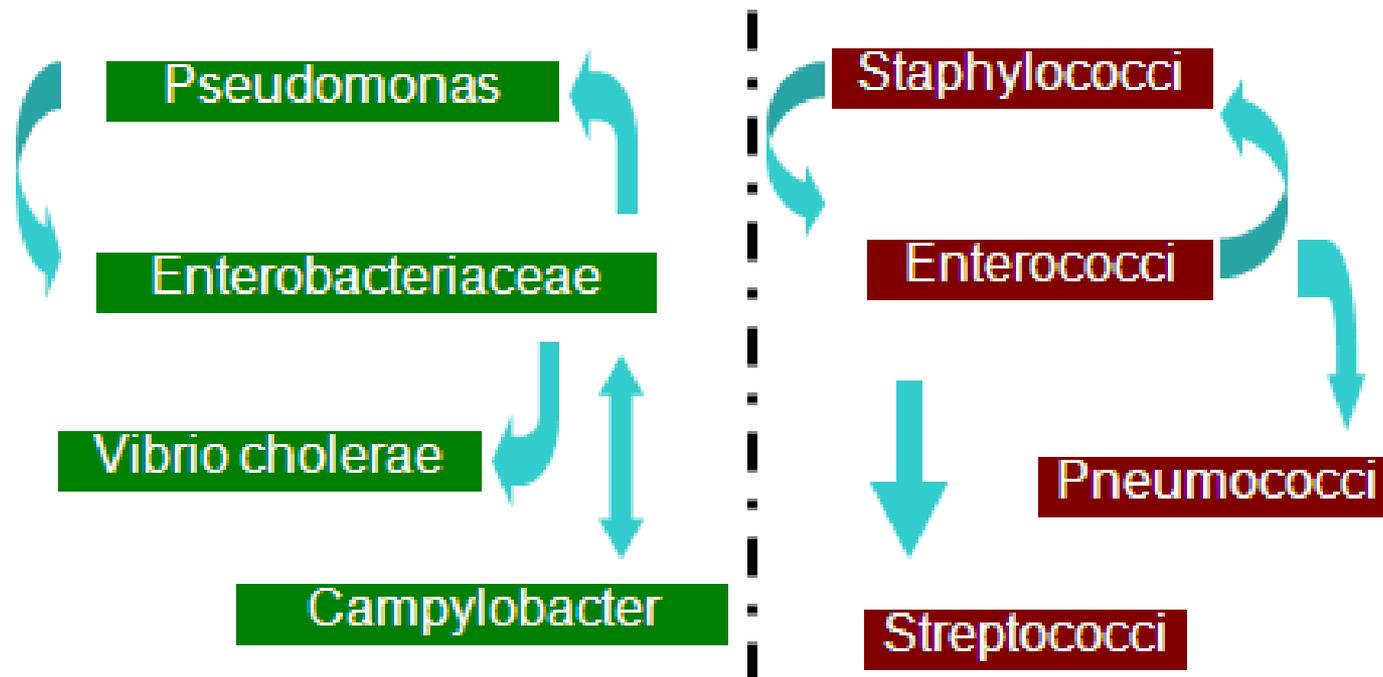


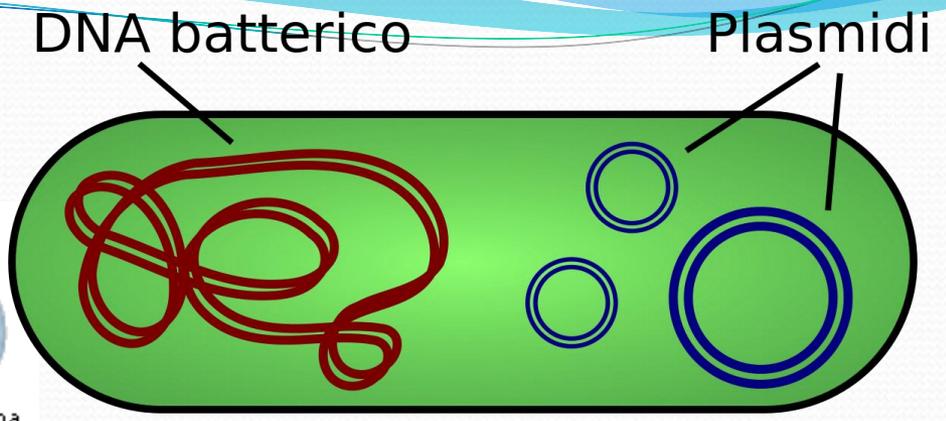
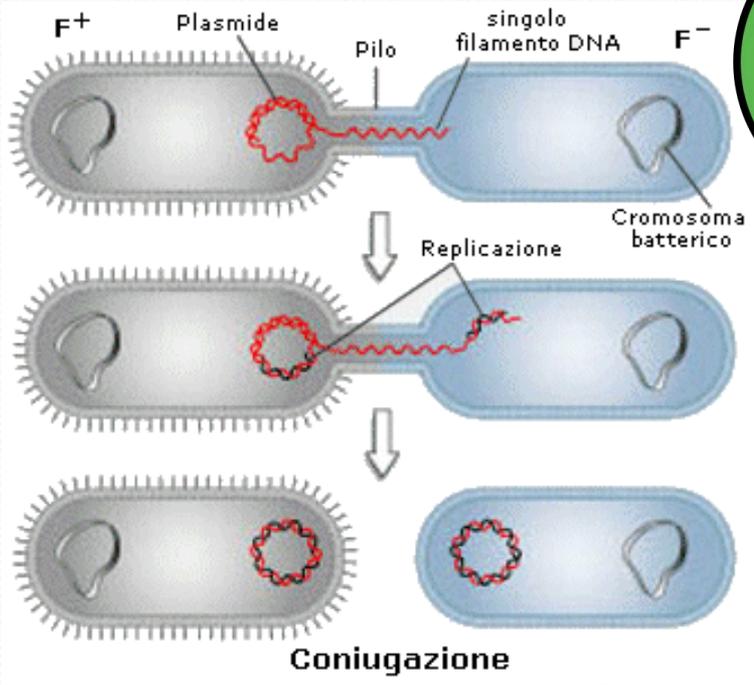
Pseudomonas aeruginosa

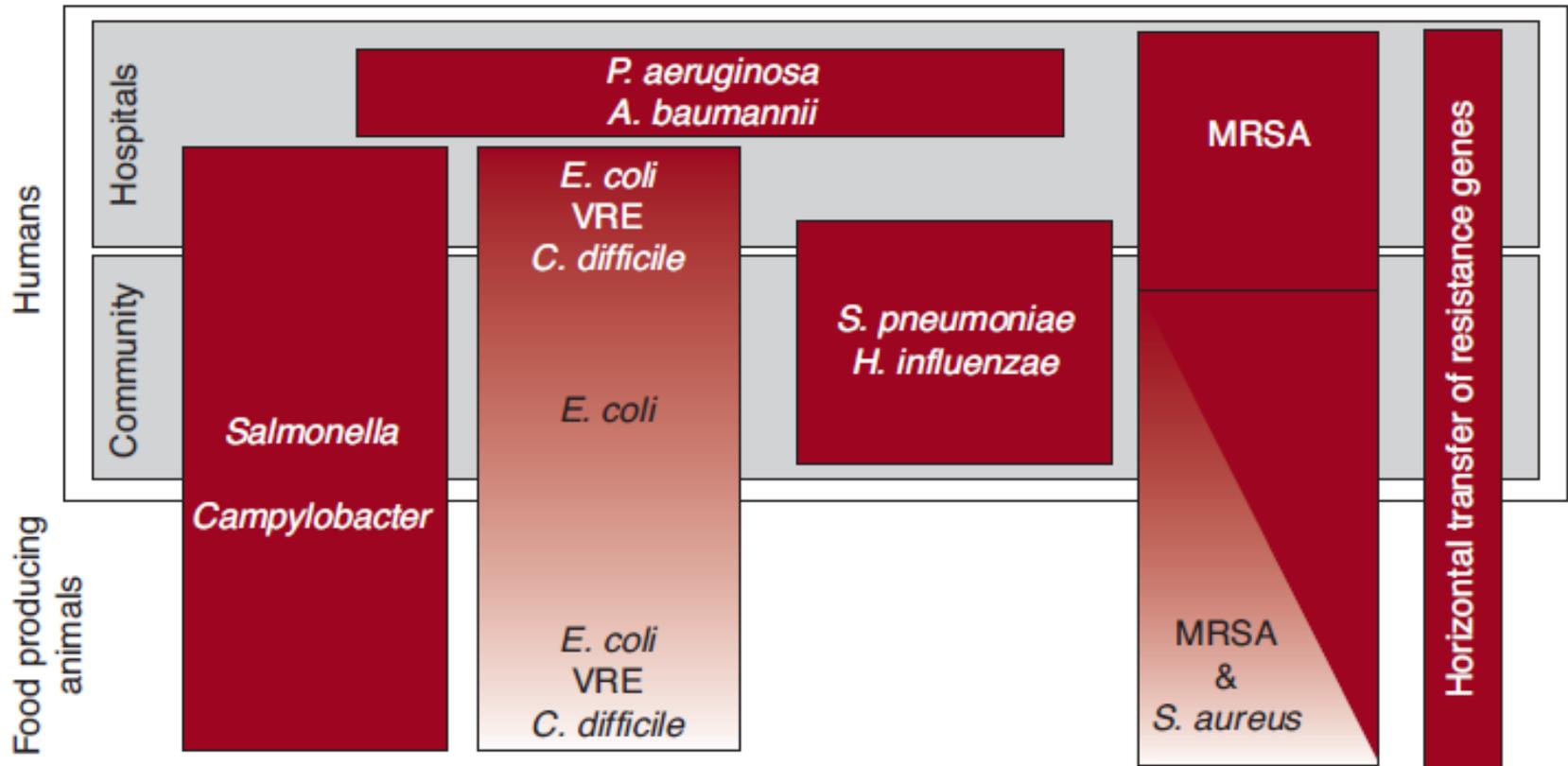


Enterobacter

Genetic exchange of antimicrobial resistance genes



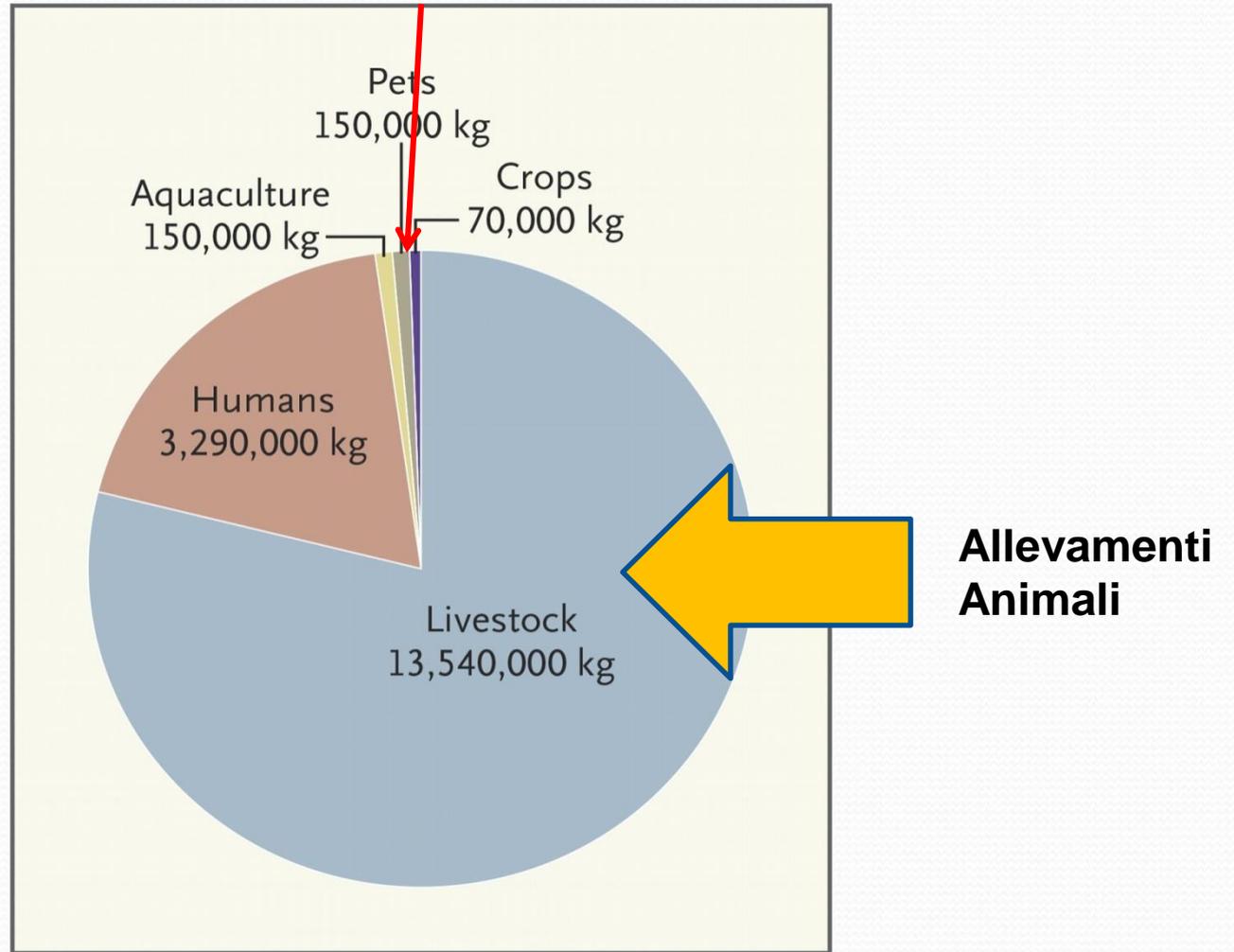


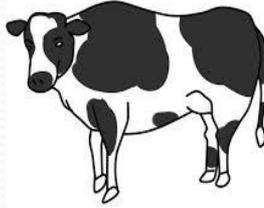


Schematic overview of some of the most important antimicrobial resistant pathogens and the overlap between the different reservoirs. As indicated some pathogens are strictly confined within the human reservoir, whereas others have a mainly or partly animal reservoir.

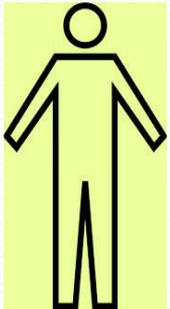
Antibiotic Use in the United States.

Consumo antibiotici

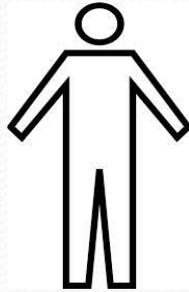




**Pressione selettiva
Antibiotica**



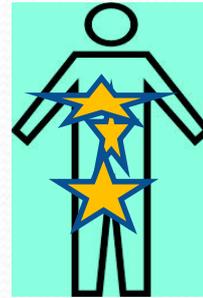
**Microbioma
normale**



**Microbioma
alterato**



Colonizzato



**Espansione
clonale**

I BATTERI MULTIRESISTENTI

- Pneumococco resistente alla penicillina
- Stafilococchi MRSA , VISA e VRSA
- Enterococchi VRE

- Enterobatteri produttori di ESBL E KPC
- *Pseudomonas* resistenti ai carbapenemici
- *Acinetobacter* e *S. maltophilia* multiresistenti

- *M. Tuberculosis* MDR/XDR/TDR

- ALTRE RESISTENZE: HIV, Malaria, Miceti

BATTERI GRAM NEGATIVI

*produzione di enzimi che
inattivano gli antibiotici*

1- ESBL

2- CARBAPENEMASI

Resistenze negli enterobatteri

- **BETALATTAMASI**: si usano Cefalosporine, Fluorchinoloni, Betalattamine protette
- **ESBL**: si usano Meropenem, Imipenem, Ertapenem
- **KPC**: si usano Colimicina, Gentamicina, Meropenem, Tigeciclina

BATTERI PANRESISTENTI

BETA LATTAMASI ed ESBL

- Alcune beta lattamasi inattivano solo un piccolo numero di ATB
- Altre hanno uno **spettro esteso a tutte le penicilline e tutte le cefalosporine** es. cefuroxime, ceftriaxone (**ESBLs**). Di solito queste sono su plasmidi e possono passare da un batterio ad un altro
- Inoltre possono trasportare la resistenza ad altri antibiotici es. ciprofloxacina.

CARBAPENEMASI

Le carbapenemasi sono β -lattamasi che idrolizzano:

- **Penicilline**
- **Cefalosporine (nella maggior parte dei casi),**
- **Carbapenemi**

La stragrande maggioranza delle carbapenemasi sono enzimi acquisiti, codificati da geni su elementi trasponibili situati su plasmidi. Le carbapenemasi sono espresse a vari livelli e differiscono sia per le caratteristiche biochimiche che per l'attività contro specifici β -lattamici

- La maggior parte dei ceppi carbapenemasi-produttori sono resistenti alle cefalosporine a spettro esteso (oxyimino) e possono avere una ridotta sensibilità ai carbapenemi, ma con alcuni di questi enzimi (enzimi OXA-48-like), gli organismi possono apparire sensibili alle cefalosporine. Tuttavia, molti di questi isolati esprimono anche enzimi che idrolizzano cefalosporine, quali CTX-M, e sono resistenti alle cefalosporine.

KPC

ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, Apr. 2001, p. 1151-1161
0066-4804/01/\$04.00+0 DOI: 10.1128/AAC.45.4.1151-1161.2001
Copyright © 2001, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 45, No. 4

Novel Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*

HESNA YIGIT,¹ ANNE MARIE QUEENAN,² GREGORY J. ANDERSON,¹
ANTONIO DOMENECH-SANCHEZ,³ JAMES W. BIDDLE,¹ CHRISTINE D. STEWARD,¹
SEBASTIAN ALBERTI,⁴ KAREN BUSH,² AND FRED C. TENOVER^{1*}

- Isolata per la prima volta in North Carolina nel 1996
- Resistente a tutti i β -lattamici
- Identificata inizialmente in *Klebsiella pneumoniae*, è stata poi riscontrata in molti altri membri della famiglia delle *Enterobacteriaceae* (*K. oxytoca*, *S. marcescens*, *E. coli*, *S. enterica*, *C. freundii*, *Enterobacter* spp.) con diverse varianti
- Il gene che codifica per le KPC si trova su elementi genetici mobili (plasmidi, trasposoni) e ciò aumenta il rischio di trasmissione.

Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases

L Silvia Munaz-Price, Laurent Poiriel, Robert A Bonomo, Mitchell J Schwaber, George L Daikos, Martin Cormican, Giuseppe Cornaglia, Javier Garau, Marek Gniadkowski, Mary K Hayden, Karthikeyan Kumarasamy, David M Livermore, Juan J Maya, Patrice Nordmann, Jean B Patel, David I Paterson, Inhann Pittart, Maria Virginia Villenas, HuiWang, Neil Woodford, John P Quinn

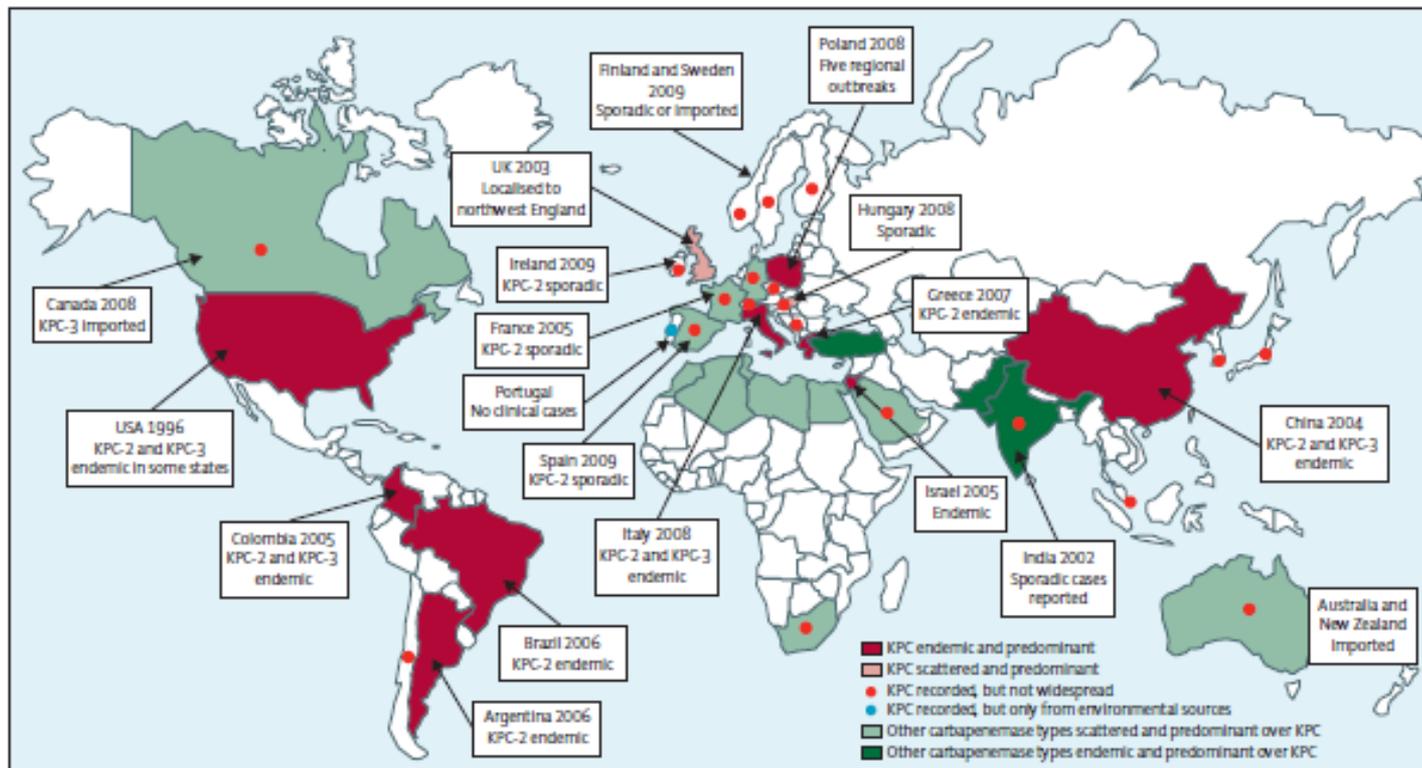
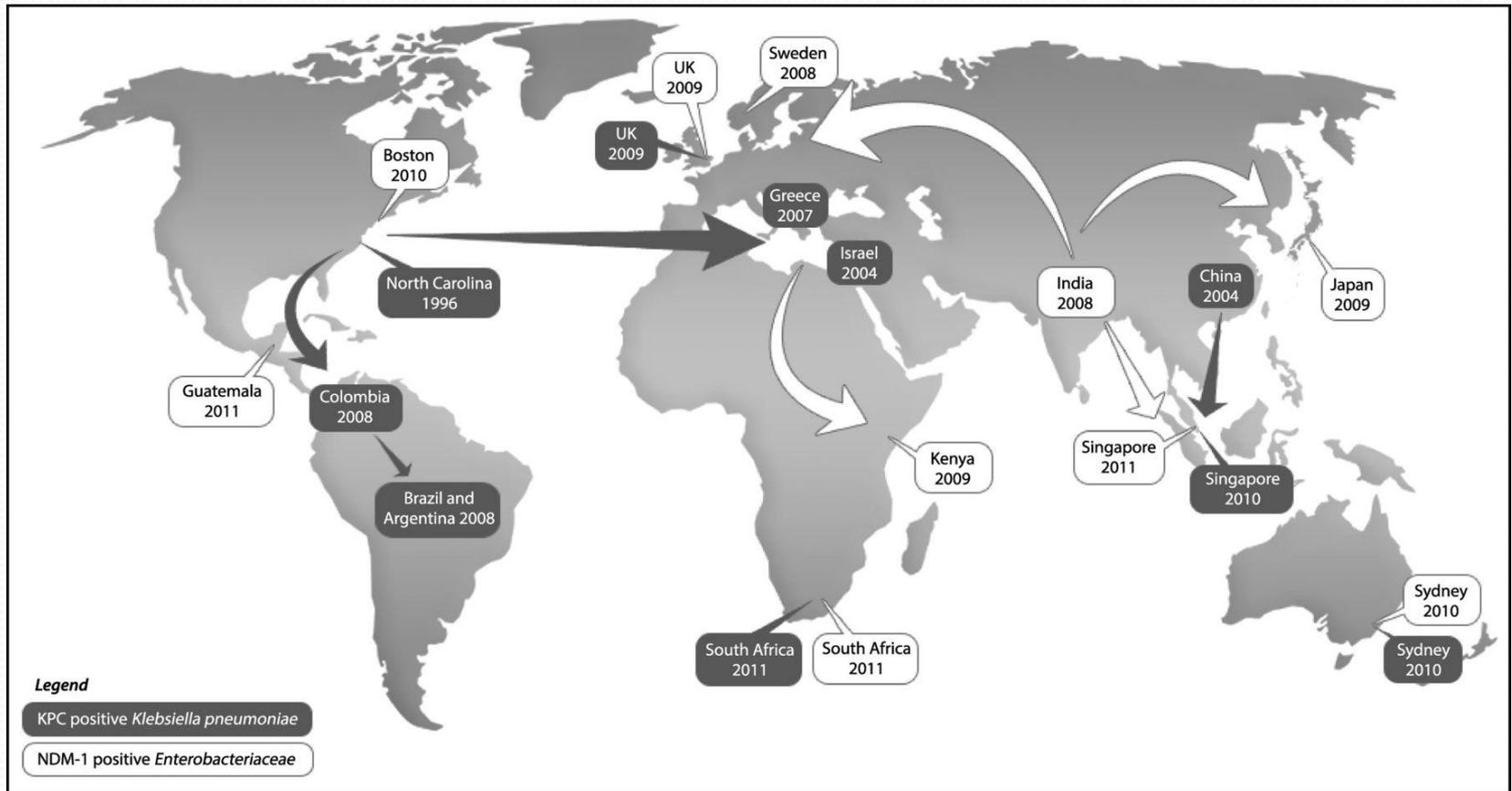


Figure. Epidemiological features of producers of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases by country of origin. Other carbapenemase types include VIM, OXA-48, or NDM. KPC-*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase.

Global dissemination of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* and New Delhi metallo- β -lactamase-1-producing *Enterobacteriaceae*.



Molton J S et al. Clin Infect Dis. 2013;56:1310-1318

Enterobatteri e carbapenemi

<i>K. pneumoniae</i> KPC+		<i>K. pneumoniae</i> MBL+	
Antibiotico	MIC mg/L (S/I/R)	Antibiotico	MIC mg/L (S/I/R)
Ampicillina	> 16 (R)	Ampicillina	> 16 (R)
Amoxi-Clav	> 16 (R)	Amoxi-Clav	> 16 (R)
Piperacillina	> 16 (R)	Piperacillina	> 16 (R)
Pip-Tazo	> 64 (R)	Pip-Tazo	> 64 (R)
Cefotaxime	> 32 (R)	Cefotaxime	> 32 (R)
Ceftazidime	> 32 (R)	Ceftazidime	> 32 (R)
Cefepime	> 32 (R)	Cefepime	> 32 (R)
Imipenem	8 (I)	Imipenem	4 (I)
Meropenem	> 8 (R)	Meropenem	1 (S)
Ertapenem	> 4 (R)	Ertapenem	> 4 (R)

Test immunocromatografico per la ricerca delle Carbapenemasi



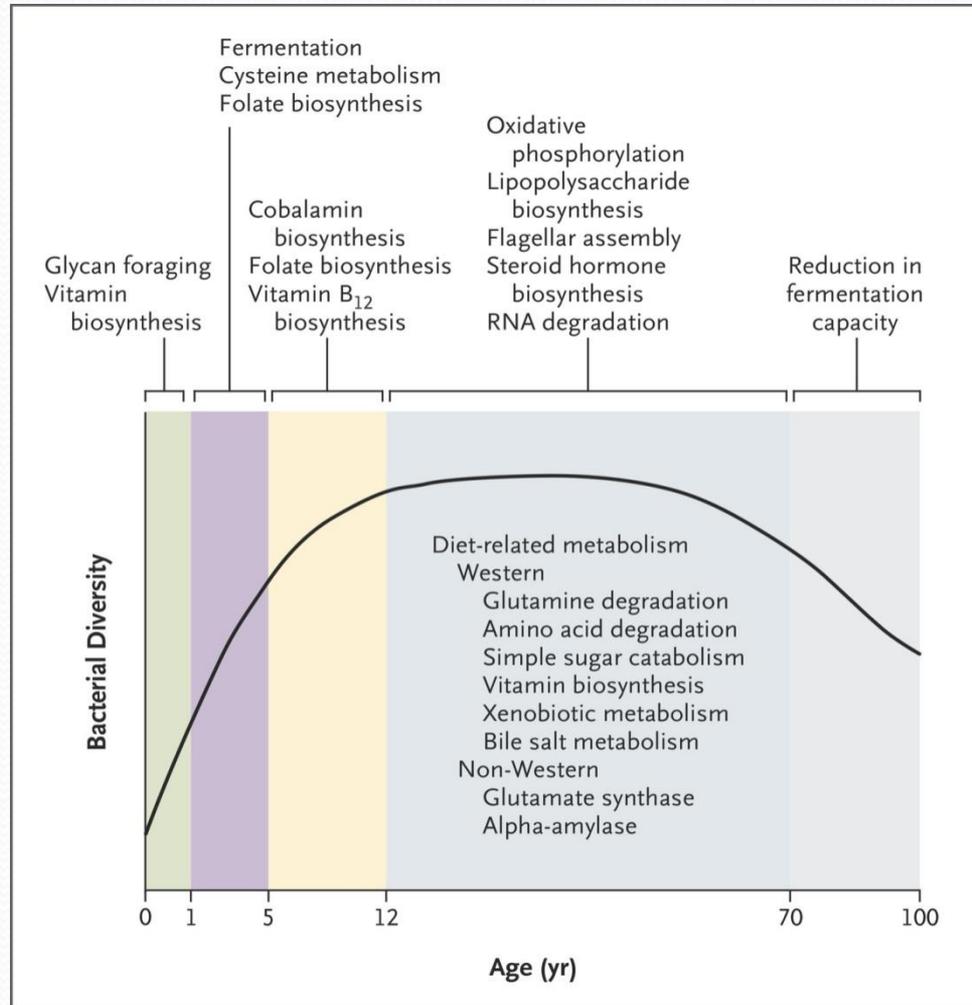
Evaluation of the NG-Test
CARBA 5 multiplex
immuno-chromatographic assay
for the detection of

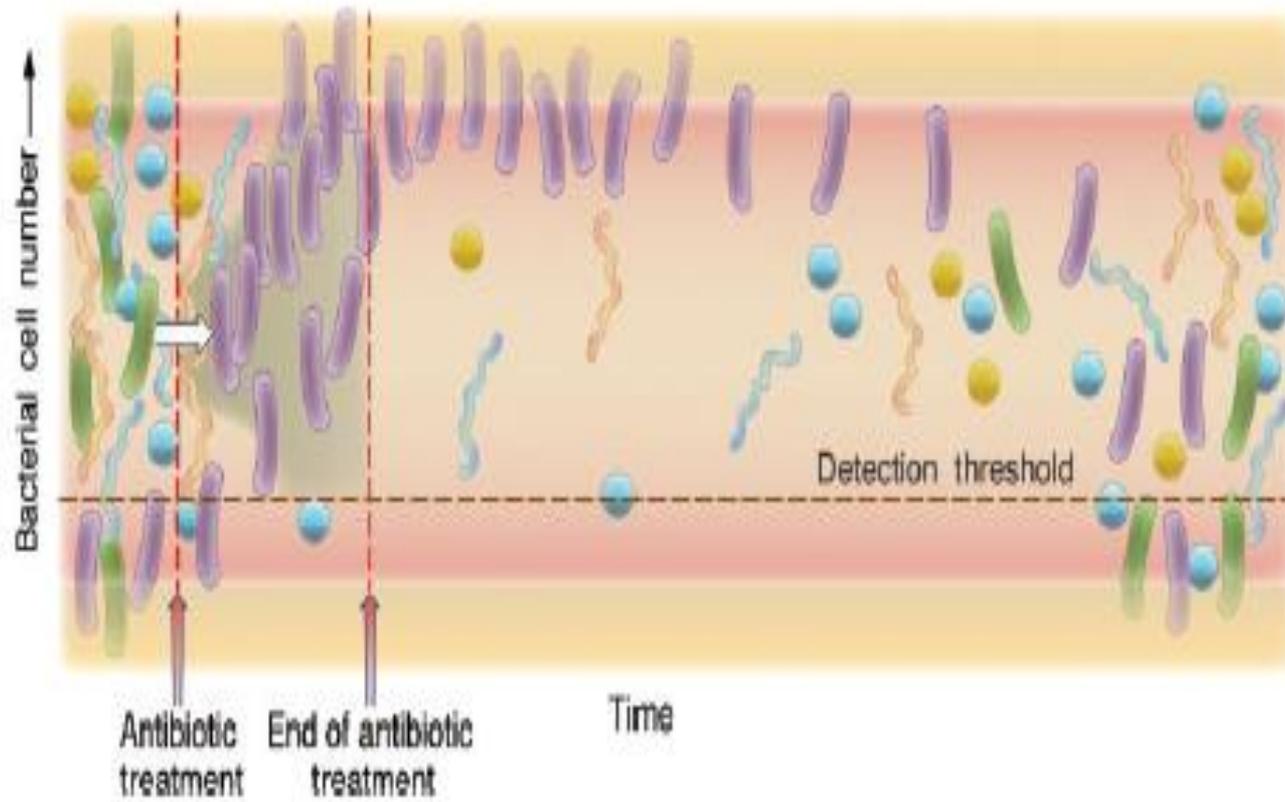
1. **KPC**
2. **OXA-48-like**
3. **NDM**
4. **VIM**
5. **IMP**

Carbapenemasi più importanti da un punto di vista epidemiologico

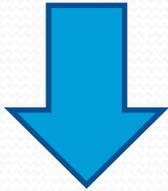
Classe B, metallo beta-lattamasi	Classe A	Classe D
<p>IMP (imipenemasi) </p>	<p>KPC  (<i>K. pneumoniae</i> carbapenemasi) è l'enzima più importante sia da un punto di vista clinico che epidemiologico</p>	<p>Carbapenemasi tipo OXA </p>
<p>VIM  (<i>Verona integron-encoded metallo-beta-lattamasi</i>)</p>	<p>SME (<i>Serratia marcescens</i> enzyme)</p>	
<p>NDM-1  (New Delhi metallo-beta-lattamasi)</p>	<p>NMC-A/IMI (not metallo enzyme carbapenemase /imipenem-hydrolysing beta-lactamase)</p>	
	<p>GES (Guiana extended spectrum)</p>	

Temporal Development of Microbiota in Humans





Microbiota alterato



Paziente
colonizzato da
patogeno
altamente
proliferante

Paziente

Trasmissione ad
altri pazienti



Infezioni gravi e
Mortali se immunocompromesso



ELSEVIER

ScienceDirect

Current Opinion in
Microbiology

Klebsiella pneumoniae as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria

Kelly L Wyres and Kathryn E Holt



Klebsiella pneumoniae is an opportunistic bacterial pathogen known for its high frequency and diversity of antimicrobial resistance (AMR) genes. In addition to being a significant clinical problem in its own right, *K. pneumoniae* is the species within which several new AMR genes were first discovered before spreading to other pathogens (e.g. carbapenem-resistance genes KPC, OXA-48 and NDM-1). Whilst *K. pneumoniae*'s contribution to the overall AMR crisis is impossible to quantify, current evidence suggests it has a wider ecological distribution, significantly more varied DNA composition, greater AMR gene diversity and a higher plasmid burden than other Gram negative opportunists. Hence we propose it plays a key role in disseminating AMR genes from environmental microbes to clinically important pathogens.

Address

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Bio21 Molecular Science and Biotechnology Institute, University of Melbourne, 30 Flemington Rd, Parkville, Victoria 3010, Australia

Corresponding author: Wyres, Kelly L (kwyres@unimelb.edu.au)

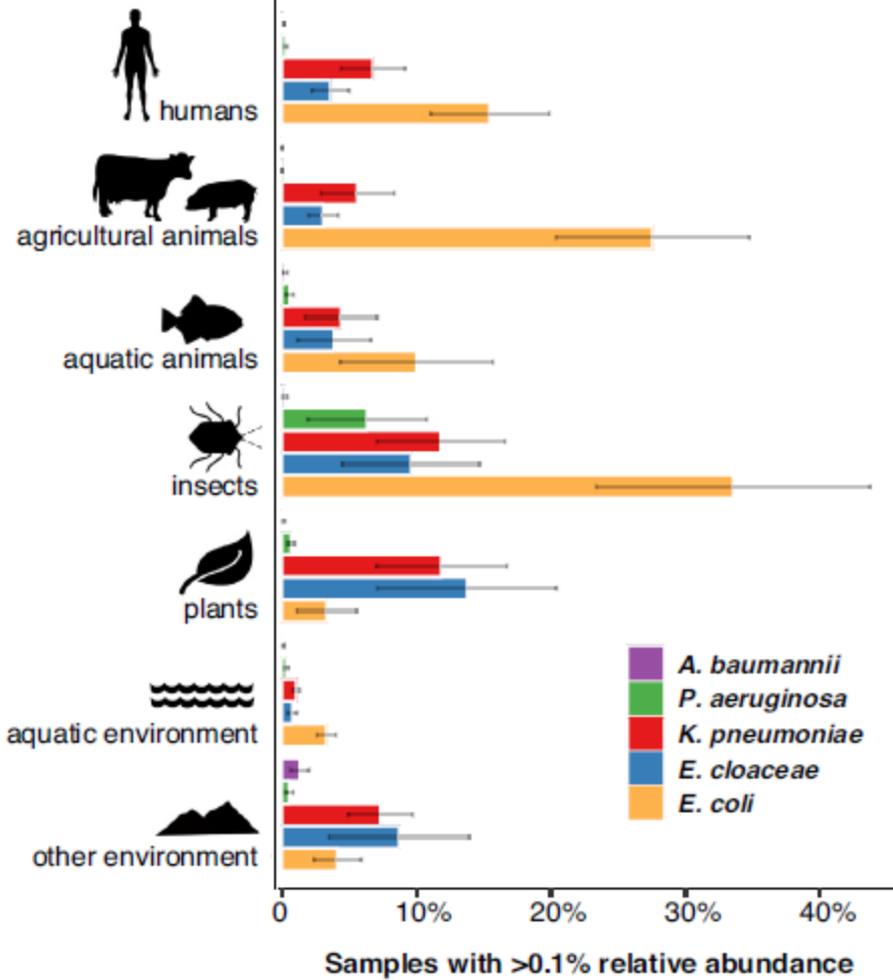
more antibiotics, and individual strains have accumulated resistance to many additional drugs [1]. The Gram negative ESKAPE pathogens are considered the greatest threat, due to the emergence of strains that are resistant to all or most available antibiotics [2**]. Accumulation of AMR in these organisms is primarily due to horizontal gene transfer (HGT) aided by plasmids and mobile genetic elements [1]. The catalogue of known mobile AMR genes subject to HGT amongst Gram negative pathogens numbers in the hundreds [3]. The origins of the AMR genes themselves are environmental bacteria (particularly soil bacteria), assumed to be those which have co-evolved with the relevant antimicrobial producing organisms for millennia [4–6]; however there is typically a lag of several years between the clinical use of a drug and the arrival of relevant mobile AMR genes in human pathogen populations [7]. Hundreds of mobile AMR genes have been found in *K. pneumoniae* [8,9], the species associated with the earliest reports of many AMR genes before their dispersal amongst other clinically relevant Gram negatives. Here we discuss this phenomenon in detail, and then explore what is currently known about *K. pneumoniae* ecology and its genome plasticity, arguing that these characteristics position the species as a key amplifier and spreader of AMR genes from environmental sources to human pathogen populations.

Current Opinion in Microbiology 2018, 45:131–139

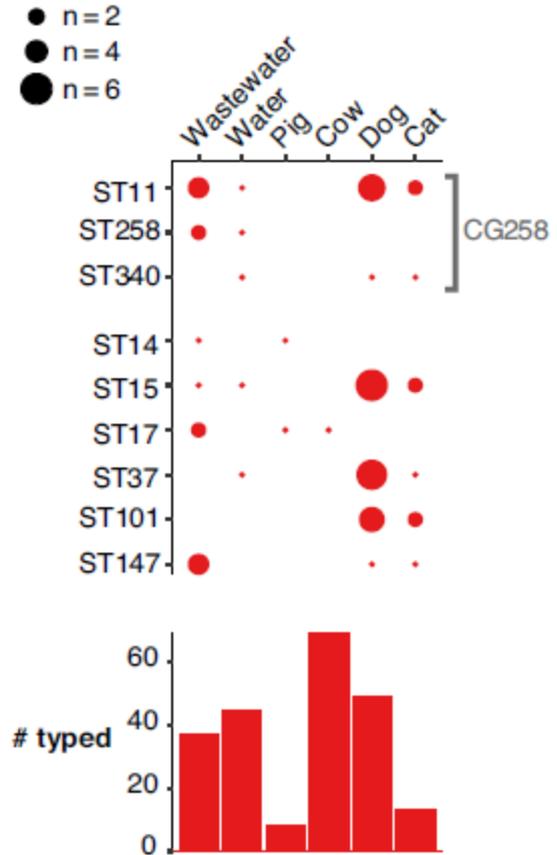
This review comes from a themed issue on Antimicrobials

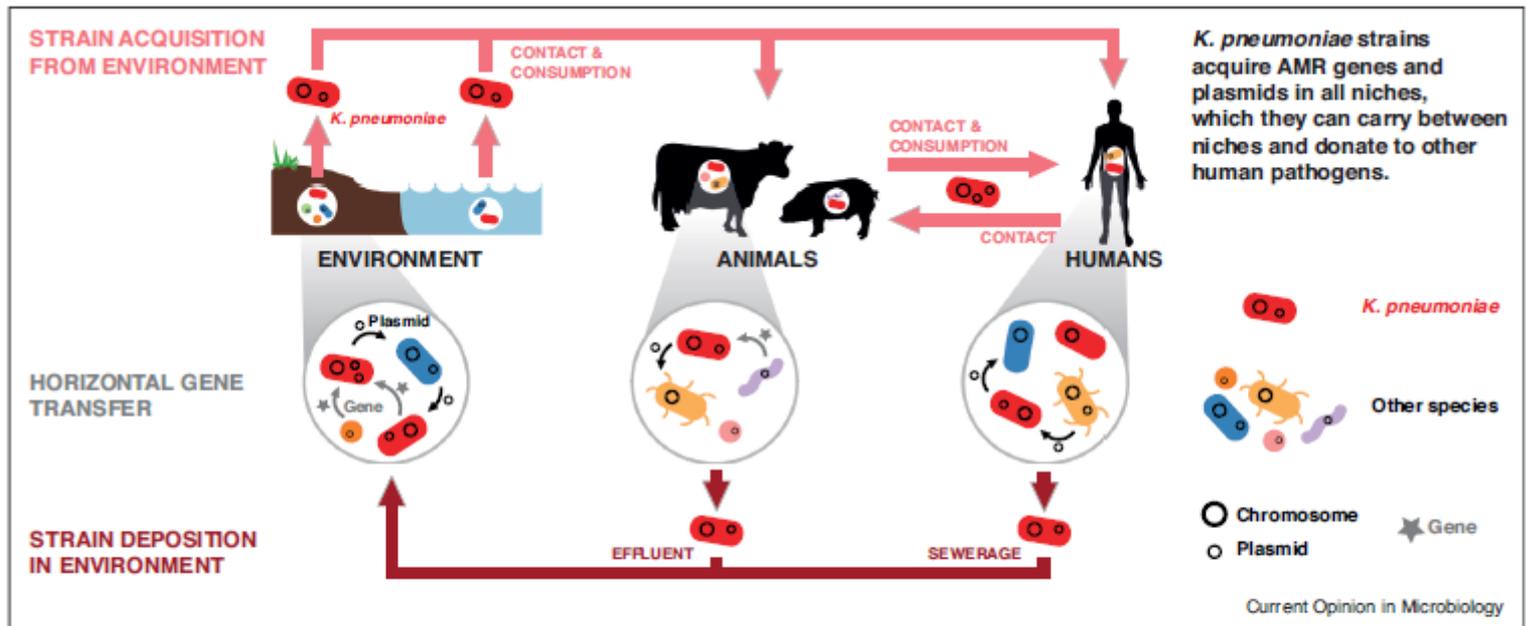
Edited by Gilles van Wezel and Gerard Wright

(a) Ecological distribution from 16S rRNA studies



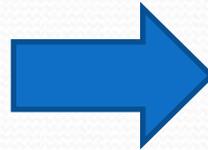
(b) Clinically important AMR *K. pneumoniae* sequence types





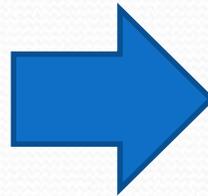
Model for AMR gene and plasmid trafficking by *K. pneumoniae*. Individual *K. pneumoniae* strains can move between niches in the environment, human and/or animal hosts, carrying with them acquired AMR genes and/or plasmids. Strains can move from the environment to human/animal hosts via contact or consumption of contaminated water sources or plant matter; between human and animal hosts via contact or consumption; and from hosts back to the environment via effluent or sewerage. *K. pneumoniae* strains can receive or donate plasmids via HGT with a diverse array of donor species in any of these niches, providing a pathway for transfer of AMR genes from environmental microbes to human pathogens.

● Paziente Colonizzato



- Tamponi rettali
- Urine
- Tamponi tracheali

● Paziente Infetto



Bal
Tamponi ferita
Emocolture

SORVEGLIANZA ATTIVA

Screening con tamponi di sorveglianza

- **Pazienti in ingresso in UTI, RRF, Ematologia, Nefrologia , NCH, medicina fisica e riabilitazione.....**
- **“ contatti “ di pazienti colonizzati /infetti**
- **Pazienti provenienti da altre strutture assistenziali**

La diagnostica microbiologica aiuta a controllare la diffusione dei batteri antibiotico-resistenti



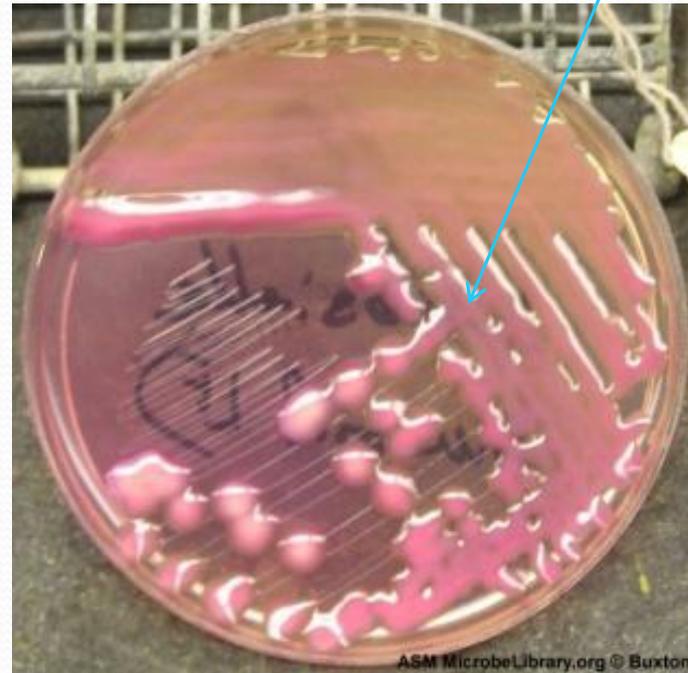
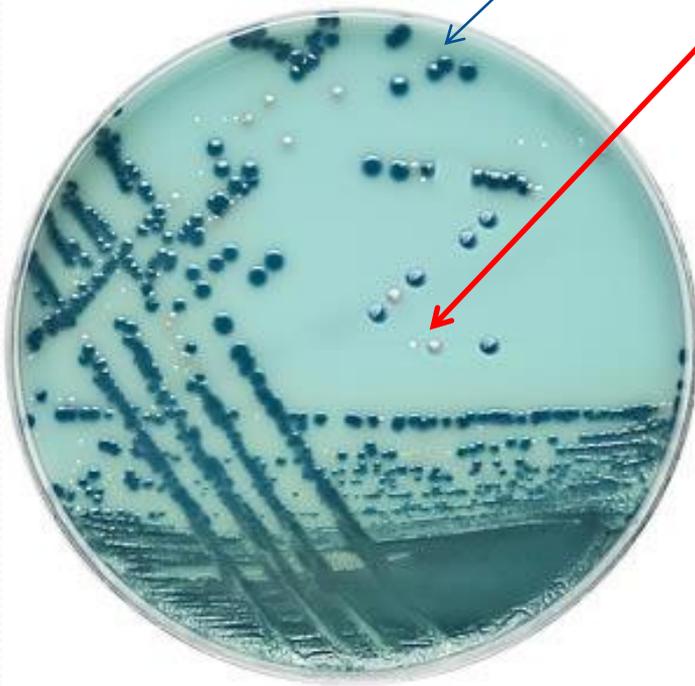
Ricerca sentinella:

1. **Enterobatteri resistenti ai carbapenemi (CRE)**
2. **Pseudomonas aeruginosa e Acinetobacter MDR**
3. **Stafilococco aureo MR (MRSA)**
4. **Enterococchi resistenti ai glicopeptidi(VRE)**

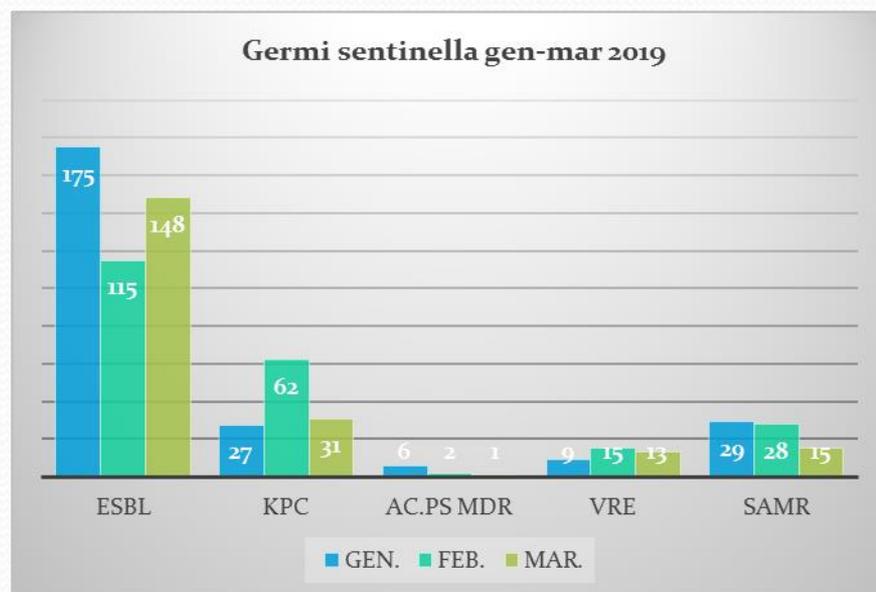
Semina su terreni cromogeni

**BATTERI
GRAM NEGATIVI**

1. Enterobatteri tipo KPC
2. Pseudomonas MDR
3. Acinetobacter MDR

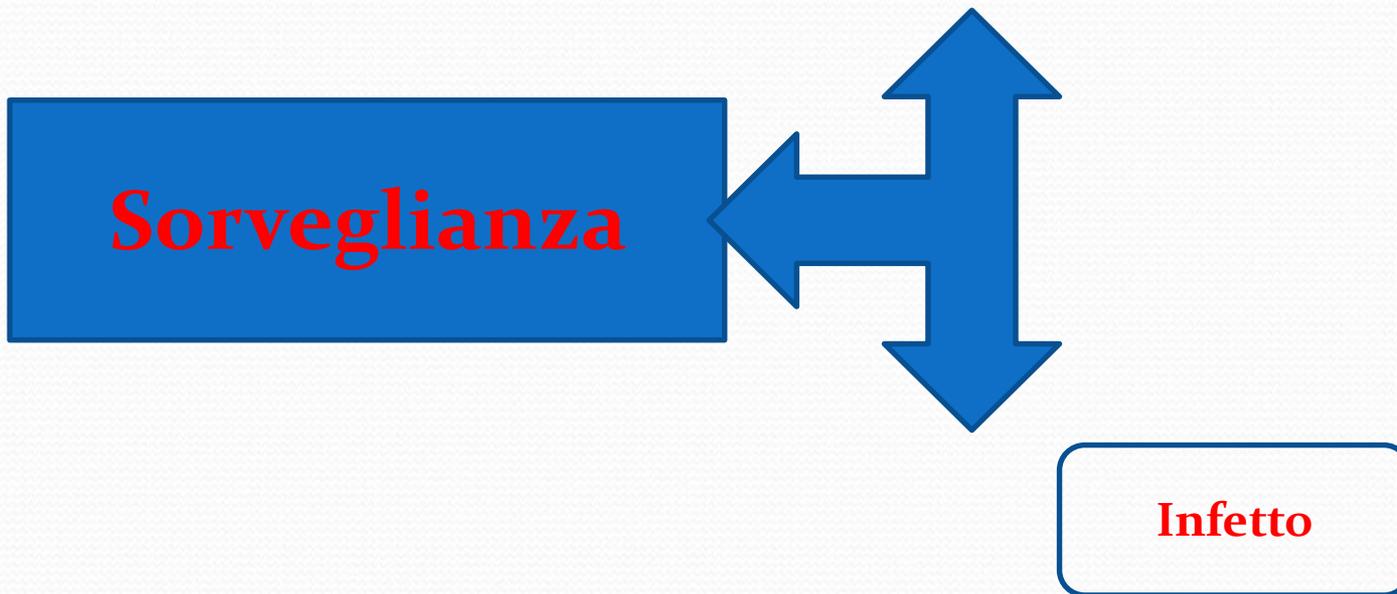


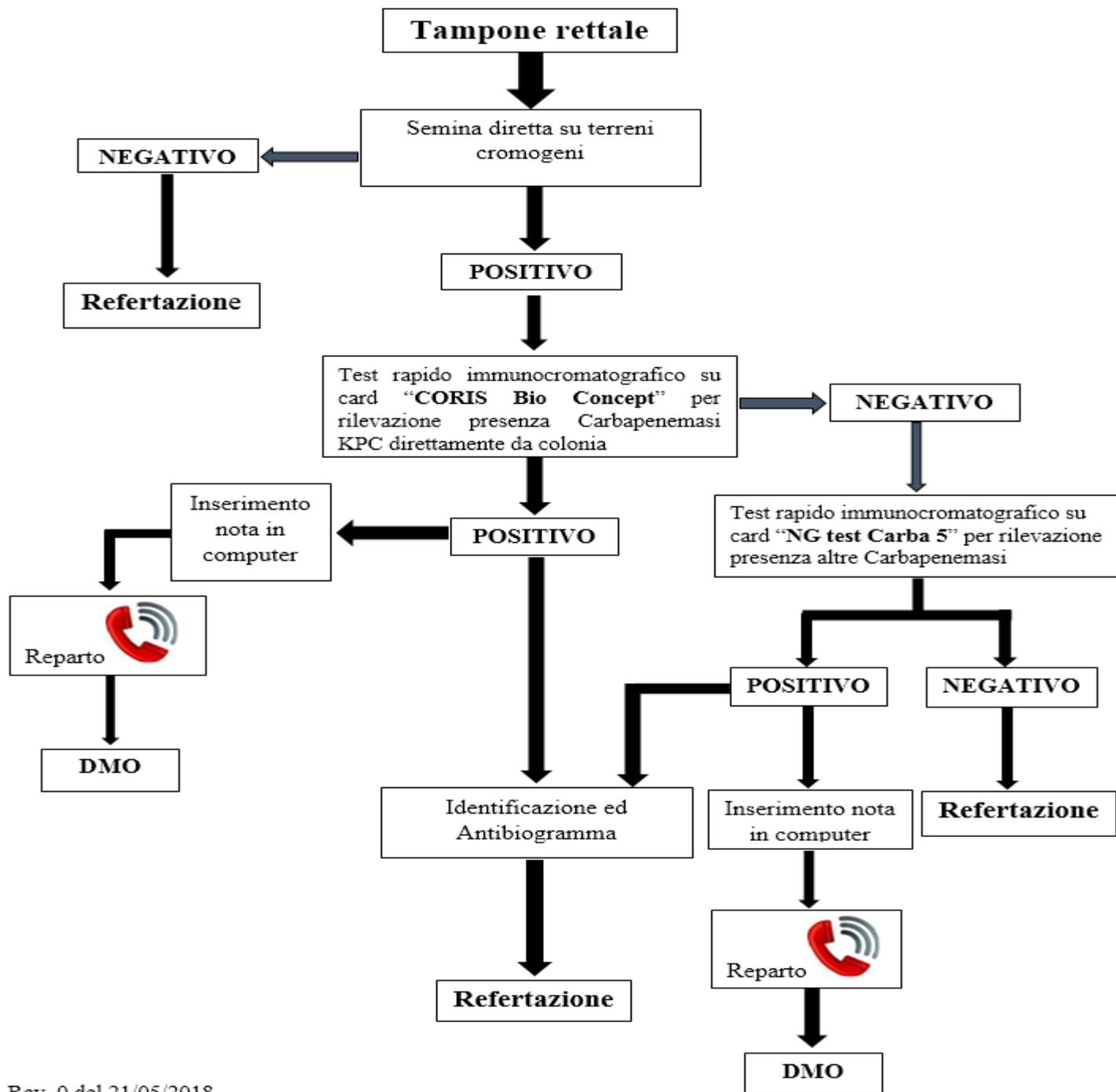
Germi Sentinella



Gestione di un cluster epidemico

Colonizzato

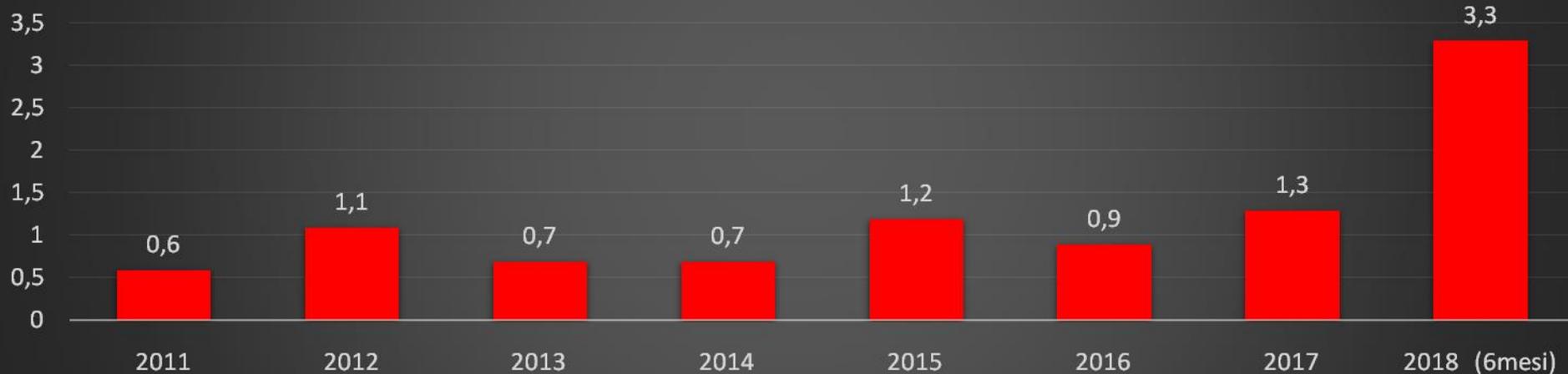




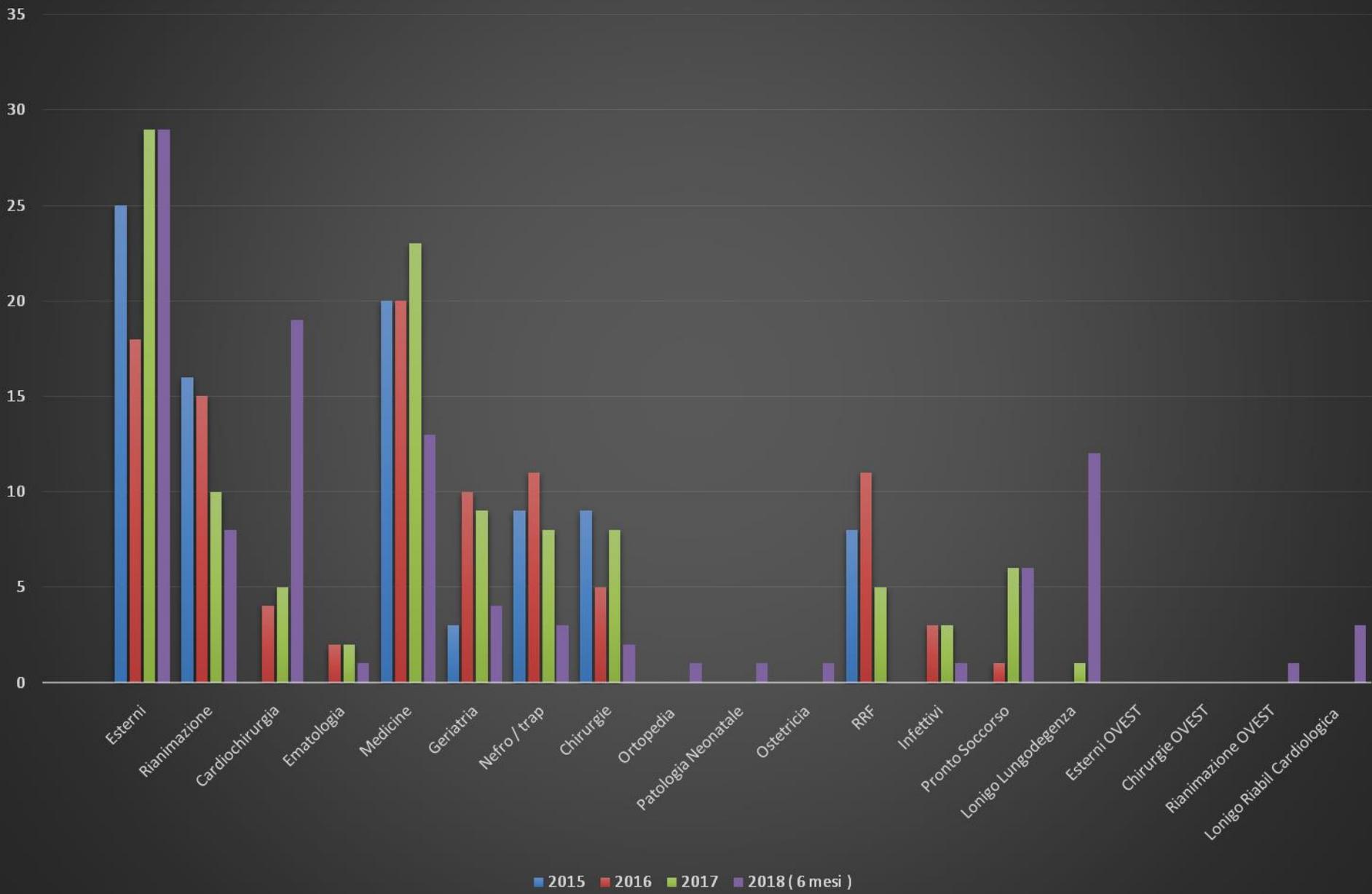
Tamponi rettali sorveglianza 2011-2018



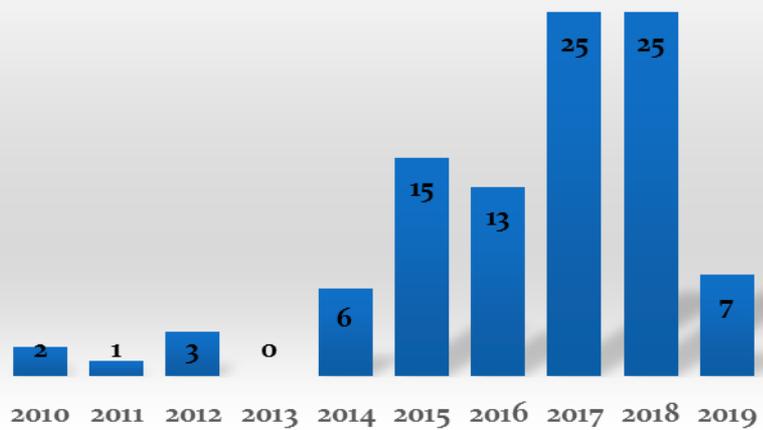
% PAZIENTI POSITIVI sui tamponi rettali



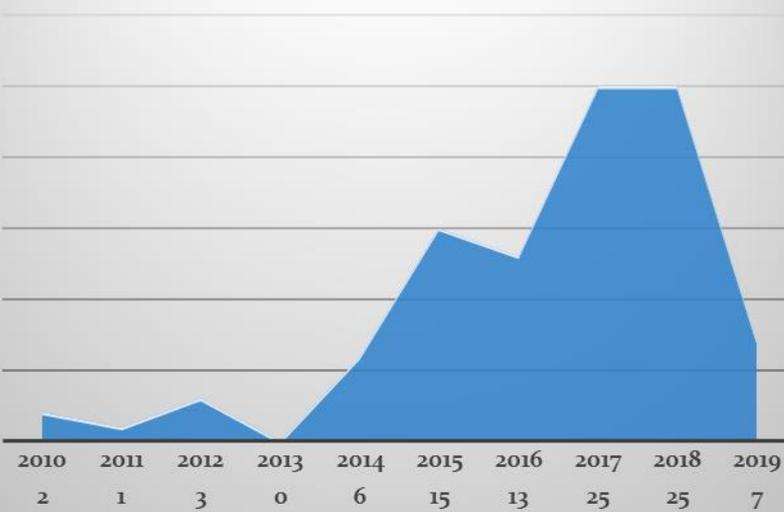
PAZIENTI con KPC da CAMPIONI CLINICI PER REPARTO 2016- 2018



Sepsi da KKPC



SEPSI da KPC



REGIONE DEL VENETO



ULSS8
BERICA



ORDINE DEI MEDICI CHIRURGHI
E DEGLI ODONTOIATRI

CORSO DI FORMAZIONE

**Il fenomeno
dell'antibioticoresistenza
al di fuori dell'ambito dell'acuto**



2 OTTOBRE 2019 OSPEDALE SAN BORTOLO
VICENZA

Le indagini di Laboratorio: dalla raccolta del
campione alla interpretazione dei risultati

Dr. ssa Luciana Bragagnolo
Dirigente U.O. Microbiologia e Virologia

COMPITO del LABORATORIO di MICROBIOLOGIA

**ISOLARE il
MICRORGANISMO
RESPONSABILE
dell'INFEZIONE**



**IDENTIFICARE IL
MICRORGANISMO a
LIVELLO di SPECIE**

scifair_INSIDE



**ESPRIMERE la
SENSIBILITA'
BATTERICA secondo i
CRITERI ORIENTATI
alla TERAPIA**



**SELEZIONARE
un'APPROPRIATA
BATTERIA di
ANTIBIOTICI da
SAGGIARE**

ANTIBIOGRAMMA: cos'è?

Test in vitro eseguito per rilevare la presenza o l'assenza di resistenza di un isolato batterico ad una serie di antibiotici utilizzabili per il trattamento dell'infezione sostenuta da quell'isolato.

- Cos'è?
- A cosa serve?
- Come e quando si fa ?
- Come si interpreta ?
- Meccanismi di resistenza

ANTIBIOGRAMMA: a cosa serve?

«Dal punto di vista del clinico l'antibiogramma è considerato spesso più importante dell'identificazione del patogeno»

(J.D Turnidge, Manual clinical microbiol, ASM press, 2016)

- **TERAPIA MIRATA:** Predire l'outcome della terapia con l'antibiotico testato.
- **SORVEGLIANZA** monitoraggio esempio CRE
- **EPIDEMIOLOGIA** terapia empirica nelle infezioni gravi

ANTIBIOGRAMMA: quando si fa?

- Quando il microorganismo può essere coltivato (es.: No per *Chlamydia*, no per *Mycoplasmi*)
- Quando esistono precise linee guida per farlo (es.: No per *Legionella pneumophila*, batteri esigenti etc.)
- Quando il microorganismo isolato ha o può avere un significato clinico (es.: No per CoNS da campioni respiratori)
- Si ripete quando il microorganismo può acquisire resistenza durante la terapia (es.: *Pseudomonas aeruginosa*)

QUANDO ESEGUIRE un ANTIBIOGRAMMA

Antibiogramma utile - Antibiogramma inutile

Un antibiogramma è INUTILE

- Quando il microrganismo isolato non può essere ragionevolmente considerato responsabile di una infezione nel sito in cui il campione è stato prelevato (FLORA COMMENSALE o CONTAMINANTE: Streptococchi orali o *H. parainfluenzae* isolati da secrezioni bronchiali) o quando il n° di CFU/ml è inferiore alla soglia significativa (nelle urine o nelle secrezioni bronchiali).
- Quando il patogeno isolato appartiene ad una specie che è costantemente SENSIBILE ad un trattamento standard, o per la quale non esiste una correlazione fra l'attività *in vitro* ed *in vivo*.
- In quelle infezioni cutanee dove è indicato un trattamento topico o chirurgico.

ANTIBIOGRAMMA: come si fa?

- **Metodi genotipici** : test in biologia molecolare
rilevano i geni di resistenza (es.: KPC, *mecA*, *vanA*)
Non ho antibiogramma
- **Metodi fenotipici = antibiogramma**
 - **Qualitativi**: “Sensibile”, “Resistente”, “Intermedio”
 - **Quantitativi: MIC”**

ANTIBIOGRAMMA: come si fa?

... in ogni caso si parte da una coltura pura o da una colonia isolata e ci vogliono 24 h.... per ottenere la MIC



MIC

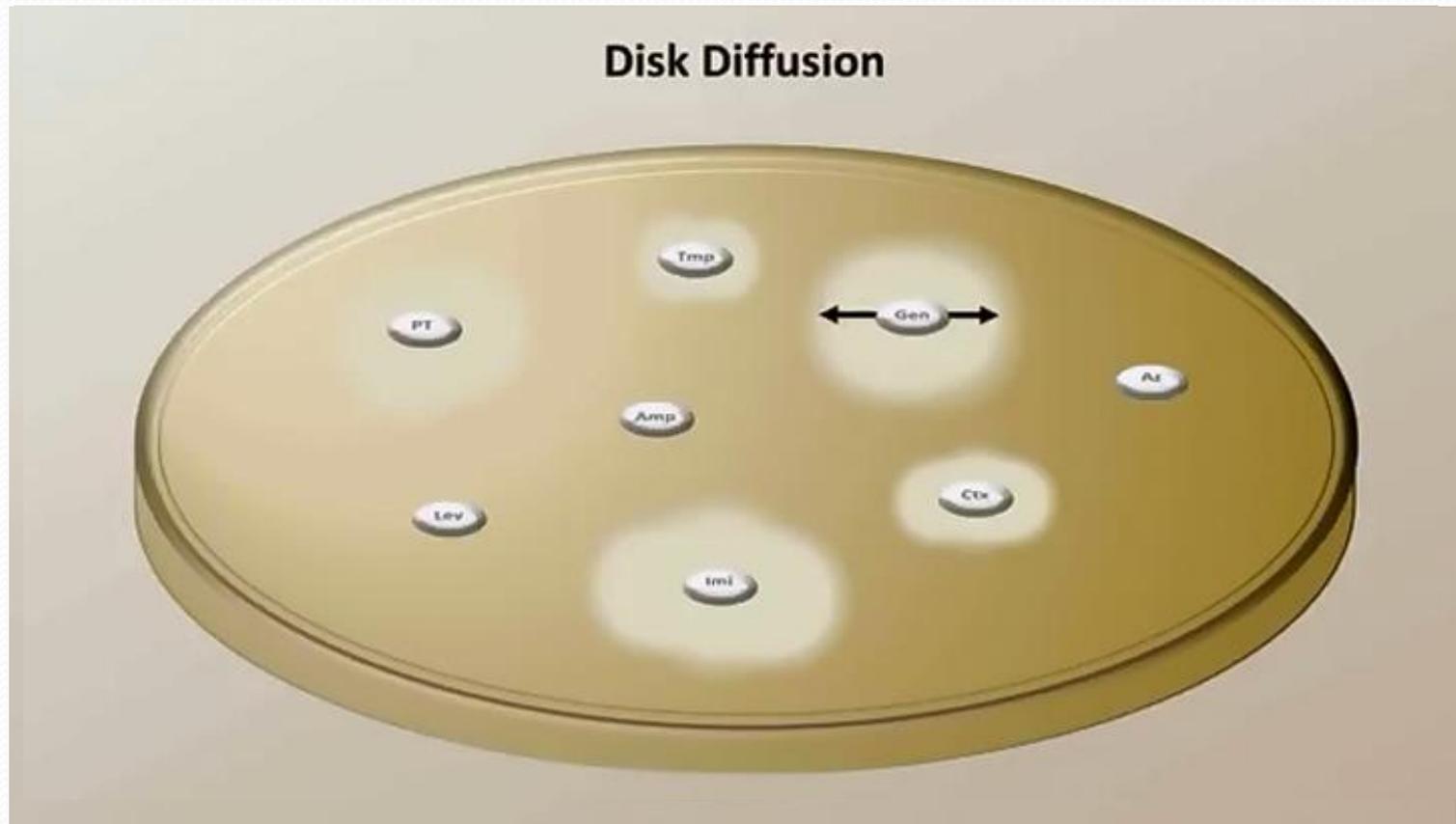
Concentrazione Minima di Antibiotico in grado di inibire, **in condizioni sperimentali prefissate**, ogni segno visibile di crescita del microorganismo

Conoscere i valori di MIC, in genere, è importante per impostare la terapia di infezioni gravi o difficili da trattare (es. endocardite, meningite, sepsi, infezioni da MDRO, infezioni nell'ospite immunocompromesso etc)

MIC: come si determina

- Diluizione in brodo – Macrometodo
- **Diluizione in brodo – Micrometodo**
- Agar diffusione : Kirby Bauer
- E-test (gradient-diffusion)
- Strumenti automatici

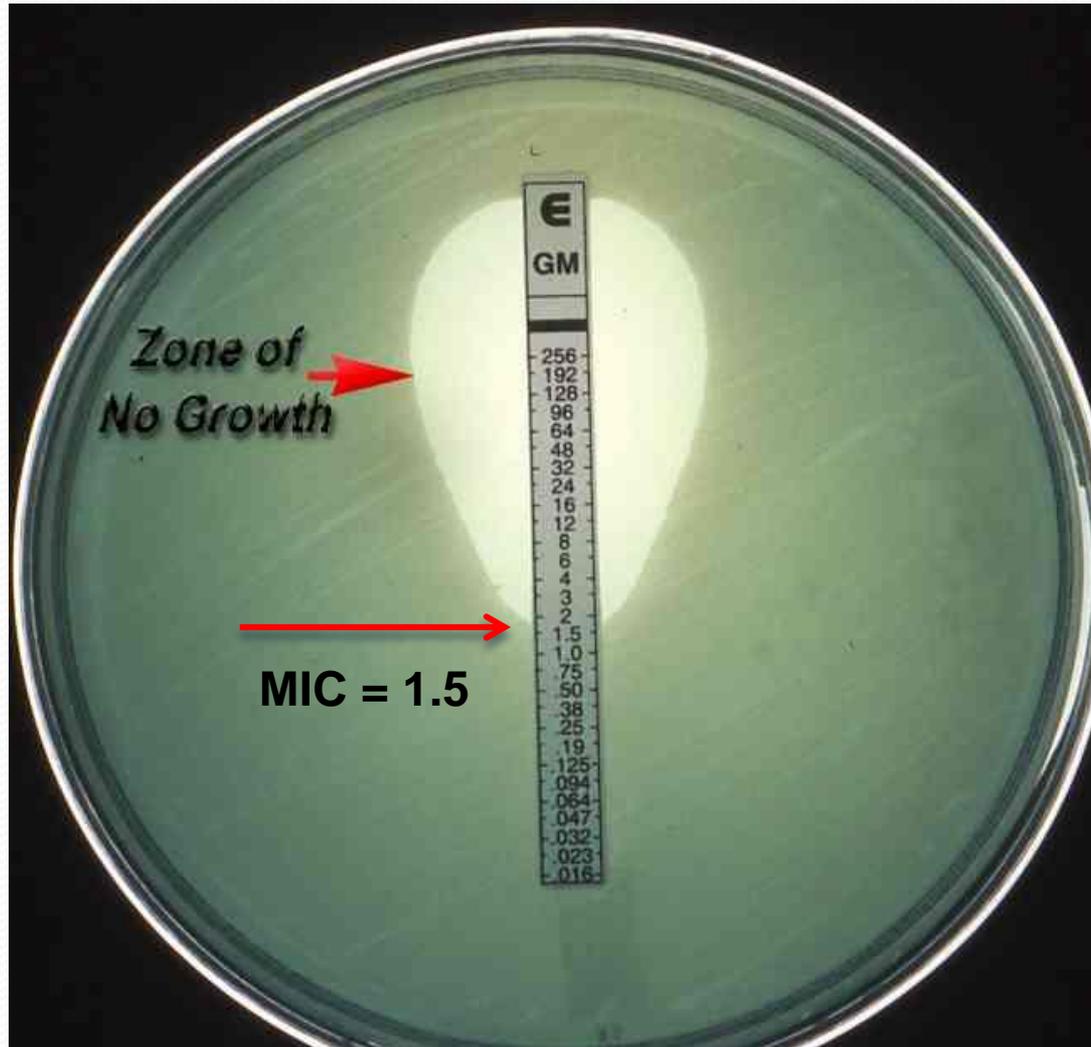
Antibiogramma per diffusione (Kirby-Bauer)



Misura dell'alone di inibizione

E-test

ad esempio: gentamicina vs *Pseudomonas* spp



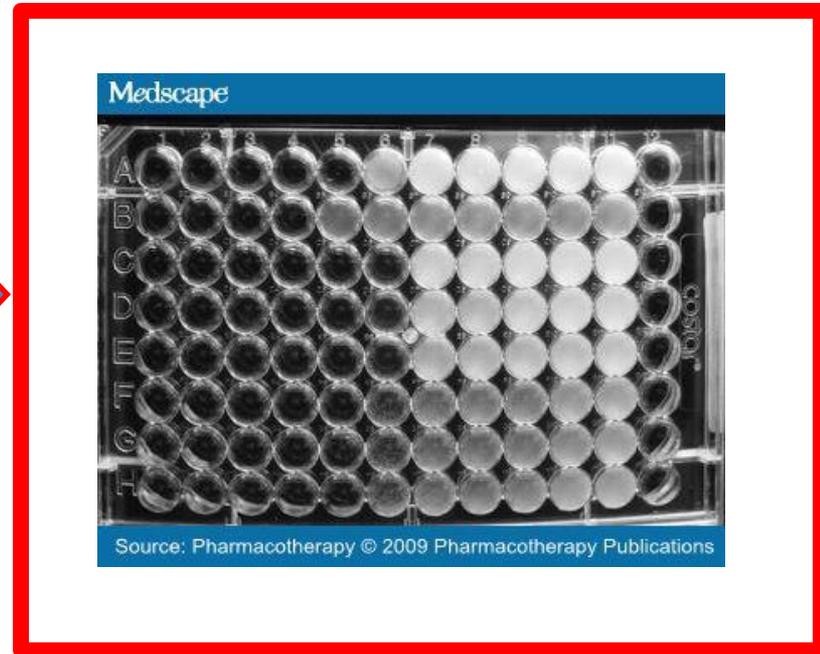
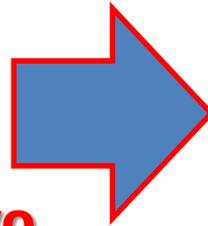
Antibiogramma



Kirby Bauer
Metodo Qualitativo

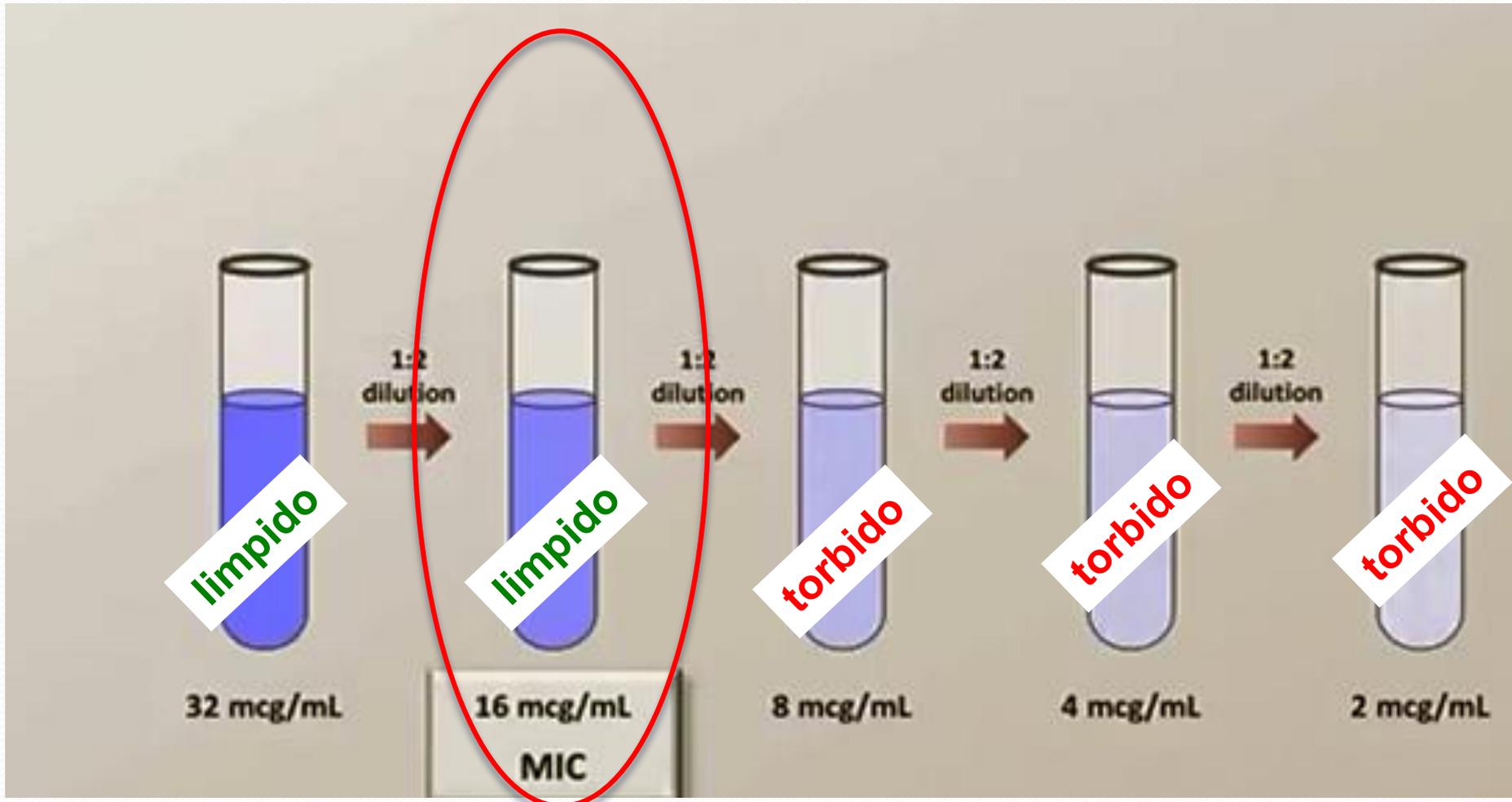


MIC
Metodo
Quantitativo

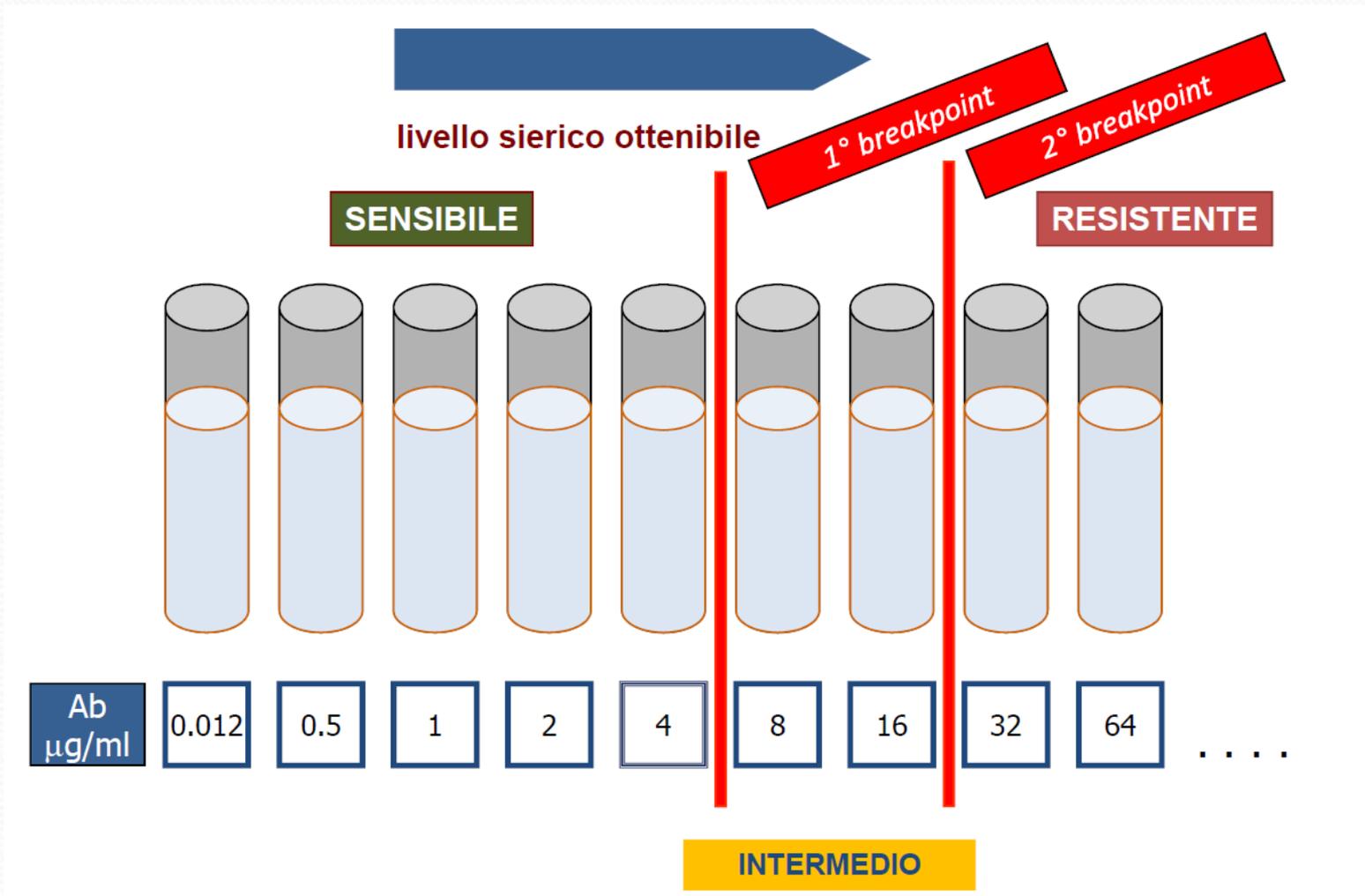


E-Test
Metodo
quantitativo

Diluizione in brodo – macrometodo ad esempio: meropenem vs *Pseudomonas* spp



Breakpoints



I *breakpoints* clinici

Reference MIC/zone values for interpretation of the results of *in vitro* susceptibility testing



Definizione di categorie di sensibilità (S/I/R) riferite all'uso clinico

I *breakpoints* clinici sono definiti da specifici comitati

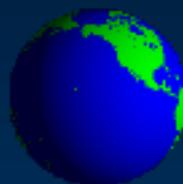


EUCAST

EUROPEAN COMMITTEE
ON ANTIMICROBIAL
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

MIC breakpoints – the reference for routine susceptibility testing methods



Gunnar Kahlmeter

ECCMID 2010



EUCAST

EUROPEAN COMMITTEE
ON ANTIMICROBIAL
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

S= sensibile, il livello di attività dell'antibiotico nei confronti del microrganismo è associato ad una elevata probabilità di successo terapeutico

R= resistente, il livello di attività dell'antibiotico nei confronti del microrganismo è associato ad una elevata probabilità di fallimento terapeutico

I=intermedio, 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 utilizzando alti dosaggi*

SCelta DEL SISTEMA DI *BREAKPOINT* PER L'INTERPRETAZIONE DEI SAGGI DI SENSIBILITÀ AGLI ANTIBIOTICI

Il Comitato di studio per gli antimicrobici (CoSA) di AMCLI raccomanda l'adozione del sistema di *breakpoint* EUCAST per l'interpretazione dei saggi di sensibilità agli antibiotici.

Il Comitato raccomanda di procedere rapidamente all'adozione del nuovo sistema di *breakpoint* EUCAST per l'interpretazione dei saggi di sensibilità agli antibiotici nei laboratori di Microbiologia Clinica italiani.

A questo riguardo si raccomanda:

- a) di procedere quanto prima all'implementazione del sistema di *breakpoint* EUCAST nelle apparecchiature automatiche per l'esecuzione dell'antibiogramma (anche se *card*/pannelli ottimizzati per EUCAST non fossero ancora disponibili);
- b) di condividere le informazioni relative al cambiamento del sistema di interpretazione con tutte le parti interessate (colleghi delle discipline cliniche, direzione sanitaria, CIO, farmacia ospedaliera);
- c) di adottare il nuovo sistema al più tardi entro gennaio 2011.

Comitato di Studio AMCLI per gli Antimicrobici (CoSA)

Giovanni Gesu, Francesco Luzzaro, Laura Pagani, Gian Maria Rossolini, Mario Sarti, Stefania Stefani, Pietro Emanuele Varaldo

LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA

Direttore: dott. Mario Rassu

Rif. : 8098175594
 D/N.: : 31/09/1941
 Codice Fisc. : MNAGMN41M71E731Y
 Richiedente : Cardiochir.Degenze
 Check In : 11/09/2018 08H28M
 Stampa del : 17/09/2018 12H49M

Esame	Risultato	Unita' Di Misura	Valori di Riferimento
-------	-----------	------------------	-----------------------

Laboratorio di Microbiologia e Virologia**BATTERIOLOGIA****RICERCA GERMI SENTINELLA:**

Sono stati ricercati: Enterobatteri Carbapenemasi Produttori(C.R.E.),Pseudomonas e Acinetobacter multiresistenti (M.D.R.)

Materiale in esame: Tamp. rettale di sorveglianza

Test rapido conferma Carbapenemasi (IC)

POSITIVO

Sviluppo di:

Klebsiella pneumoniae**TEST DI SENSIBILITA'**

Interpretazione secondo Linee Guida EUCAST

Legenda: S = Sensibile, R = Resistente, I = Intermedio, SDD = Sensibile Dose Dipendente

1. *Klebsiella pneumoniae*

Antibiotico		I	
Ertapenem	R	>=1,000	µg/L
Tigecyclina	S	0,500	µg/L
Anoxicillina/Ac. Clavulanico	R	>8/4	µg/L
Amikacina	R	>=16,000	µg/L
Ceftazidime	R	>=64,000	µg/L
Ciprofloxacina	R	>=1,000	µg/L
Cefepime	R	>=8,000	µg/L
Colistina	S	<=2	µg/L
Cefotaxime	R	>=64,000	µg/L
Gentamicina	S	<=2	µg/L
Levofloxacina	R	>=1,000	µg/L
Meropenem	R	>=32,000	µg/L
Piperacillina/Tazobactam	R	>=16,000	µg/L
Trimetoprim/Sulfametossazolo	R	>4/76	µg/L
Tobramicina	R	>=4,000	µg/L
Ampicillina	R	>=8,000	µg/L

Stato della richiesta:

Completa

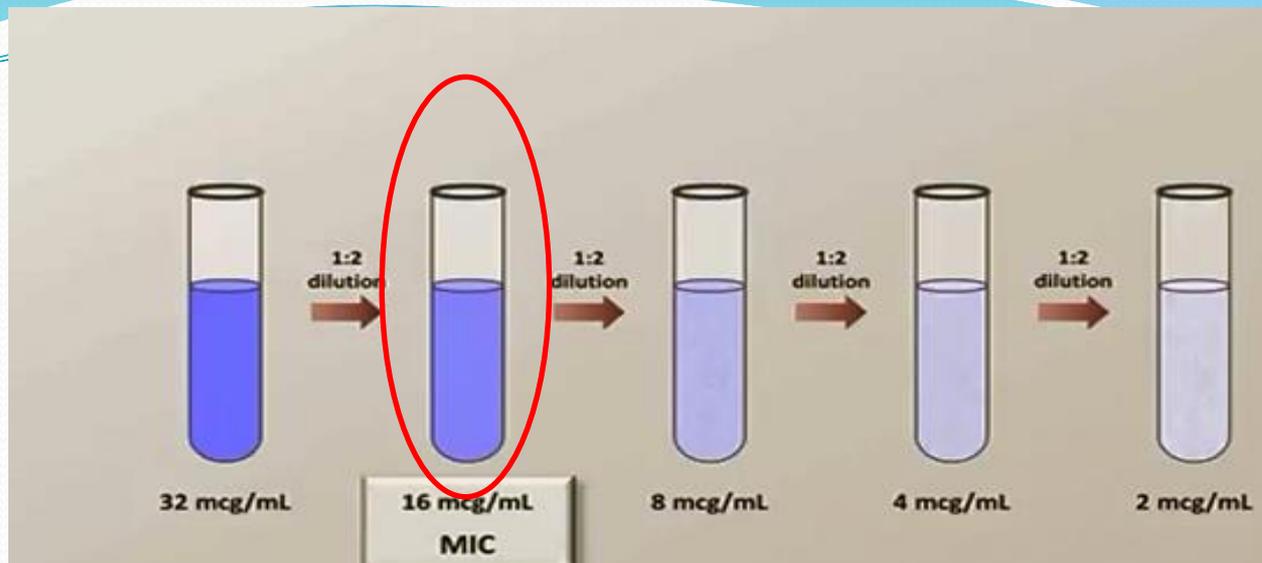
Note: Ceppo produttore di carbapenemasi; la terapia con carbapenemi potrebbe risultare scarsamente efficace o inefficace anche se "in vitro" il ceppo appare sensibile. Nel caso in cui si intendano utilizzare tali farmaci si raccomanda una preventiva consulenza con un esperto di terapia antibiotica.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters

Version 6.0, valid from 2016-01-01

Enterobacteriaceae	5	
<i>Pseudomonas</i> spp.	10	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	15	Lin
<i>Burkholderia cepacia</i>	-	Lin
<i>Acinetobacter</i> spp.	16	
<i>Staphylococcus</i> spp.	21	
<i>Enterococcus</i> spp.	26	
Streptococcus groups A, B, C and G	31	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	36	
Viridans group streptococci	41	
<i>Haemophilus influenzae</i>	46	
<i>Moraxella catarrhalis</i>	51	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	56	
<i>Neisseria meningitidis</i>	61	
Gram-positive anaerobes	66	
<i>Clostridium difficile</i>	71	
Gram-negative anaerobes	72	
<i>Helicobacter pylori</i>	76	
<i>Listeria monocytogenes</i>	77	
<i>Pasteurella multocida</i>	78	
<i>Campylobacter jejuni</i> and <i>coli</i>	80	
<i>Corynebacterium</i> spp.	81	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	83	
PK/PD (Non-species related) breakpoints	84	



Penicillins ¹	MIC breakpoints (mg/L)		
	S ≤	R >	ATU
Benzylpenicillin	-	-	
Ampicillin	8 ¹	8	
Ampicillin-sulbactam	8 ^{1,2}	8 ²	
Amoxicillin	8 ¹	8	
Amoxicillin-clavulanic acid	8 ^{1,3}	8 ³	
Amoxicillin-clavulanic acid (uncomplicated UTI only)	32 ^{1,3}	32 ³	
Piperacillin	8	16	
Piperacillin-tazobactam	8 ⁴	16 ⁴	16
Ticarcillin	8	16	
Ticarcillin-clavulanic acid	8 ³	16 ³	
Temocillin	Note ⁵	Note ⁵	

Fluoroquinolones	MIC breakpoints (mg/L)		
	S ≤	R >	ATU
Ciprofloxacin	0.25	0.5	0.5
Ciprofloxacin, <i>Salmonella</i> spp. ¹	0.06	0.06	
Pefloxacin (screen), <i>Salmonella</i> spp. ¹	NA	NA	
Levofloxacin	0.5	1	
Moxifloxacin	0.25	0.25	
Nalidixic acid (screen)	NA	NA	
Norfloxacin (uncomplicated UTI only)	0.5	1	
Ofloxacin	0.25	0.5	

Enterobacterales*

Expert Rules and Intrinsic Resistance Tables

Nota esplicativa nel referto microbiologico in caso di enterobatteri con produzione di ESBLs

“Ceppo produttore di beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL); ad eccezione dei carbapenemi, la terapia con beta-lattamici (incluse cefalosporine a spettro esteso, aztreonam e combinazioni con inibitori) 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 preventiva consulenza con un esperto di terapia antibiotica.

I ceppi produttori di ESBL possono causare epidemie intraospedaliere; si raccomanda l'adozione di procedure di infection control per limitarne la diffusione.”

**Nota esplicativa nel referto microbiologico in caso di
enterobatteri
con produzione di carbapenemasi**

“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 preventiva consulenza con un esperto di terapia antibiotica.

I ceppi produttori di carbapenemasi possono causare epidemie intraospedaliere; si raccomanda l'adozione di procedure di infection control per limitarne la diffusione.”

Nota esplicativa da aggiungere al referto microbiologico in caso di VRE

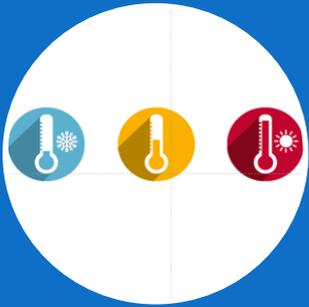
“ Enterococchi vancomicina resistente (VRE) : meccanismo di resistenza ad alto rischio di diffusibilità.
Si raccomanda l'adozione di utilizzare le procedure standard e da contatto per prevenire la diffusione del microorganismo.”

Urocoltura

- Urocoltura da mitto intermedio
- Urocoltura da catetere
- Urocoltura da stomia (pos > 10.000 UFC/ml)

- Valori positivi : > 100.000 UFC/ ml
- Fino a 2 ceppi si identificano
- Da 3 ceppi diversi : Flora microbica mista

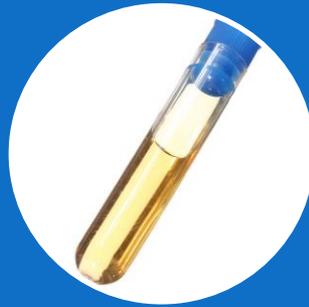
Definire a priori le caratteristiche di accettabilità di trasporto dei campioni biologici



Temperature
min-max



Tempo tra
raccolta e
consegna



Posizione dei
campioni (Ad
es. Verticale)

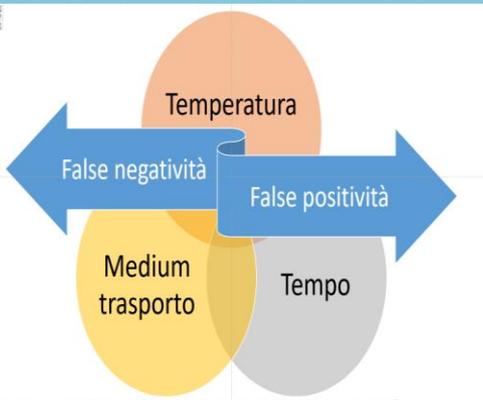


Pretrattamento
del campione



Medium di
trasporto





Internal Temperature

Geographic Location

Security Access

Speed

Max Acceleration

Humidity

Tilt

45°

WAKELABILITY

TIME	TEMP	ACC	MAX	STATUS
08/07	20.0	0.0	0.0	1
09/07	19.0	0.0	0.0	1
10/07	18.0	0.0	0.0	1

Infezioni del tratto urinario

- Le urine non devono essere conservate a temperatura ambiente oltre i 30 minuti.
- Devono essere poi messe in frigorifero a 4° C oppure conservate con acido bórico
- Dopo un test di screening positivo si procede ad esame colturale
- Negativi: referto in giornata
- Non va chiesto al laboratorio di riportare qualunque sviluppo senza un dato clinico indicativo



Urocoltura

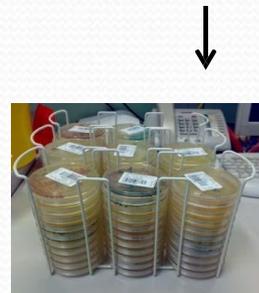
Citofluorimetro nel laboratorio di chimica-clinica che esegue l'esame urine standard e l'urinocoltura



Le urinocolture positive vengono trasportate in microbiologia dove vengono processate



Semina delle urine in Chromagar
Con ansa da 1 µl con tratto da semina per conta



Incubazione a 37°
C per 24h

Letture

Negativa :
<100.000 UFC/ml

Positiva:
>100.000 UFC/ml

Identificazione e
antibiogramma



Escherichia coli



Morganella morganii



Klebsiella pneumoniae



Alcuni
ceppi

Enterobacter cloacae



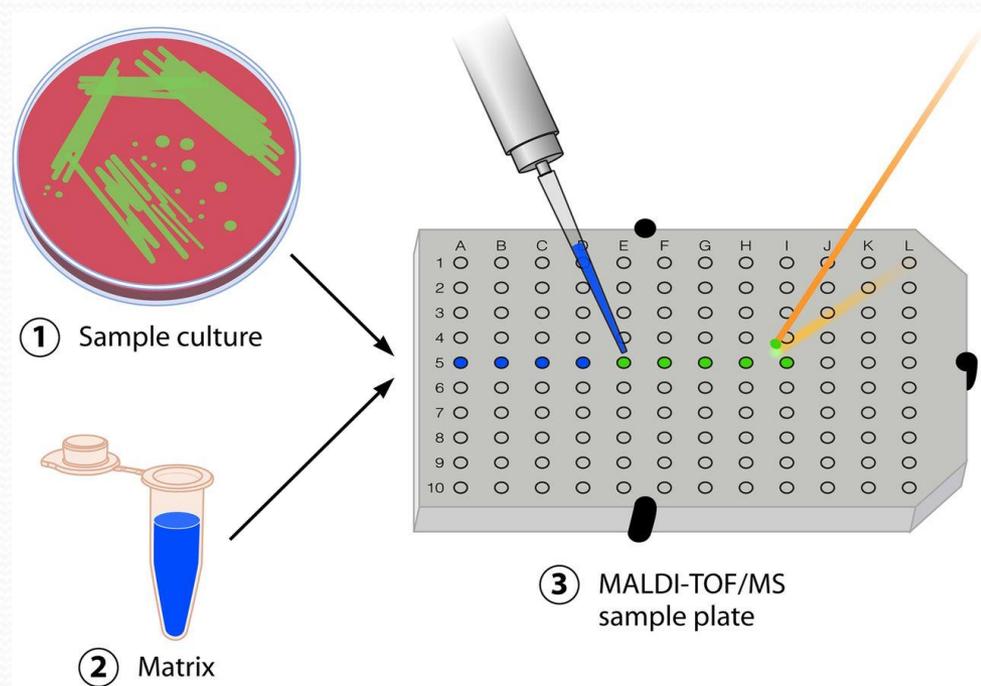
Enterococco



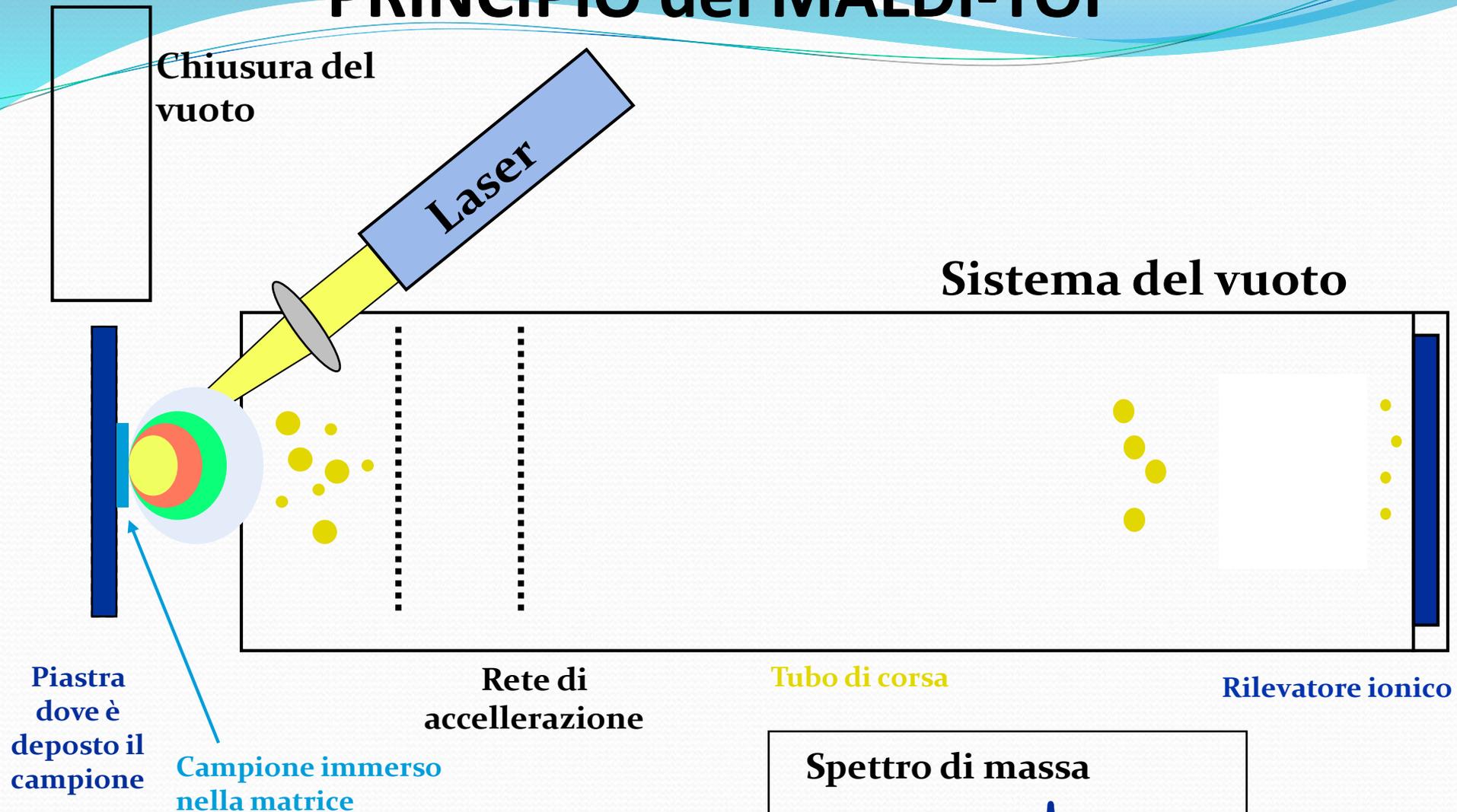
MALDI-TOF



Caricamento su piastra MALDI



PRINCIPIO del MALDI-TOF

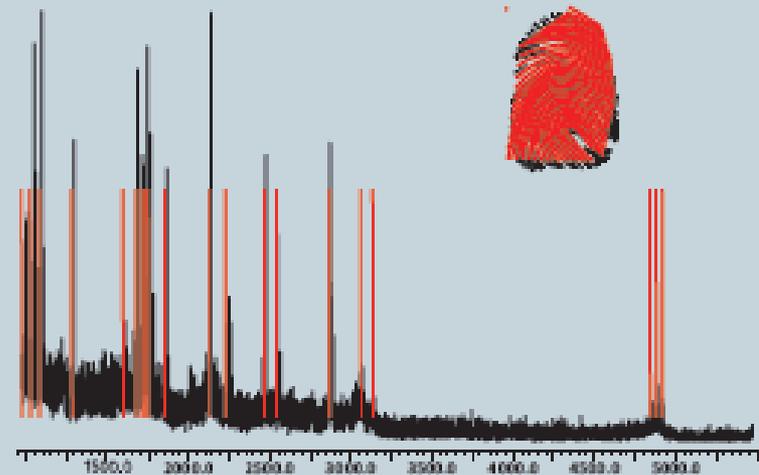
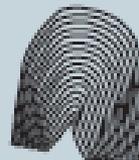
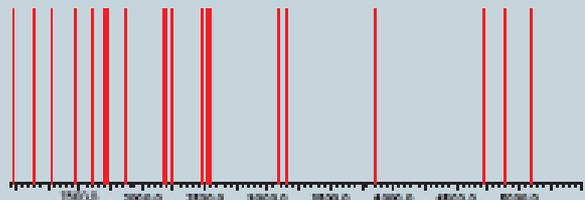
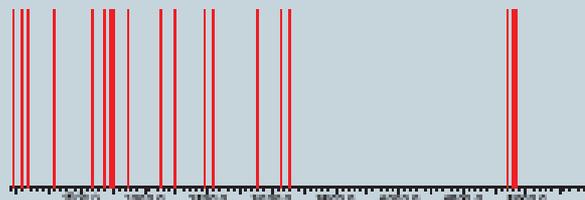
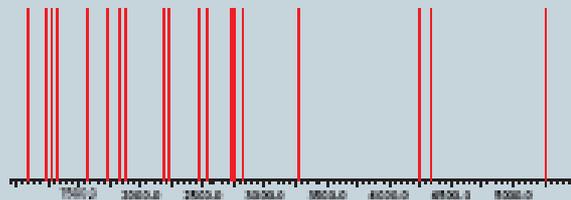
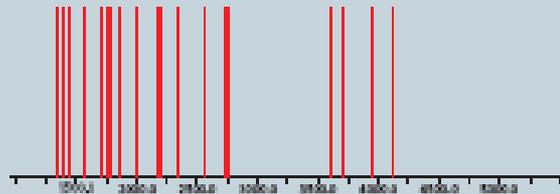


Spettro di massa



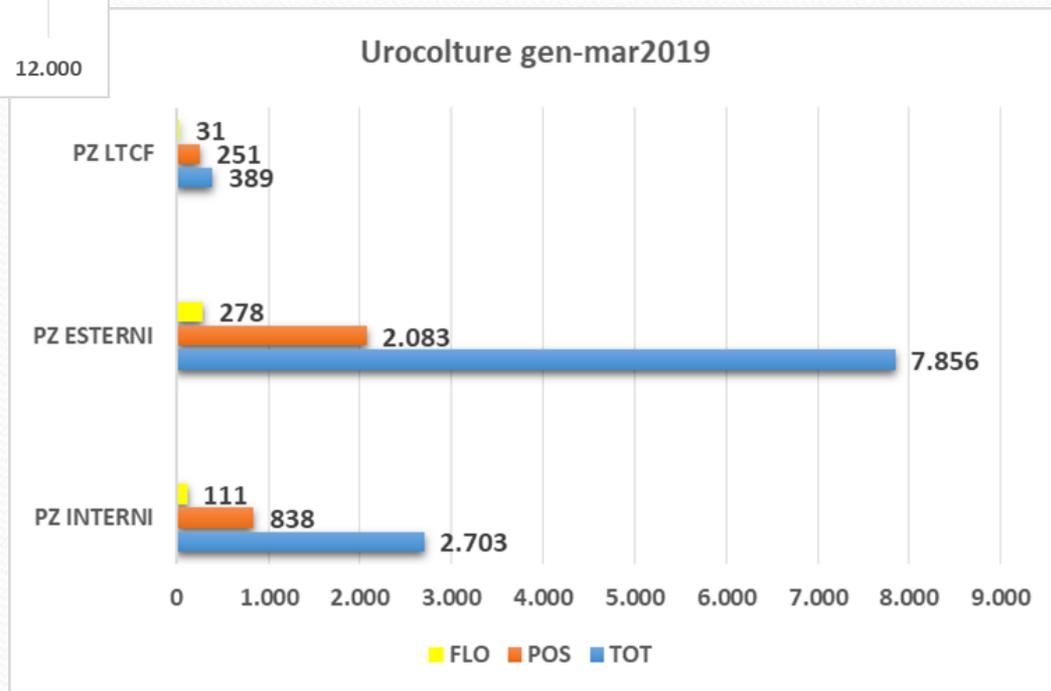
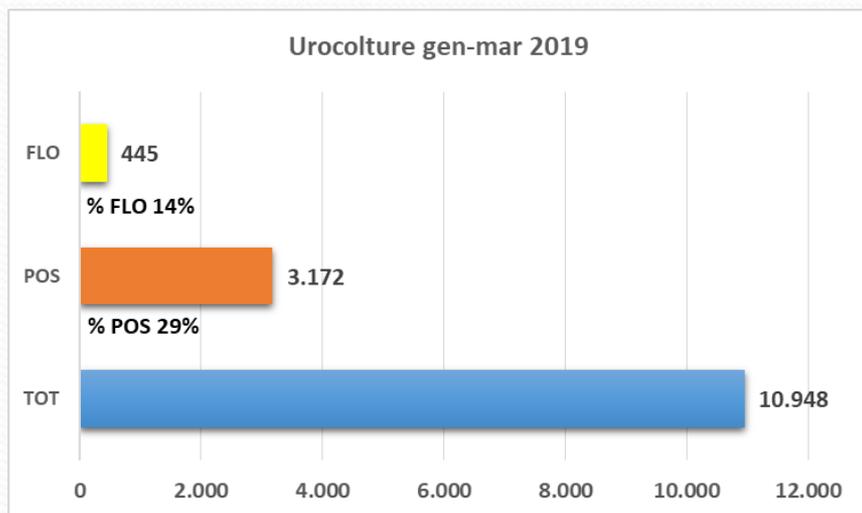
Lo spettro di massa riflette essenzialmente le molecole dell'analita

Proteins Profiling

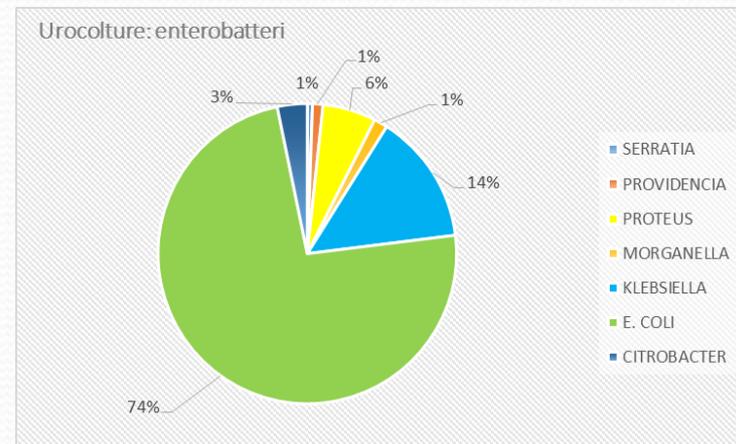
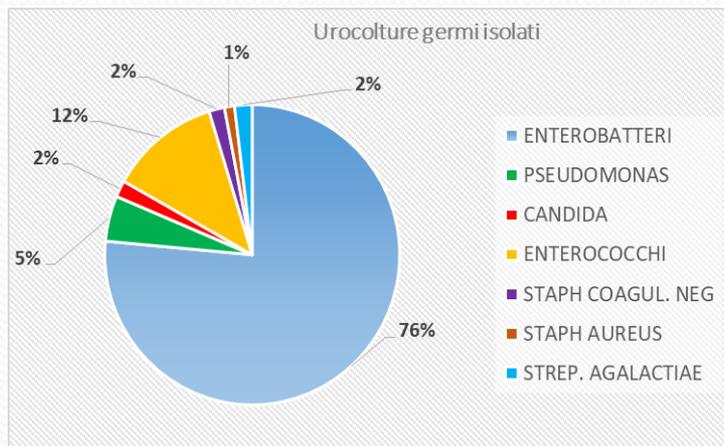
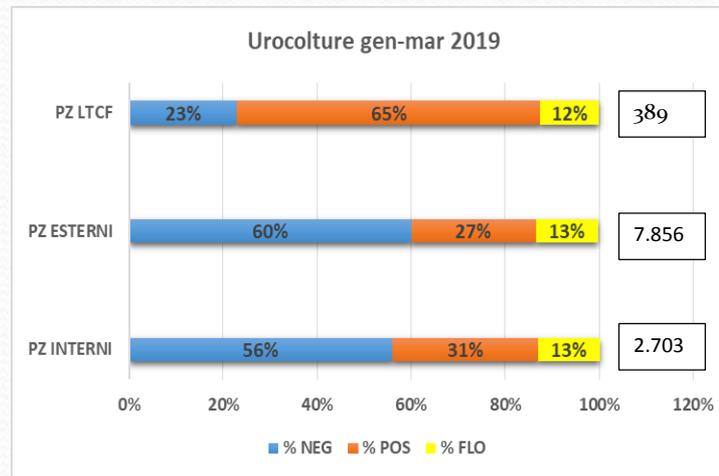


MALDI MS Peptide/Protein
Fingerprint

UROCOLTURE



UROCOLTURE



E. coli isolato in Urocolture gen mar 2019



Escherichia coli

Profili di resistenza degli isolati di *E. coli* in campioni clinici

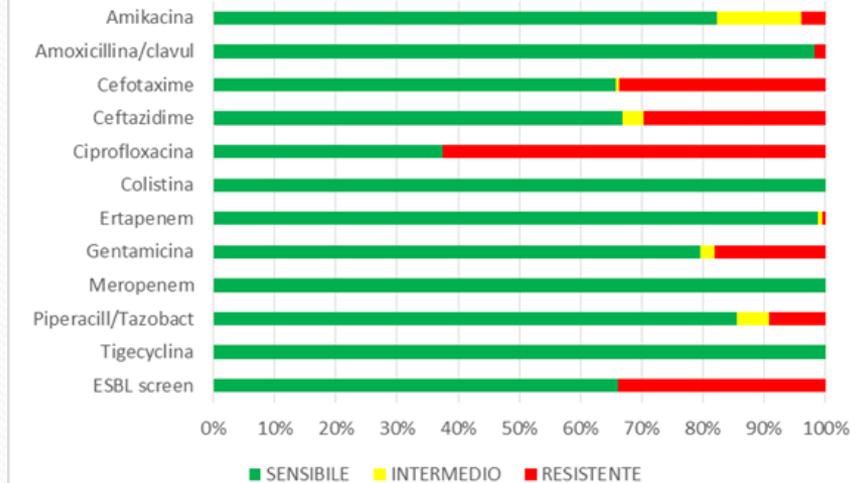
ESTERNI: 1470

LTCF: 175

E. coli Pz Esterni
gen-mar 2019

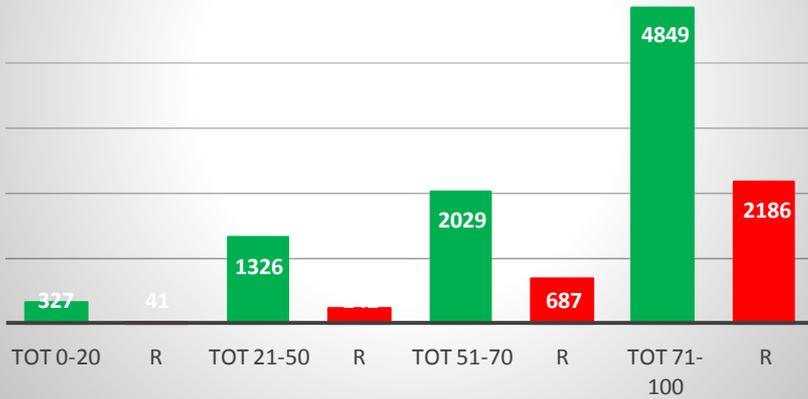


E. coli Pz. LTCF
gen-mar 2019

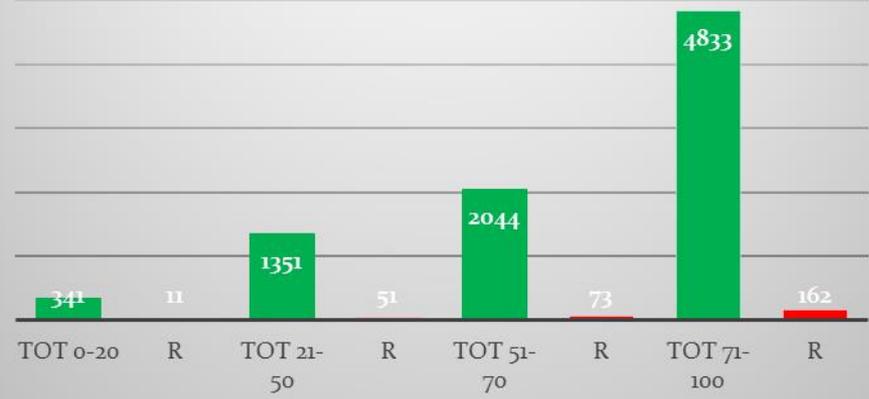


Resistenze in Escherichia coli Stratificate per età

Ciprofloxacina 2018 - 8700 ceppi

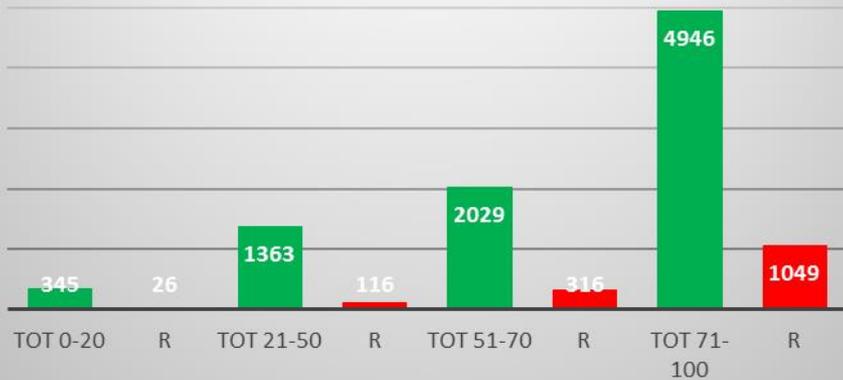


Amoxi/clavulanico 2018 - 8700 ceppi



Resistenze in Escherichia coli Stratificate per età

Cefotaxime 2018 - 8700 ceppi



Ceftazidime 2018 - 8700 ceppi

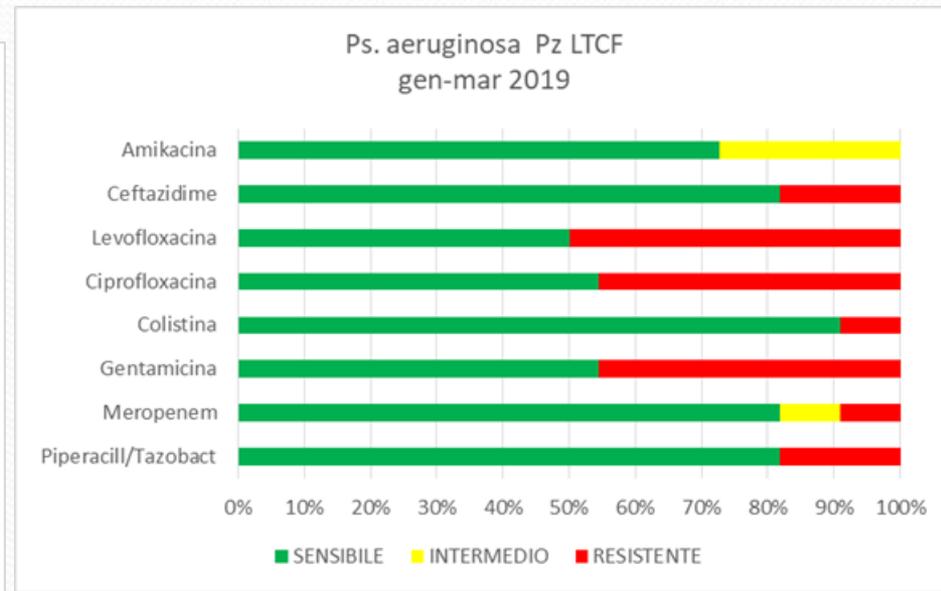
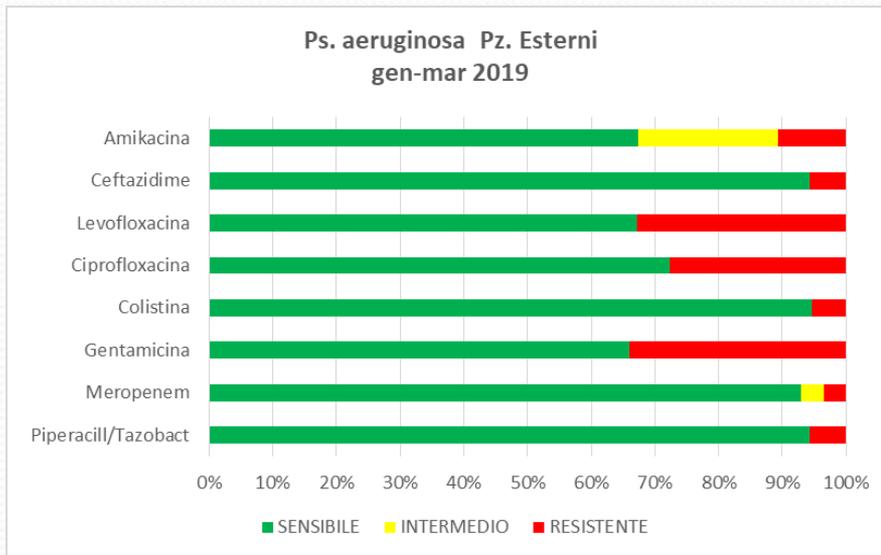


Pseudomonas aeruginosa

Profili di resistenza degli isolati di *Pseudomonas aeruginosa*
in campioni clinici

ESTERNI: 133

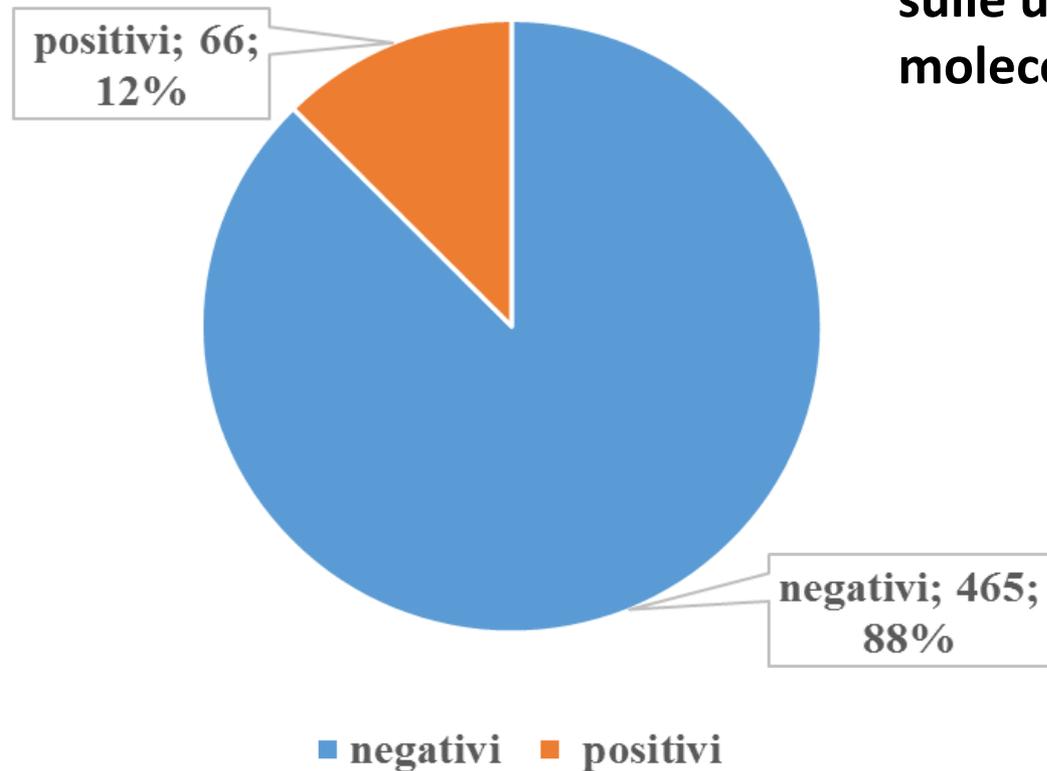
LTCF: 18



Infezioni tratto genitale maschile e femminile

- Ricerche su tamponi uretrali maschili e femminili
- Test di stamey
- Orchiti ed epididimiti
- HPV DNA

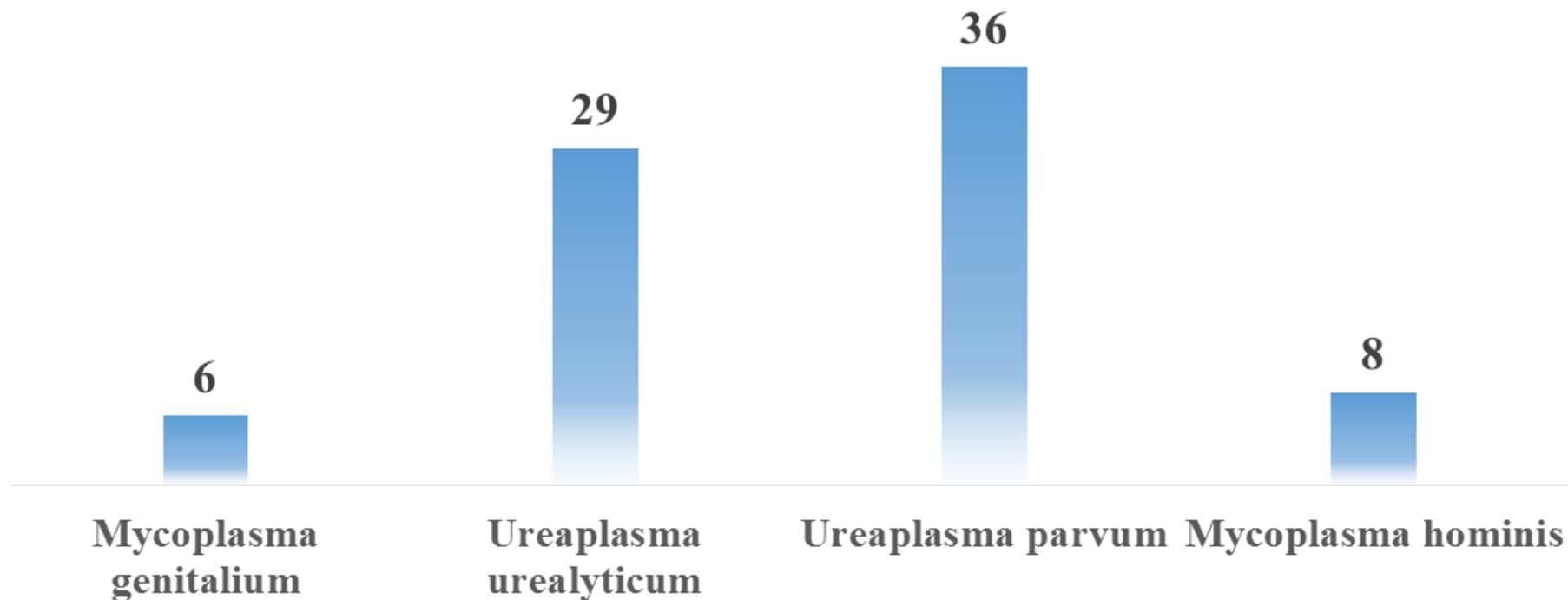
531 campioni di urina per ricerca Micoplasmi/Ureaplasmi in 6 mesi



**Ricerca direttamente
sulle urine con test
molecolare**

Micoplasmi
Trichomonas
Chlamydia trachomatis
gonococco

SPECIE DI MICOPLASMI/UREAPLASMI IDENTIFICATI



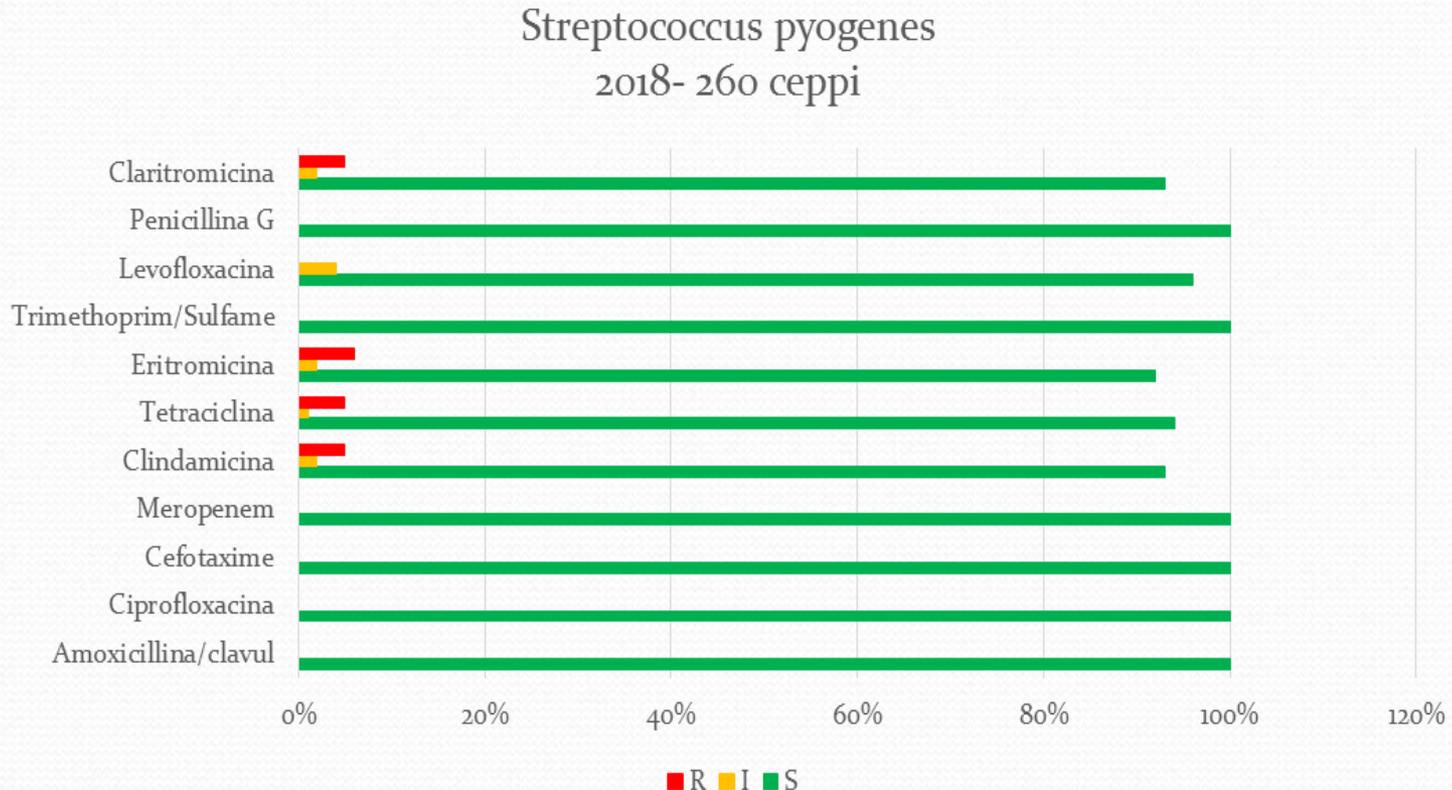
No antibiogramma: non standardizzato

Infezioni delle vie respiratorie

- Tampone Faringeo: ricerca SBA
- *Haemophilus influenzae* , *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis* and *Streptococcus pneumoniae* non sono riconosciuti come agenti eziologici di faringite e non dovrebbero essere identificati o refertati nei tamponi colturali

Tampone faringeo

- Ricerca streptococco beta emolitico gruppi A, C e G.
Beta lattamici: SENSIBILI SEMPRE
macrolidi: in alternativa in caso di allergia



Infezioni delle vie respiratorie

test rapidi

- **Legionella** : test rapido sulle urine
- **Streptococcus pneumoniae** : test rapido su urine
- **Bordetella pertussis** : Test rapido su tampone nasale
- **Influenza A e B** : Test rapido su tampone nasale

Paziente esterno

Infezione respiratoria ipotesi

- 1° valutare la stagionalità
- Se sospetto influenza

Test rapido
immunocromatografico
e/o Molecolare
Influenza A e B e rsv

Negativo

Positivo



Comorbidità
Es strumentali
Età

Eventuale terapia
antibiotica

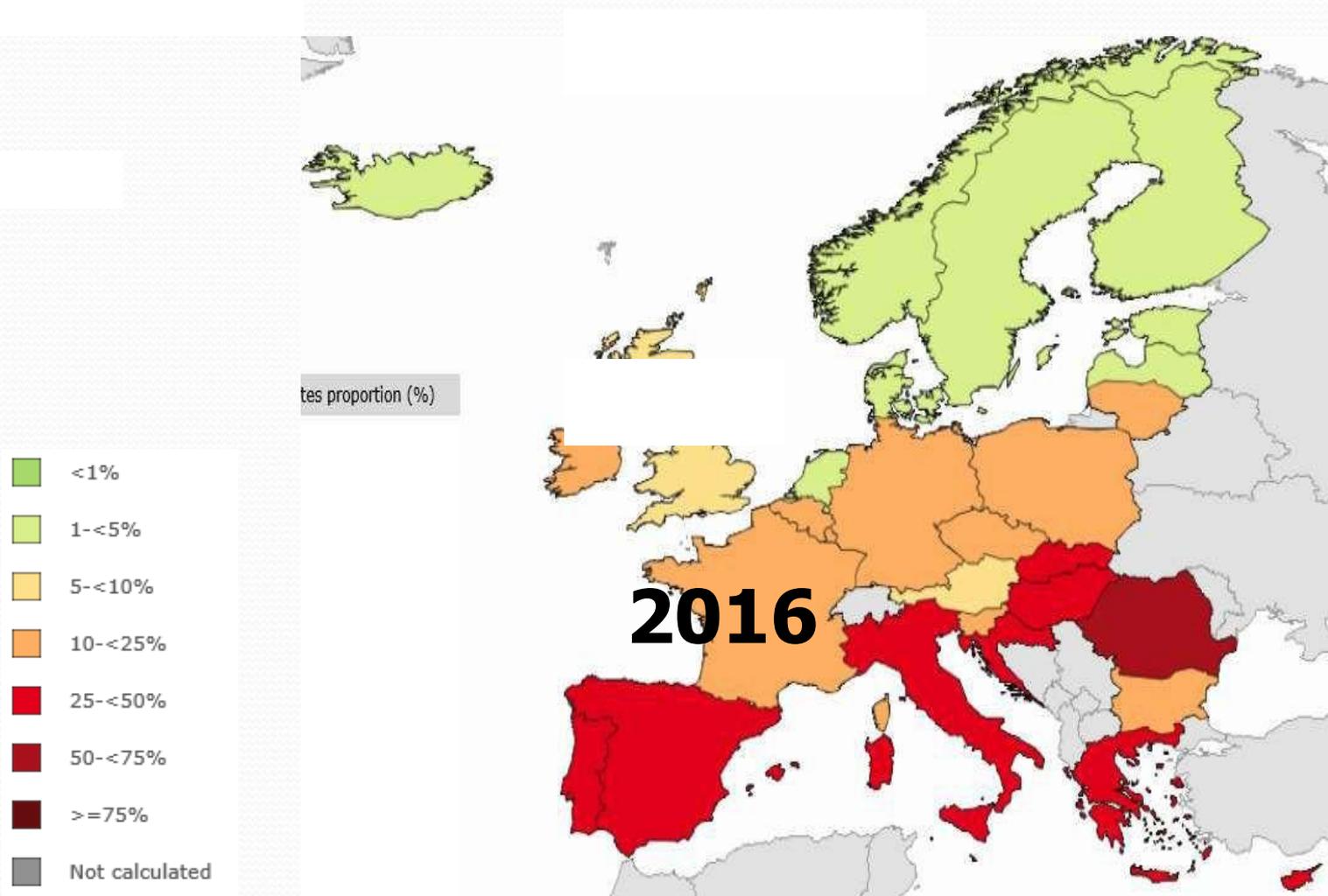
Infezioni cutanee e sottocutanee

- Non usare pomate antibiotiche prima di eseguire i tamponi cutanei
- Germi sono: *Staphylococcus aureus* o *Streptococcus pyogenes*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Candida albicans* e non *albicans* : no antimicogramma
- Ulcere diabetiche : scarso significato

Stafilococco Aureo

MRSA e MSSA

Staphylococcus aureus: % of invasive isolates with resistance to meticillin (MRSA), EU/EEA, 2016



**Nota esplicativa nel referto in caso di
Stafilococco aureo Meticillino Sensibile
(MSSA)**

“Il risultato di cefoxitina predice il comportamento di tutti i **beta lattamici** che devono quindi considerarsi **Sensibili**”

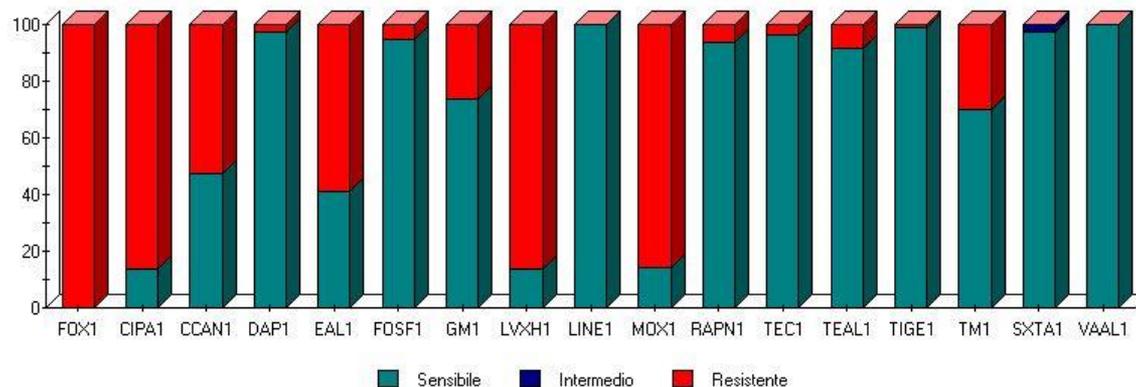
**Nota esplicativa nel referto in caso di
Stafilococco aureo Meticillino Resistente
(MRSA)**

“ S. aureus meticillino –resistente (MRSA) : il risultato di Cefoxitina predice il risultato di Cefalosporine; carbapenemi e betalattamine + inibitori.

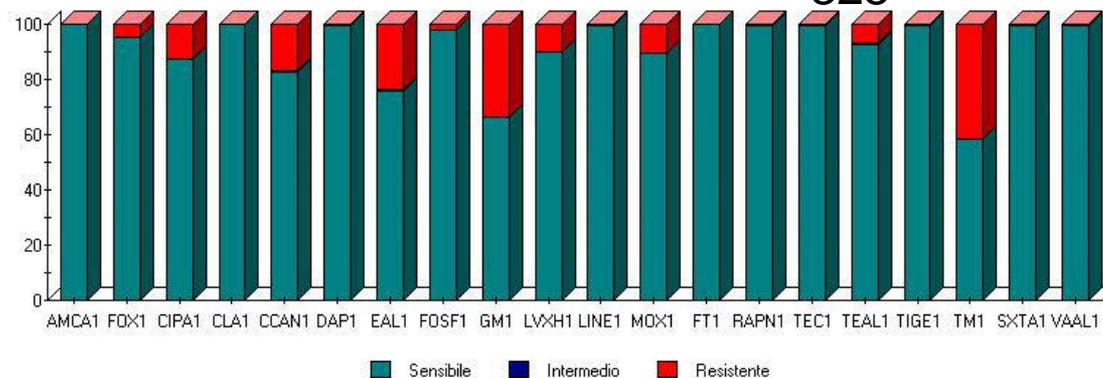
Si raccomanda di utilizzare le procedure standard per prevenire la diffusione del microorganismo.”

AMEN	AMPICILLINA
CIPA	CIPROFLOXACINA
EAL	ERITROMICINA
FOSF	FOSFOMICINA
HLGM	GENTAMICINA ALTA RESISTENZA
IPMH	IMIPENEM
LVX	LEVOFLOXACINA
LINE	LINEZOLID
MOX	MOXIFLOXACINA
FT	FURADANTIN
RAPN	RIFAMPICINA
HLST	STREPTOMICINA ALTO DOSAGGIO
TEC	TEICOPLANINA
TEAL	TETRACICLINA
TIGE	TIGECICLINA
SXTA	TRIMETOPRIM/SULFAMETOSSAZOLO
VAAL	VANCOMICINA

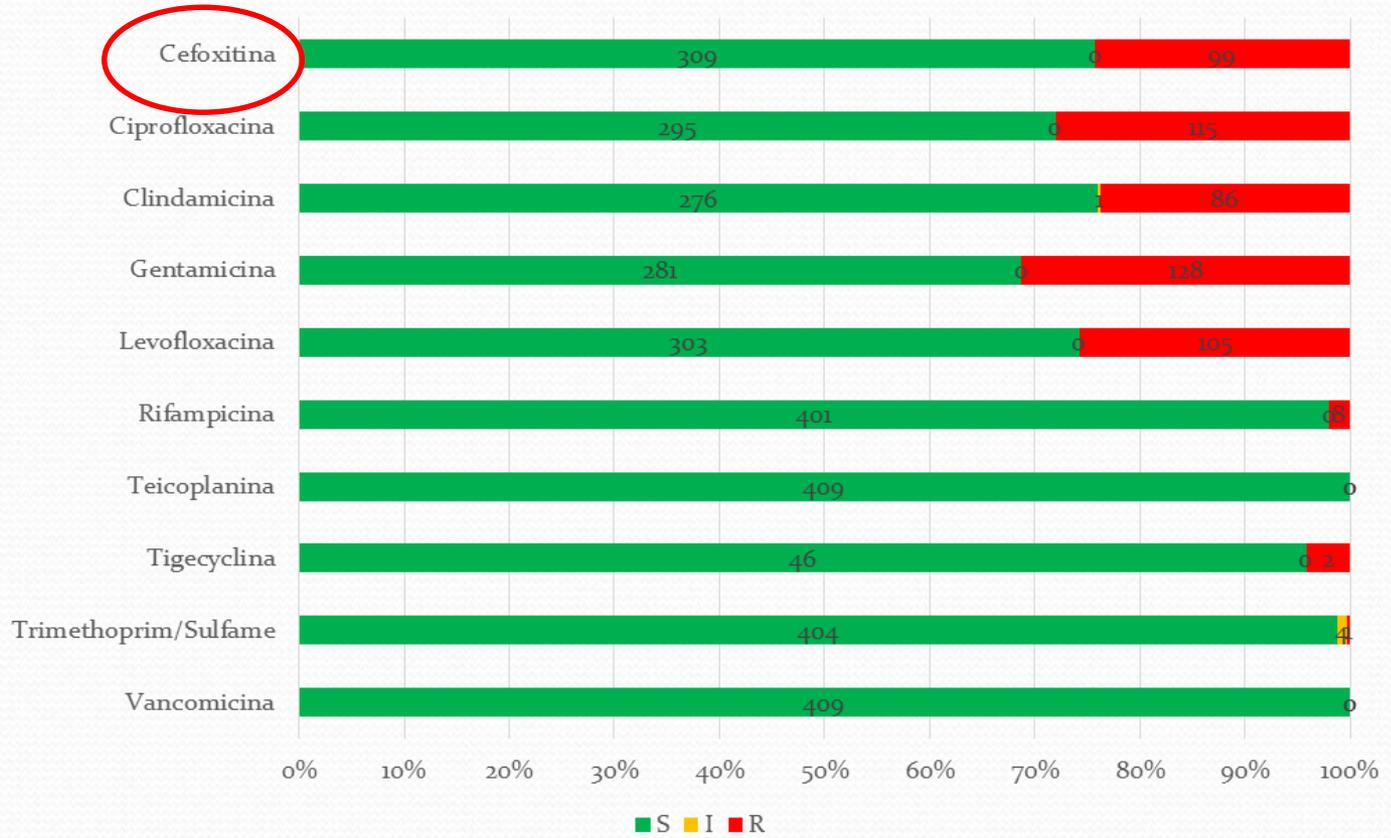
MRSA 84



MSSA 325



Stafilococco aureus



Richiesta : 01/10/2019
Rif. : 9098416959
Check In : 27/09/2019 13H29M
Stampa del : 01/10/2019 17H27M

Esame Risultato Unità Di Misura Valori di Riferimento

Laboratorio di Microbiologia e Virologia

TEST DI SENSIBILITA'

Interpretazione secondo Linee Guida EUCAST

Legenda: S = Sensibile, R = Resistente, I = Intermedio, SDD = Sensibile Dose Dipendente

1. Staphylococcus aureus

Antibiotico			
Moxifloxacina	R		
Deptomicina	S	<=0,25	mg/L
Tigecyclina	S	<=0,25	mg/L
Clindamicina	R		
Ciprofloxacina	R	>=2,000	mg/L
Eritromicina	R	>=2,000	mg/L
Cefoxitina	R	>=2,000	mg/L
Gentamicina	R	2,000	mg/L
Linezolid	S	<=2	mg/L
Levofloxacina	R	>=4,000	mg/L
Rifampicina	S	<=0,5	mg/L
Trimethoprim/Sulfametossazolo	S	<=1/19	mg/L
Tetraciclina	R	>=2,000	mg/L
Telcoplanina	S	<=1	mg/L
Tobramicina	R	4,000	mg/L
Vancomicina	S	1,000	mg/L

Note: S. aureus meticillino-resistente (MRSA): il risultato di cefoxitina predice il risultato di Cefalosporine, Carbapenemi, e Beta lattamine + inibitori. Si raccomanda di utilizzare le precauzioni standard per prevenire la diffusione del microorganismo.

eferto firmato digitalmente.

** Referto completo ***

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

