

ID PROVIDER ECM 903

Incontro con i partecipanti VEQ Microbiologia

CORSO

Obiettivo formativo nazionale di riferimento:
la cultura della Qualità

EDIZIONE

12 OTTOBRE 2022; inizio ore 14.30 - fine ore 18.30

Aula Magna Nuovo ingresso Careggi NIC 3
Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi
Largo G.A. Brambilla, 3
Firenze

Revisione dei risultati dei partecipanti agli esercizi VEQ antibiogramma ciclo 2021

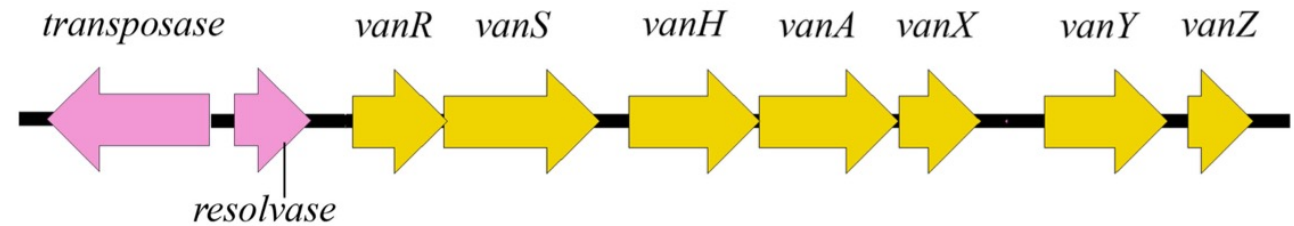
Giani TOMMASO
Dip. Medicina Sperimentale e
Clinica, Università di Firenze
SOD Microbiologia e Virologia
AOU Careggi, Firenze



CAMPIONE NUMERO 3

ID: *E. faecium*
 Materiale: URINE

VRE



Antibiotico

Ampicillina

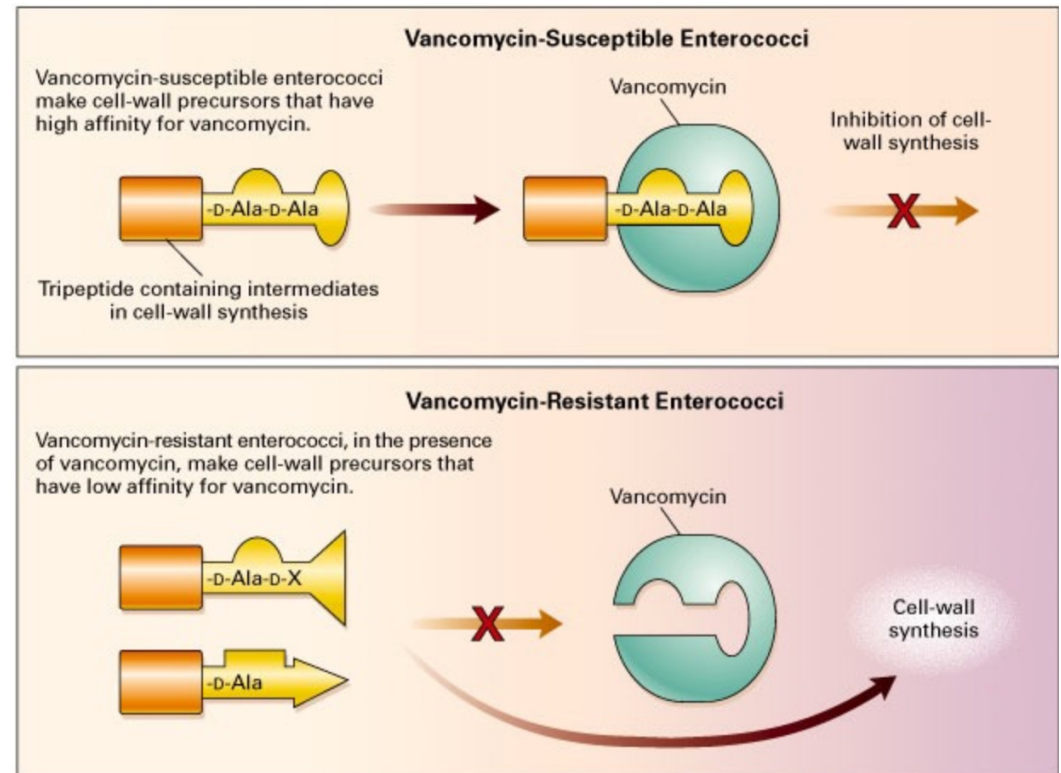
Levofloxacin

Linezolid

Teicoplanina

Vancomicina

Quino/dalfo

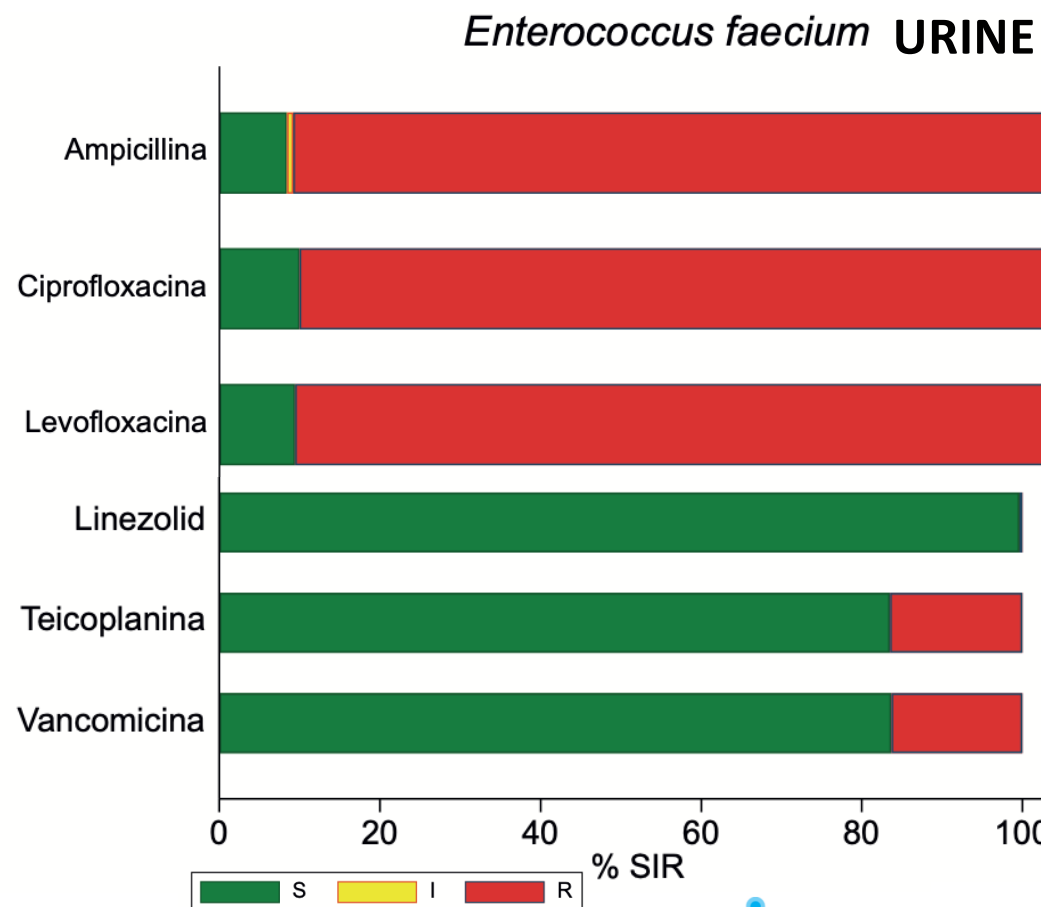


CAMPIONE NUMERO 3

ID: *E. faecium*

Materiale: URINE **VRE**

Antibiotico	MIC mg/L	(S/I/R)
Ampicillina	>8	R
Levofloxacin	>4	R
Linezolid	1	S
Teicoplanina	>4	R
Vancomicina	>4	R
Quino/dalfo	≤1	S



ARS TOSCANA
agenzia regionale di sanità

Regione Toscana



CAMPIONE NUMERO 3

ID: *E. faecium*

Materiale: URINE

Antibiotico	MIC mg/L	(S/I/R)	Totale risposte: 231				
			S	I	R	n.c.	%
Ampicillina	>8	R	2	1	233	5	98%
Levofloxacina	>4	R	4	-	176	51	97%
Linezolid	1	S	224	-	2	5	99%
Teicoplanina	>4	R	1	1	225	-	99%
Vancomicina	>4	R	1	-	230	-	99%
Quino/dalfo	<=1	S	164	1	1	65	98%

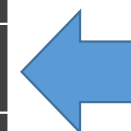


CAMPIONE NUMERO 12

ID: *E. faecium*

Materiale: URINE **VRE**

Antibiotico	MIC mg/L	(S/I/R)	Totale risposte: 236				
			S	I	R	n.c.	%
Ampicillina	>8	R	1	-	235	2	99%
Levofloxacina	>4	R	1	1	185	51	98%
Linezolid	1	S	226	-	5	7	97%
Teicoplanina	>4	R	-	-	234	4	100%
Vancomicina	>4	R	-	1	237	-	99%



CAMPIONE NUMERO 3

Table 2 Expected susceptible phenotype (resistance not expected) in gram-positive bacteria

Rule	Organisms	Unusual phenotypes
2.6	<i>Enterococcus</i> spp.	Resistant to daptomycin, linezolid, tigecycline, eravacycline or omadacycline Resistant to teicoplanin but not vancomycin
2.7	<i>Enterococcus faecalis</i>	Resistant to ampicillin
2.8	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus gallinarum</i> , <i>Enterococcus casseliflavus</i> , <i>Enterococcus avium</i>	Susceptible to quinupristin-dalfopristin, consider misidentification. If also resistant to ampicillin it is almost certainly <i>E. faecium</i>

CAMPIONE NUMERO 6

ID: *A. baumannii* **COS**

Materiale: NON **URINARIO**

Antibiotico

Amikacina

Gentamicina

Meropenem

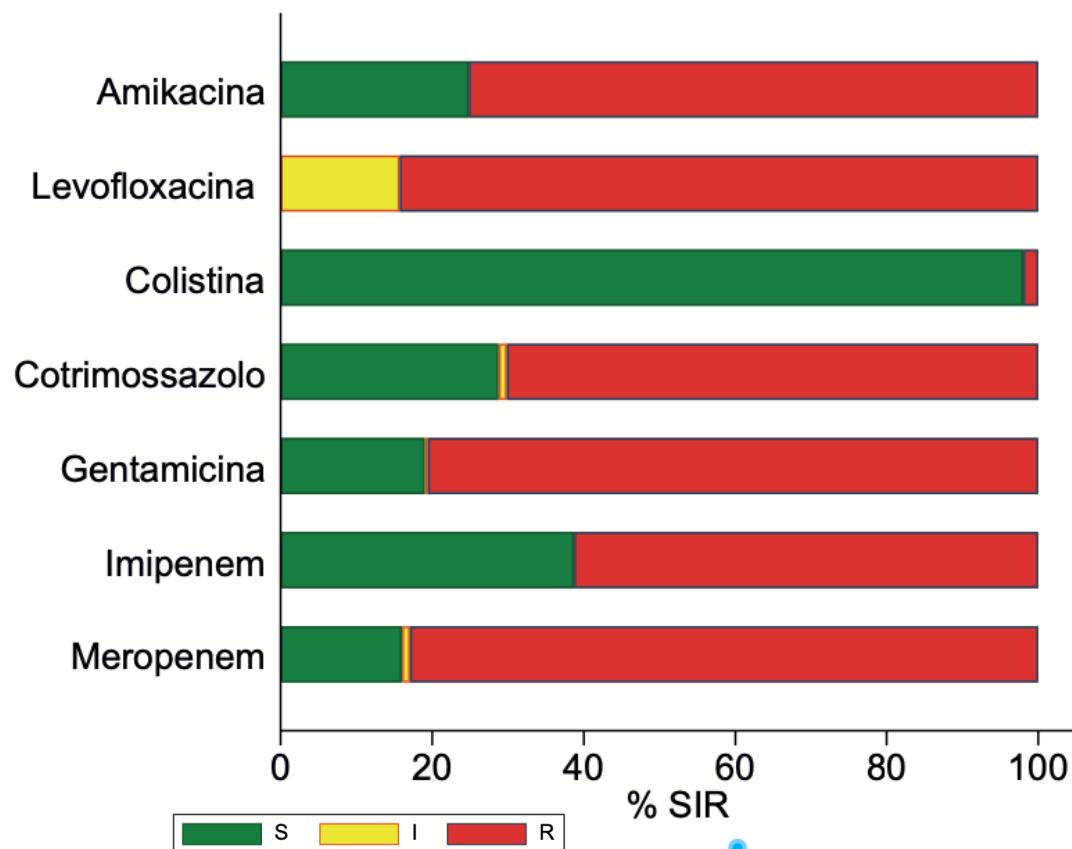
Cipro

SXT

Colistina

Tigeciclina

Acinetobacter sp. **EMOCOLTURE**



ARS TOSCANA
agenzia regionale di sanità

Regione Toscana



CAMPIONE NUMERO 6

ID: *A. baumannii*

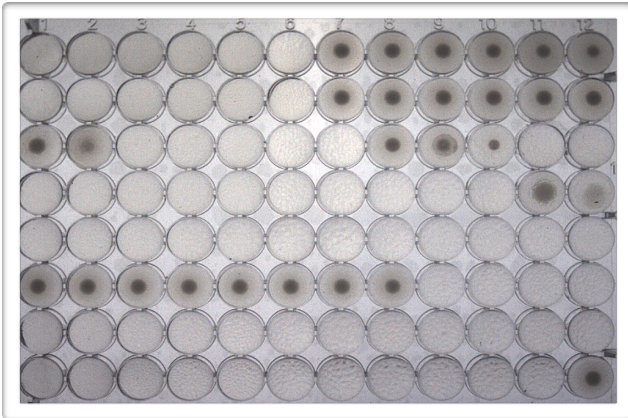
Materiale: NON **URINARIO**

Antibiotico	MIC mg/L	(S/I/R)	Totale risposte: 229				
			S	I	R	n.c.	%
Amikacina	>16	R	1	1	223	4	99%
Gentamicina	>8	R	1	-	227	1	99%
Meropenem	32	R	1	-	224	4	99%
Cipro	>1	R	1	1	214	13	99%
SXT	>8/152	R	1	1	215	12	99%
Colistina	0.5	S	145	2	3	79	96%
Tigeciclina	0.5		14	15	11	189	-



Colistina test di sensibilità

- CLSI-EUCAST Polimixin breakpoints working group:
Metodo di riferimento è per Enterobatteri, *P. aeruginosa*,
A. baumannii è la **brodo diluizione** (secondo ISO_20776-1)



- Utilizzare MH cation adjusted
- Non utilizzare additivi (no polisorbato 80)
- Utilizzare piastre di polistirene
- Utilizzare colistina solfato (non metansulfonato contenuto nella soluzione iniettabile)
- Controllo qualità *E. coli* ATTC25922, *P. aeruginosa* ATCC27853, *E. coli* NCTC 13846 (*mcr-1* positivo, MIC=4mg/L)

TEST di SENSIBILITA' con altri metodi NON sono raccomandati

Colistina test di sensibilità

○ EUCAST **WARNING:**

- *Antimicrobial susceptibility testing of colistin - problems detected with several commercially available products* (pubblicato nel 2016)

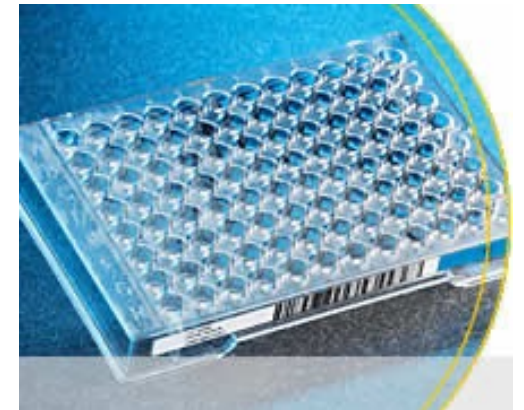


Non discrimina tra S e R



Pannelli commerciali per MIC
buona concordanza con BD di riferimento
Non discrimina tra S e R

Sottostima la MIC



CAMPIONE NUMERO 6

Metodo di determinazione: **VITEK 2**

N. centri: **161**

Antibiotici	Risultato dichiarato	Risultati inviati			Totale risultati	% Risultati corretti
		S	I	R		
AMIKACINA	R	1	1	143	145	98%
GENTAMICINA	R	1		147	148	99%
MEROPENEM	R	1		146	147	99%
CIPROFLOXACINA	R	1	1	144	146	98%
TRIMET./SULFAM.	R	1	1	139	141	98%
COLISTINA	S	88		2	90	97%
TIGECICLINA	\	5	15	5	25	

Table 1 Expected susceptible phenotype (resistance not expected) in gram-negative bacteria

Rule	Organisms	Unusual phenotypes
1.1	Any <i>Enterobacterales</i> (except <i>Morganellaceae</i> and <i>Serratia marcescens</i>)	Resistant to colistin ^{1,2}
1.2	<i>Salmonella</i> Typhi	Resistant to carbapenems
1.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> and <i>Acinetobacter</i> spp.	Resistant to colistin ¹

CAMPIONE NUMERO 6

Metodo di determinazione: **VITEK 2**

N. centri: **161**

Antibiotici	Risultato dichiarato	Risultati inviati			Totale risultati	% Risultati corretti
		S	I	R		
AMIKACINA	R	1	1	143	145	98%
GENTAMICINA	R	1		147	148	99%
MEROPENEM	R	1		146	147	99%
CIPROFLOXACINA	R	1	1	144	146	98%
TRIMET./SULFAM.	R	1	1	139	141	98%
COLISTINA	S	88		2	90	97%
TIGECICLINA	\	5	15	5	25	

Metodo di determinazione: **MICROSCAN**

N. centri: **19**

Antibiotici	Risultato dichiarato	Risultati inviati			Totale risultati	% Risultati corretti
		S	I	R		
AMIKACINA	R			19	19	100%
GENTAMICINA	R			19	19	100%
MEROPENEM	R			18	18	100%
CIPROFLOXACINA	R			11	11	100%
TRIMET./SULFAM.	R			19	19	100%
COLISTINA	S	11	2		13	84%
TIGECICLINA	\	6			6	

CAMPIONE NUMERO 6

ID: *A. baumannii*

Materiale: NON **URINARIO**

Antibiotico	MIC mg/L	(S/I/R)	Totale risposte: 229				
			S	I	R	n.c.	%
Amikacina	>16	R	1	1	223	4	99%
Gentamicina	>8	R	1	-	227	1	99%
Meropenem	32	R	1	-	224	4	99%
Cipro	>1	R	1	1	214	13	99%
SXT	>8/152	R	1	1	215	12	99%
Colistina	0.5	S	145	2	3	79	96%
Tigeciclina	0.5		14	15	11	189	-



Tigeciclina e *A. baumannii*

Tabella bp *A. baumannii*

Tetracyclines	MIC breakpoints (mg/L)		
	S ≤	R >	ATU
Doxycycline	-	-	
Eravacycline	IE	IE	
Minocycline	IE	IE	
Tetracycline	-	-	
Tigecycline	IE	IE	

Tabella bp PK/PD

IE= evidenza insufficiente

Tetracyclines	MIC breakpoints (mg/L)	
	S ≤	R >
Doxycycline	IE	IE
Eravacycline	IE	IE
Minocycline	IE	IE
Tetracycline	IE	IE
Tigecycline	0.5 ¹	0.5 ¹

CAMPIONE NUMERO 6

ID: *A. baumannii*

Materiale: NON **URINARIO**

Antibiotico	MIC mg/L	(S/I/R)	Totale risposte: 229				
			S	I	R	n.c.	%
Amikacina	>16	R	1	1	223	4	99%
Gentamicina	>8	R	1	-	227	1	99%
Meropenem	32	R	1	-	224	4	99%
Cipro	>1	R	1	1	214	13	99%
SXT	>8/152	R	1	1	215	12	99%
Colistina	0.5	S	145	2	3	79	96%
Tigeciclina	0.5		14	15	11	189	-



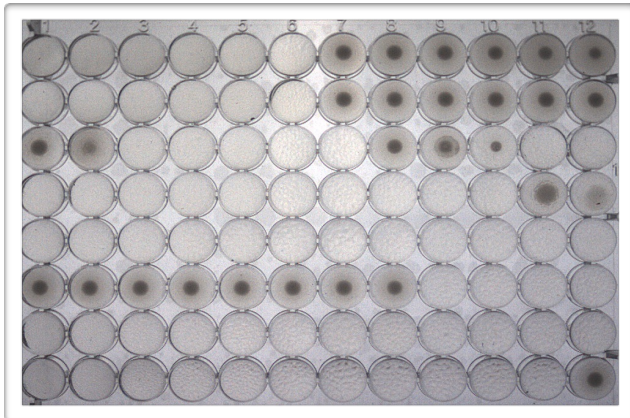
Tigeciclina: bp per *A. baumannii*

Metodo di determinazione: VITEK 2		N. centri: 161				
Antibiotici	Risultato dichiarato	Risultati inviati			Totale risultati	% Risultati corretti
		S	I	R		
AMIKACINA	R	1	1	143	145	98%
GENTAMICINA	R	1		147	148	99%
MEROPENEM	R	1		146	147	99%
CIPROFLOXACINA	R	1	1	144	146	98%
TRIMET./SULFAM.	R	1	1	139	141	98%
COLISTINA	S	88		2	90	97%
TIGECICLINA	\	5	15	5	25	

Metodo di determinazione: PHOENIX		N. centri: 26				
Antibiotici	Risultato dichiarato	Risultati inviati			Totale risultati	% Risultati corretti
		S	I	R		
AMIKACINA	R			23	23	100%
GENTAMICINA	R			23	23	100%
MEROPENEM	R			23	23	100%
CIPROFLOXACINA	R			23	23	100%
TRIMET./SULFAM.	R			22	22	100%
COLISTINA	S	20			20	100%
TIGECICLINA	\	1		4	5	

Tigeciclina test di sensibilità

- Metodo di riferimento è la brodo diluizione (secondo ISO_20776)



- Utilizzare terreno fresco (<12h)
- In terreno “vecchio” conservato non sotto vuoto MICs 2x – 8x
- La MIC varia anche in base alla quantità di manganese presente nel terreno

Tigeciclina test di sensibilità

- TIGECICLINA e test in gradiente e sistema automatizzato

Comparative Evaluation of Tigecycline Susceptibility Testing Methods for Expanded-Spectrum Cephalosporin- and Carbapenem-Resistant Gram-Negative Pathogens

Enterobacteriaceae (n=185), *A. baumannii* (56), Zarkotou *et al.* JCM 2012

False non-susceptible results of tigecycline susceptibility testing against *Enterobacteriaceae* by an automated system: a multicentre study

Enterobacteriaceae (n=241) 4 centri diversi Entldelevich *et al.* JMM 2016

Sistema automatizzato
sovrastima la MIC (CA: 41.5-72%
EA: 39-100%) (ME:3-21%, mE: 26-55.2%)

Etest **sovrastima** la MIC (CA: 34.4-71% EA: 92-95%) (ME:1-9.3, mE:27-62%)

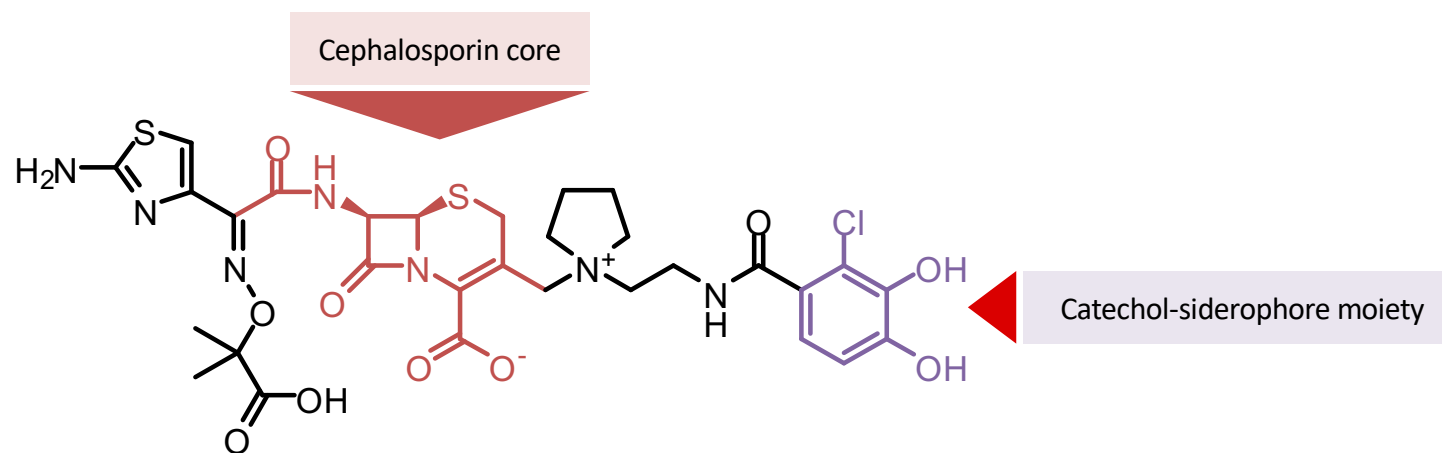
CAMPIONE NUMERO 6

ID: *A. baumannii*

Materiale: NON **URINARIO**

Antibiotico	MIC mg/L	(S/I/R)
Amikacina	>16	R
Gentamicina	>8	R
Meropenem	32	R
Cipro	>1	R
SXT	>8/152	R
Colistina	0.5	S
Tigeciclina	0.5	

Cefiderocol



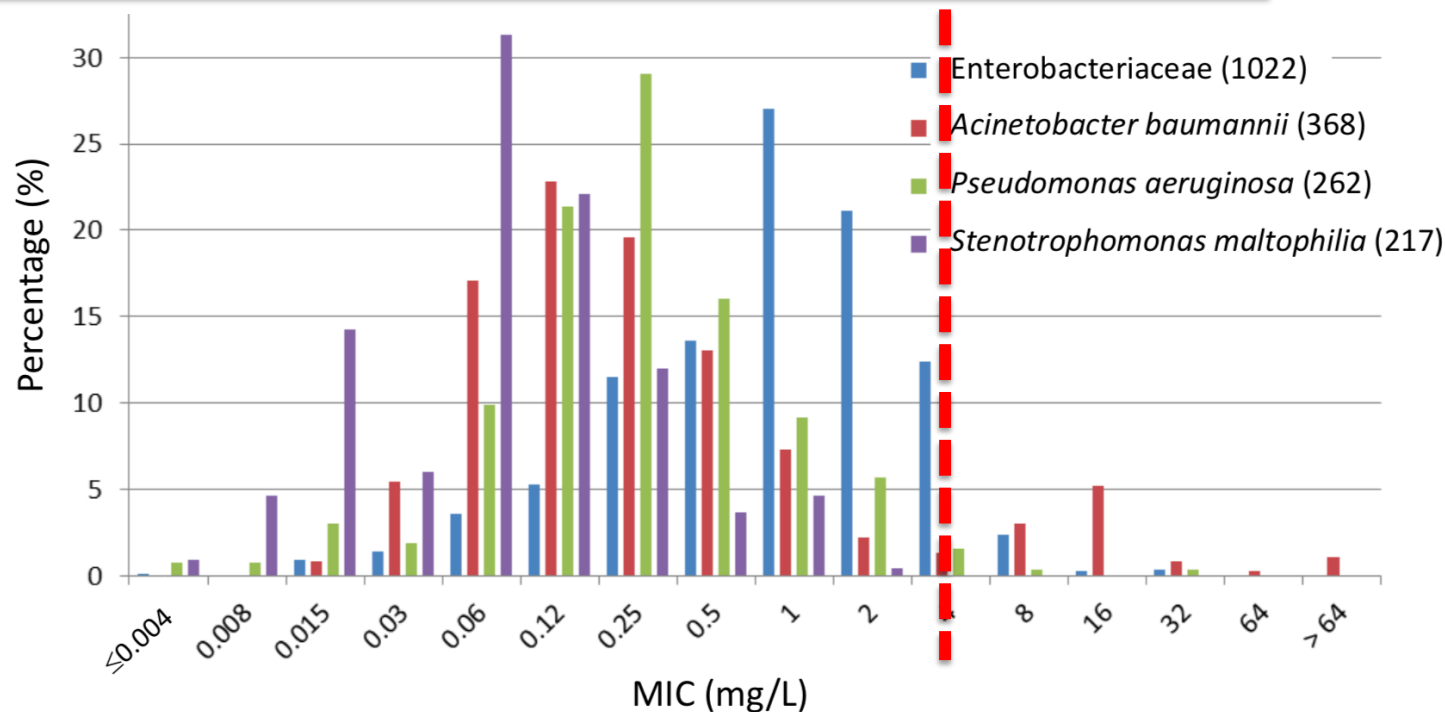
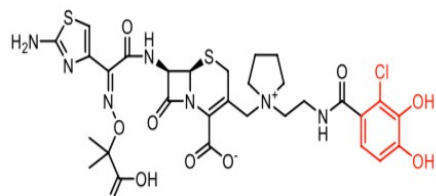
❖ La prima **cefalosporina-sideroforo**

Cefiderocol

- ❖ Ha una modificazione che permette il **legame con il ferro**
- ❖ Il complesso **ferro+cefiderocol** viene attivamente trasportato dentro la cellula batterica attraverso i trasportatori del ferro
- ❖ Cefiderocol alta affinità per **PBP3** e **blocca la sintesi della parete**
- ❖ Cefiderocol ha alta stabilità alle beta-lattamasi (**incluse AmpC, ESBL, carbapenemasi**)



Cefiderocol spettro di azione



Activity of cefiderocol (S-649266) against carbapenem-resistant Gram-negative bacteria collected from inpatients in Greek hospitals

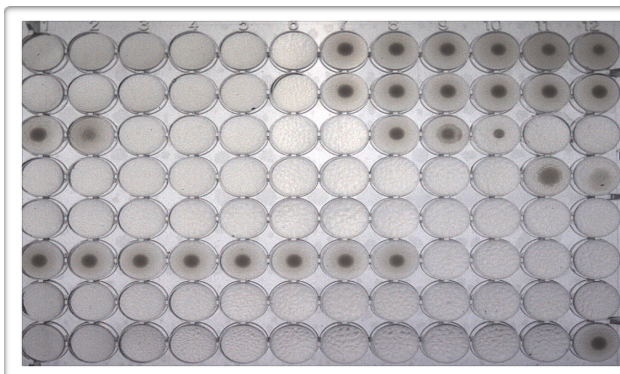
107 *A. baumannii*
82 *P. aeruginosa*

MIC₉₀ = 0.5 mg/L

Test sensibilità per cefiderocol



cefiderocol	MIC breakpoint mg/L	
	S ≤	R >
<i>Enterobacterales</i>	2	2
<i>P. aeruginosa</i>	2	2
<i>A. baumannii</i>	IE	IE
<i>S. maltophilia</i>	IE	IE



- **Metodo di riferimento:** microdiluizione in brodo utilizzando **Iron-Depleted CAMHB (ID-CAMHB)**

Disponibili dal 2021

Test sensibilità per cefiderocol

ID-CAMHB CAMHB con concentrazione ferro $\leq 0.003 \mu\text{g/mL}$

- Mimare le condizioni che i batteri incontrano nei tessuti umani
- Correla con l'efficacia *in vivo*



EUCAST 2020: Guidance document on broth microdilution testing of cefiderocol

Hackel et al., 2019
Tsuji et al., 2015

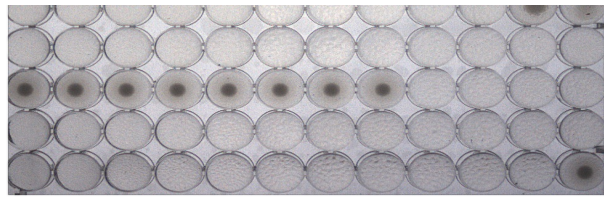
Test sensibilità per cefiderocol

○ EUCAST **WARNINGS!**

Gennaio 2022

10. Cefiderocol MIC by broth microdilution on freeze dried panels from Thermofisher - the manufacturer has issued a warning against all current batches of MH broth when used together with any freeze dried Sensititre BMD panel.

Specie	S ≤	R >
<i>Enterobacterales</i>	2	2
<i>P. aeruginosa</i>	2	2
<i>A. baumannii</i>	IE	IE
<i>S. maltophilia</i>	IE	IE



o di riferimento:
iluzione in brodo
ndo **Iron-Depleted**
CAMHB (ID-CAMHB)

○ **NON Disponibile sui sistemi semiautomatizzati**

Metodi commerciali per MIC testing per cefiderocol

- Test in gradiente di concentrazione (carta)– FDA cleared per *P. aeruginosa*
- Test in microdiluizione in brodo
- Test in disco diffusione

EUCAST, breakpoint v 12, 2022 (www.eucast.org) EUCAST 2020: Guidance document on broth microdilution testing of cefiderocol

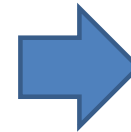
Test sensibilità per cefiderocol

○ Cefiderocol e **disco diffusione**:

Disk diffusion of cefiderocol is performed according to EUCAST standard methodology for non-fastidious organisms on regular un-supplemented Mueller-Hinton agar. It is no more complicated than disk diffusion for other cephalosporins.



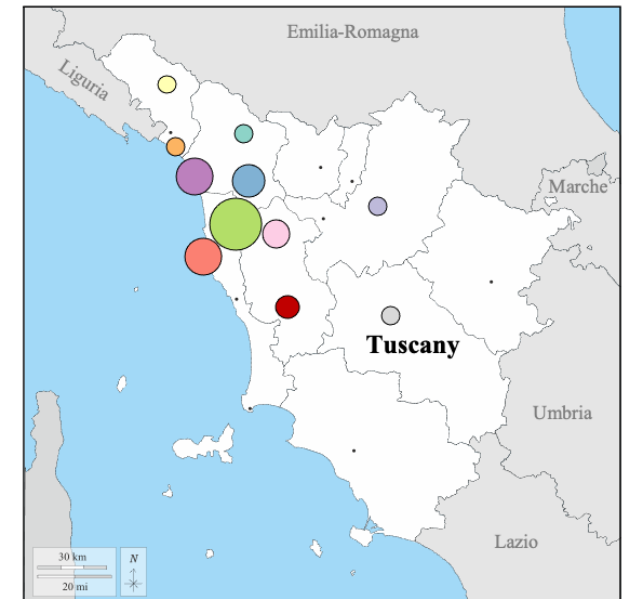
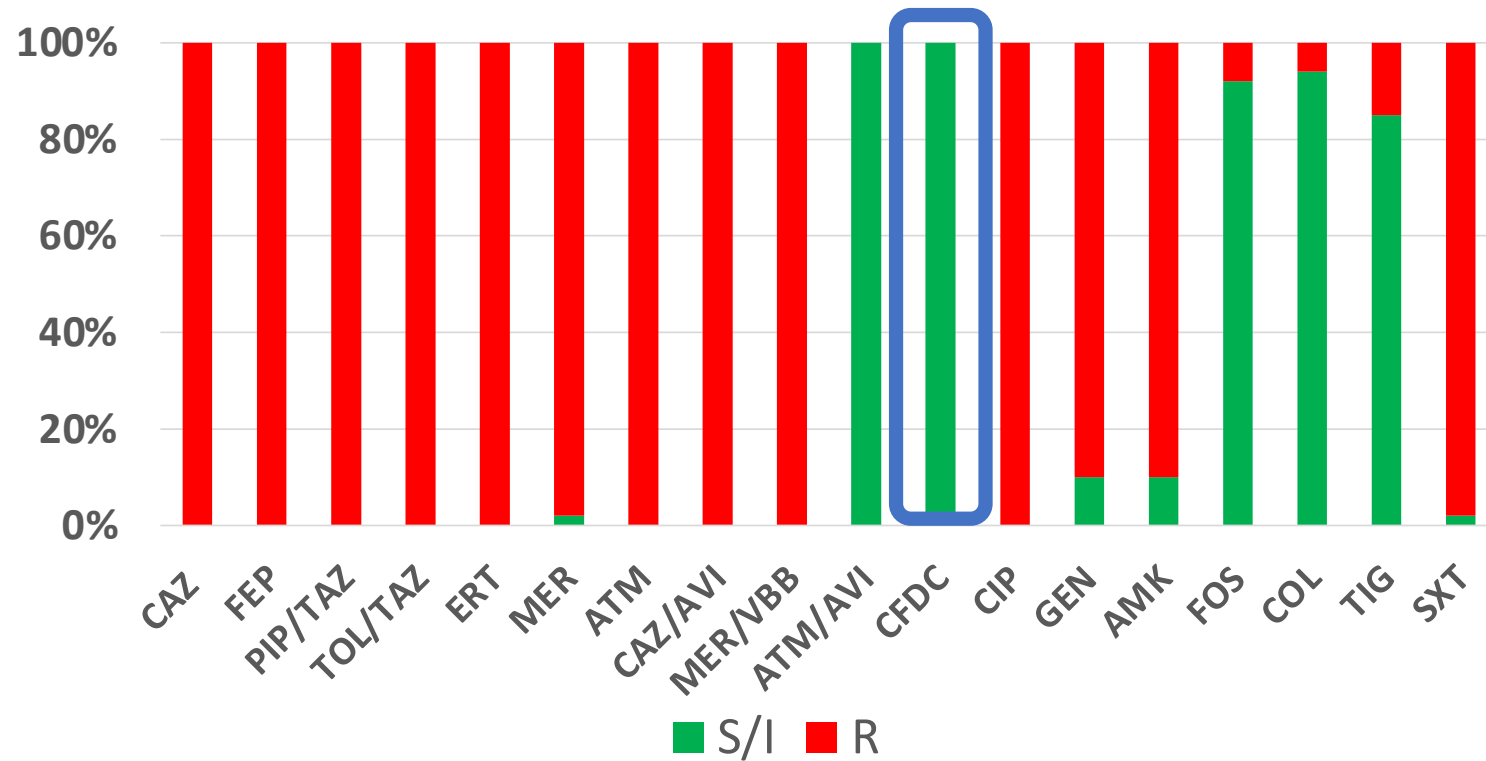
Laboratory are recommended to start testing cefiderocol with disk-diffusion (Eucast warning, August 2022)



Se **ATU** (18-22 mm per *Enterobacterales*; 14-22mm per *P. aeruginosa*) inviare ad un lab di riferimento oppure ignorare l' **ATU**

CRE-NDM outbreak Toscano : resistenza agli antibiotici

N = 48 isolati di *K. pneumoniae* ST147 NDM-1+ (BSI)



* tigecycline rates calculated based on EUCAST breakpoints for *E. coli*

CAMPIONE NUMERO 9

ID: *P. aeruginosa*

Materiale: NON URINARIO

Antibiotico
Amikacina
Cefepime
Ceftazidime
Pip/Taz
Meropenem
CTZ
CAZ-AVI
Cipro
Colistina

Totale risposte: 237

S	I	R	n.c.	%
234	-	1	2	99%
79	138	6	14	61%
86	142	8	1	60%
83	137	6	11	60%
231	1	1	4	99%
90	-	-	146	98%
101	2	-	134	98%
2	-	235	-	99%
158	1	6	72	95%



Nuove definizioni

S

Sensibile, regime di dosaggio standard. Alta probabilità di successo terapeutico utilizzando un regime di dosaggio standard dell'agente antimicrobico

I

Sensibile, aumentata esposizione. Alta probabilità di successo terapeutico purché l'esposizione all'agente antimicrobico sia aumentata, regolando il regime di dosaggio oppure in funzione della sua fisiologica concentrazione nel sito di infezione

R

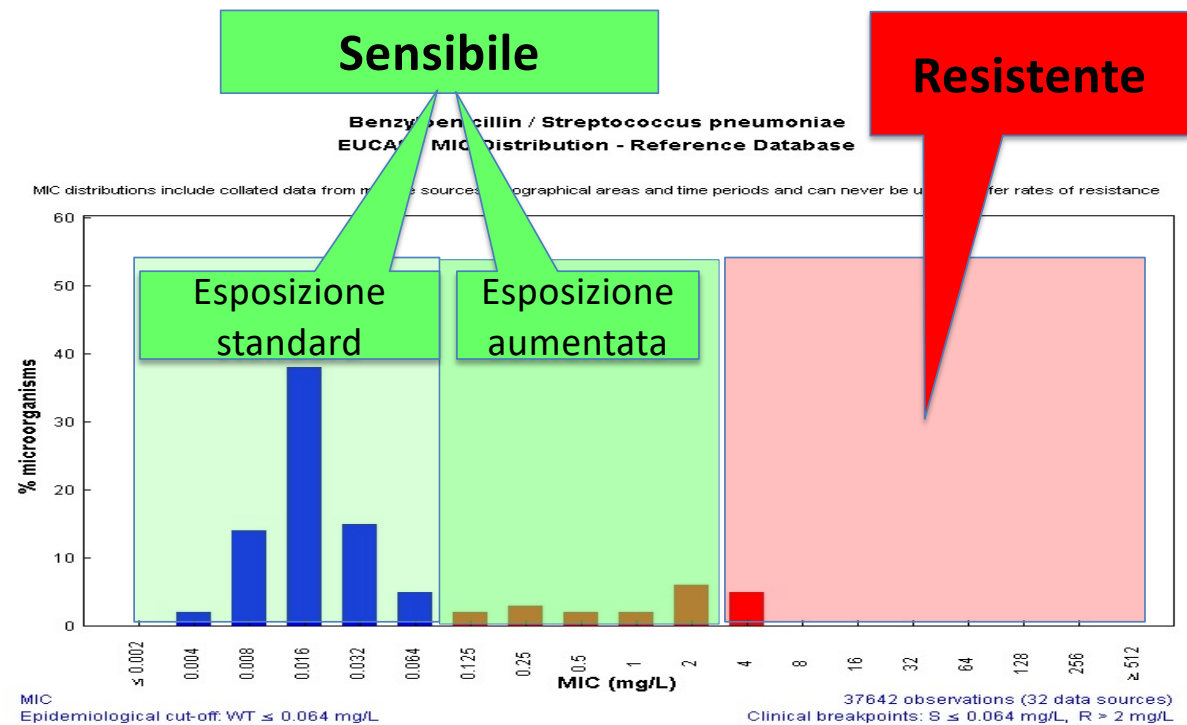
Resistente. Alta probabilità di fallimento terapeutico anche in presenza di un'aumentata esposizione all'agente antimicrobico

Con la nuova definizione della "categoria I"

....L'unica differenza tra "S" e "I" è la concentrazione di farmaco nel sito di infezione necessaria per ottenere un'adeguata risposta clinica.

Il termine "intermedio" è sostituito dal termine
"Sensibile, aumentata esposizione" anche se l'abbreviazione riportata in
antibiogramma rimane "I".

SIR – nuove definizioni 2019



EUCAST 2020

<i>Pseudomonas</i> spp.	S≤	R >
Piperacillin	0.001	16
Piperacillin-tazobactam	0.001 ¹	16 ¹
Cefepime	0.001	8
Cefixime	-	-
Cefotaxime	-	-
Cefoxitin	NA	NA
Cefpodoxime	-	-
Ceftaroline	-	-
Ceftazidime	0.001	8

P. aeruginosa

EUCAST 2019

Antibiotico	MIC mg/L (S/I/R)
Pip/Tazo	4 S
Ceftazidime	2 S
Cefepime	2 S
Imipenem	0.5 S
Meropenem	≤0.5 S
Amikacin	1 S
Gentamicin	1 S
Ciprofloxacin	0.06 S
Colistin	0.5 S
CTZ	1 S
CAZ/AVI	0.5 S

EUCAST 2020

Antibiotico	MIC mg/L (S/I/R)
Pip/Tazo	4 I
Ceftazidime	2 I
Cefepime	2 I
Imipenem	0.5 I
Meropenem	≤0.5 S
Amikacin	1 S
Gentamicin	IE
Ciprofloxacin	0.06 I
Colistin	0.5 S
CTZ	1 S
CAZ/AVI	0.5 S

Dosaggi farmaci

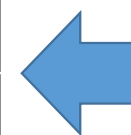
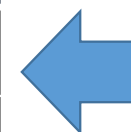
Penicillins	Standard dose	High dose
Benzylpenicillin	0.6 g (1 MU) x 4 iv	1.2 g (2 MU) x 4-6 iv
Ampicillin	2 g x 3 iv	2 g x 4 iv
Ampicillin-sulbactam	(2 g ampicillin + 1 g sulbactam) x 3 iv	(2 g ampicillin + 1 g sulbactam) x 4 iv
Amoxicillin iv	1 g x 3-4 iv Under review	2 g x 6 iv
Amoxicillin oral	0.5 g x 3	0.75 g -1 g x 3
Amoxicillin-clavulanic acid iv	(1 g amoxicillin + 0.2 g clavulanic acid) x 3-4 iv Under review	(2 g amoxicillin + 0.2 g clavulanic acid) x 3 iv
Amoxicillin-clavulanic acid oral	(0.5 g amoxicillin + 0.125 g clavulanic acid) x 3	(0.875 g amoxicillin + 0.125 g clavulanic acid) x 3
Piperacillin	4 g x 3 iv	4 g x 4 iv
Piperacillin-tazobactam	(4 g piperacillin + 0.5 g tazobactam) x 3 iv	(4 g piperacillin + 0.5 g tazobactam) x 4 iv

CAMPIONE NUMERO 9

ID: *P. aeruginosa*

Materiale: NON **URINARIO**

Antibiotico	MIC mg/L	(S/I/R)	Totale risposte: 237				
			S	I	R	n.c.	%
Amikacina	<=4	S	234	-	1	2	99%
Cefepime	2	I	79	138	6	14	61%
Ceftazidime	2	I	86	142	8	1	60%
Pip/Taz	<=4	I	83	137	6	11	60%
Meropenem	0.25	S	231	1	1	4	99%
CTZ	<=0.5	S	90	-	-	146	98%
CAZ-AVI	2	S	101	2	-	134	98%
Cipro	>1	R	2	-	235	-	99%
Colistina	1	S	158	1	6	72	95%



Breakpoints in (brackets)

P. aeruginosa

Aminoglycosides ¹	MIC breakpoints (mg/L)		
	S ≤	R >	ATU
Amikacin (systemic infections)	(16) ¹	(16) ¹	
Amikacin (infections originating from the urinary tract)	16	16	
Gentamicin (systemic infections)	IE	IE	
Gentamicin (infections originating from the urinary tract)	IE	IE	
Netilmicin	IE	IE	
Tobramycin (systemic infections)	(2) ¹	(2) ¹	
Tobramycin (infections originating from the urinary tract)	2	2	
Colistin ¹	(4) ²	(4) ²	

Distingue tra isolati con e senza meccanismi di resistenza

Isolati con MIC >del bp possono essere riportati come R
Isolati con MIC <bp possono essere riportati con un commento:

«Nelle infezioni sistemiche gli aminoglicosidi devono essere utilizzati in terapia di combinazione con altri antibiotici efficaci»

«La sensibilità alla colistina indica assenza di meccanismi di resistenza acquisiti; per le infezioni sistemiche l'uso del farmaco è raccomandato solo in combinazione, a supporto di altri trattamenti efficaci»

GRAZIE
per
l'ATTENZIONE

tommaso.giani@unifi.it