

Antibiogramma

Interpretazione

Meccanismi di resistenza

- **Terapia efficace di un'infezione:** presenza di una quantità sufficiente di antibiotico nel sito dell'infezione per un tempo adeguato per ottenere l'effetto terapeutico.
- Siccome questo non può essere misurato direttamente, sono stati stabiliti dei **parametri in vitro** che riflettano la probabilità di successo della terapia antibiotica

ANTIBIOGRAMMA

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

Cos'è A cosa serve Quando Come Interpretazione Resistenza

ANTIBIOGRAMMA: cos'è?

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

Cos'è

A cosa serve

Quando

Come

Interpretazione

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.

Suscettibile = alta probabilità di successo terapeutico
(dose, via di somm., durata etc!)

Resistente = alta probabilità di fallimento terapeutico
Regola del 90 – 60 = successo terapeutico 90% per S, 60% per R

(Rex and Pfaller, Clin Infect Dis, 2002)

Intermedio = antibiotico può essere efficace se utilizzato **a dose elevata** e per infezioni di distretti in cui si concentra ottimamente

ANTIBIOGRAMMA: a cosa serve?

- **TERAPIA MIRATA:** Predire l'outcome della terapia con l'antibiotico testato.

Suscettibile = alta probabilità che il paziente risponderà al trattamento con quell'antibiotico (dose, via di somm., durata etc!)

Resistente = alta probabilità di fallimento del trattamento con quell'antibiotico.

Regola del 90 – 60 = successo terapeutico 90% per S, 60% per R

(Rex and Pfaller, Clin Infect Dis, 2002)

Intermedio = antibiotico può essere efficace se utilizzato a dose elevata e per infezioni di distretti in cui si concentra ottimamente

- **SORVEGLIANZA** (cfr. Enterobatteri produttori di carbapenemasi)
- **EPIDEMIOLOGIA** (importanza per terapia empirica delle infezioni gravi)

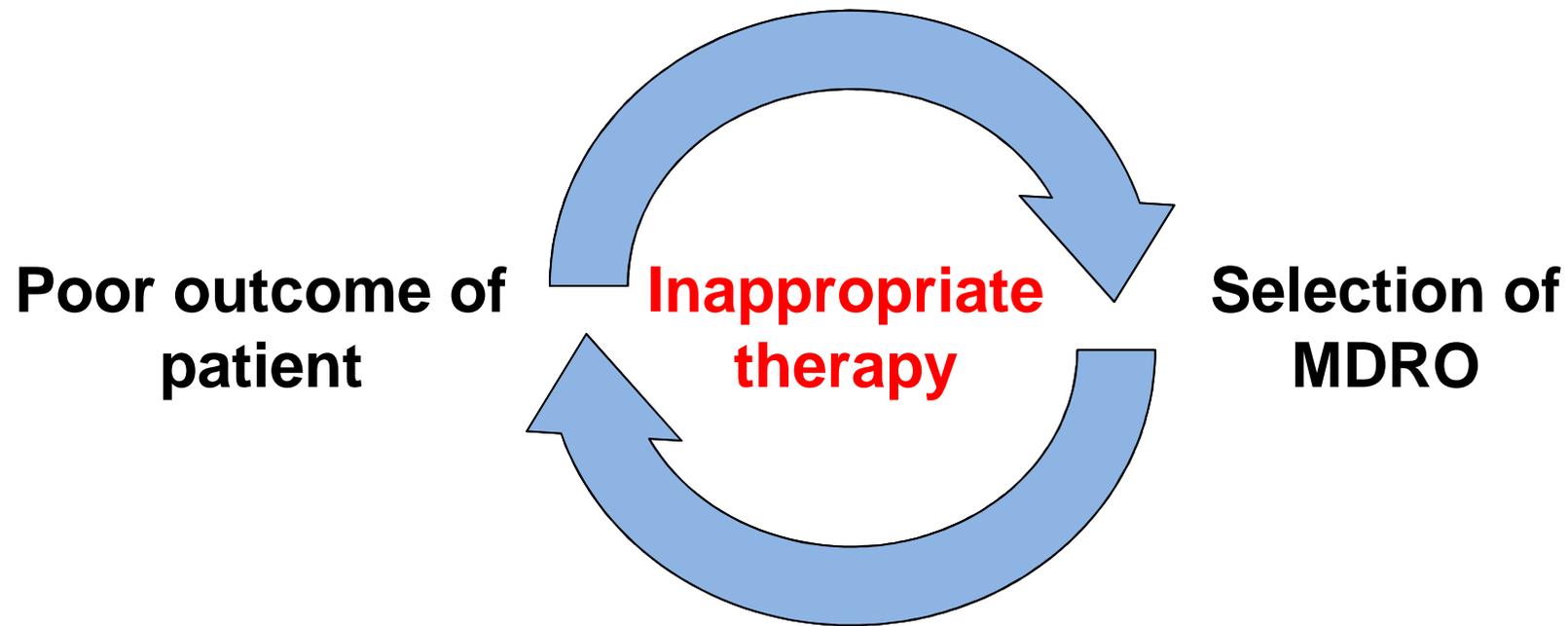
Conoscenza della epidemiologia locale è essenziale per:

- *Infection control*
- *Antimicrobial stewardship*
- **Diagnosi presuntiva ed appropriata terapia antibiotica**

Terapia empirica appropriata
fondamentale per infezioni da MDRO
(Multi Drug Resistant Organisms)

- Infezioni da MDRO = **Ritardo (>5 gg)** nella terapia appropriata
- **Outcome peggiore** delle infezioni da batteri suscettibili.
- **Elevata mortalità**

Poque et al., Clin Microbiol Infect, 2015



Exposure to ≥ 7 days of quinolones and third-generation cephalosporins significantly increases the risk of ESBL+ Gram negative UTI.

Tinelli et al, J Antimicrob Chemother. 2012

ANTIBIOTICO-RESISTENZA

tra le cause:

- abuso di antibiotici
- uso non corretto (ad es. dosaggio troppo basso)
- uso massiccio in campo alimentare (allevamenti di bestiame)

Terapia di una infezione batterica

EMPIRICA

EMPIRICA/RAGIONATA: basata sulla eziologia probabile, epidemiologia locale, linee guida etc

MIRATA : basata sui test in vitro (antibiogramma)

ANTIBIOGRAMMA: quando si fa?

- Quando il microorganismo può essere coltivato (es.: No per *Chlamydia*)
- 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*)

ANTIBIOGRAMMA: come si fa?

- Metodi genotipici
 - rilevano i geni di resistenza (es.: KPC, *mecA*, *vanA*)
- Metodi fenotipici
 - Qualitativi: “Sensibile”, “Resistente”, “Sensibile ad alte dosi”
 - Quantitativi: MIC”

... in ogni caso si parte da una coltura pura o da una colonia isolata e ci vogliono 24/48 ore



Cos'è

A cosa serve

Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

MIC

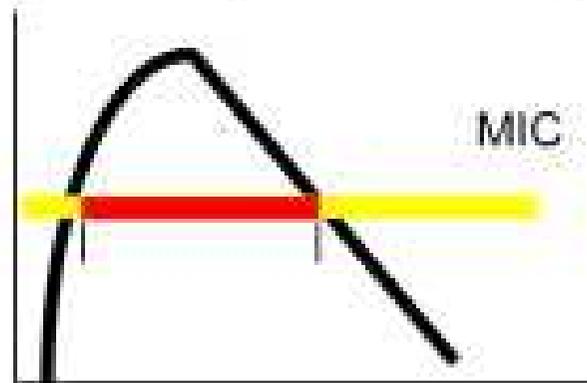
Concentrazione Minima di Antibiotico in grado di inibire, **in condizioni sperimentali prefissate**, ogni segno visibile di crescita del microorganismo

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)

Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Profiles of Antimicrobials

Time > MIC

time-dependent activity



- Penicillins
- Cephalosporins
- Macrolides
- Clindamycin

Optimal profile:
Free serum antibiotic level
exceeds
MIC for at least 40-50%
of dosing interval

AUC/MIC

concentration-dependent activity



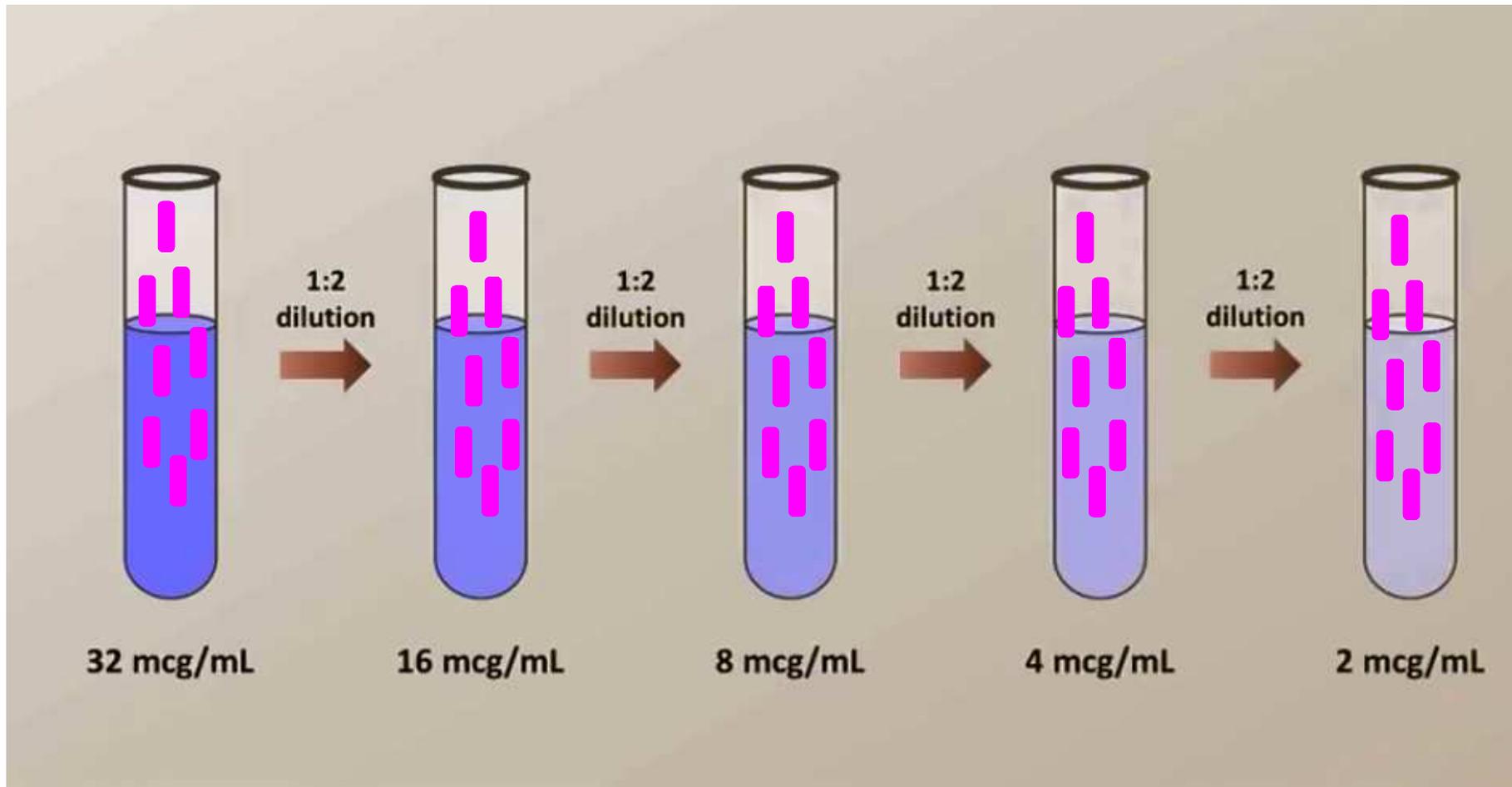
- Quinolones
- Aminoglycosides
- Azithromycin
- Ketolides

Optimal profile:
Free serum AUC/MIC ratio at least:
25-30 for Strep. or other
gram-positive bacteria, and 125 for
aerobic gram-negative bacilli

MIC: come si determina

- Diluizione in brodo – Macrometodo 
- Diluizione in brodo - Micrometodo 
- E-test (gradient-diffusion)
- Strumenti automatici

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



Cos'è

A cosa serve

Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

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



Cos'è

A cosa serve

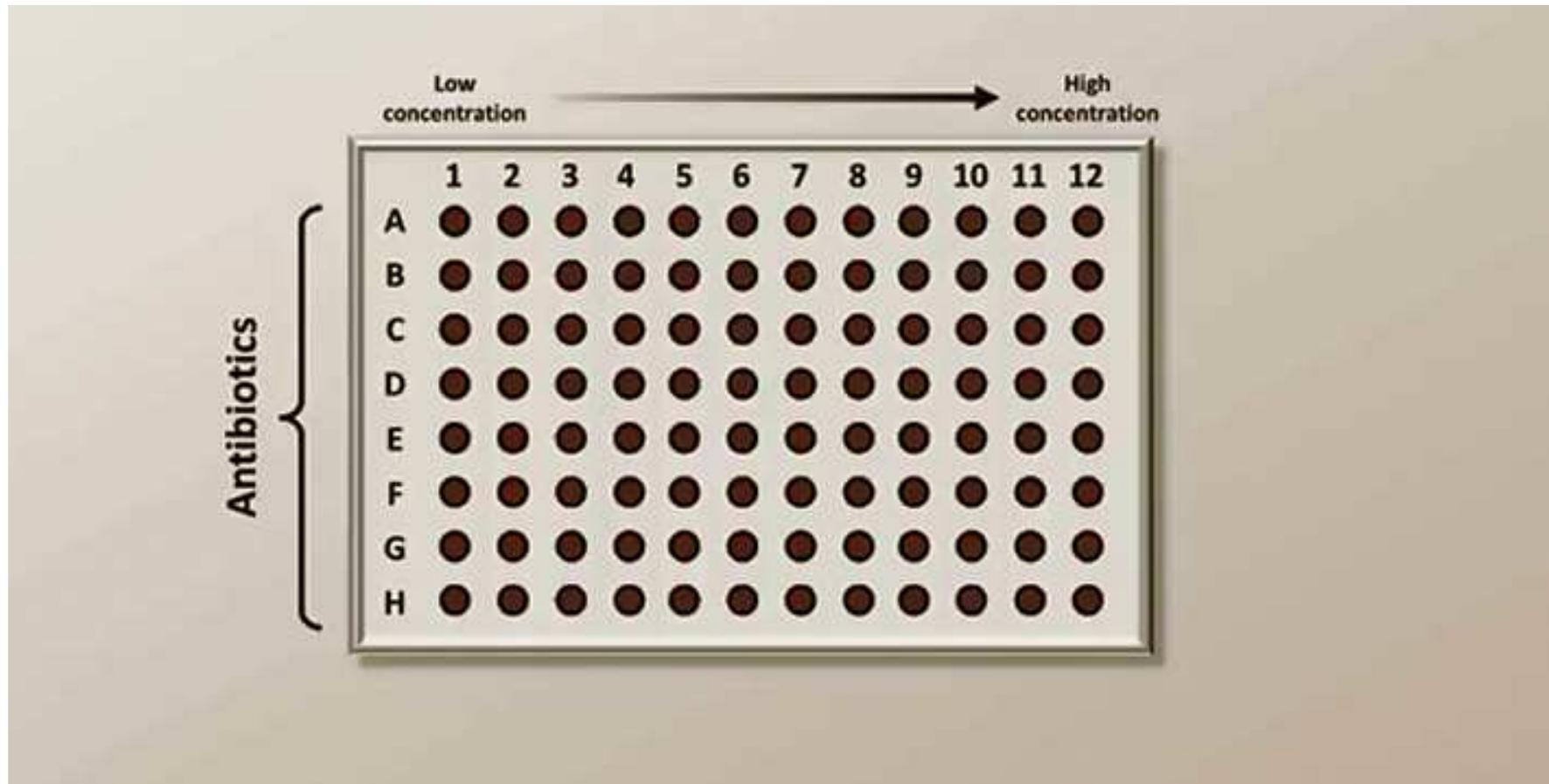
Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

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



Cos'è

A cosa serve

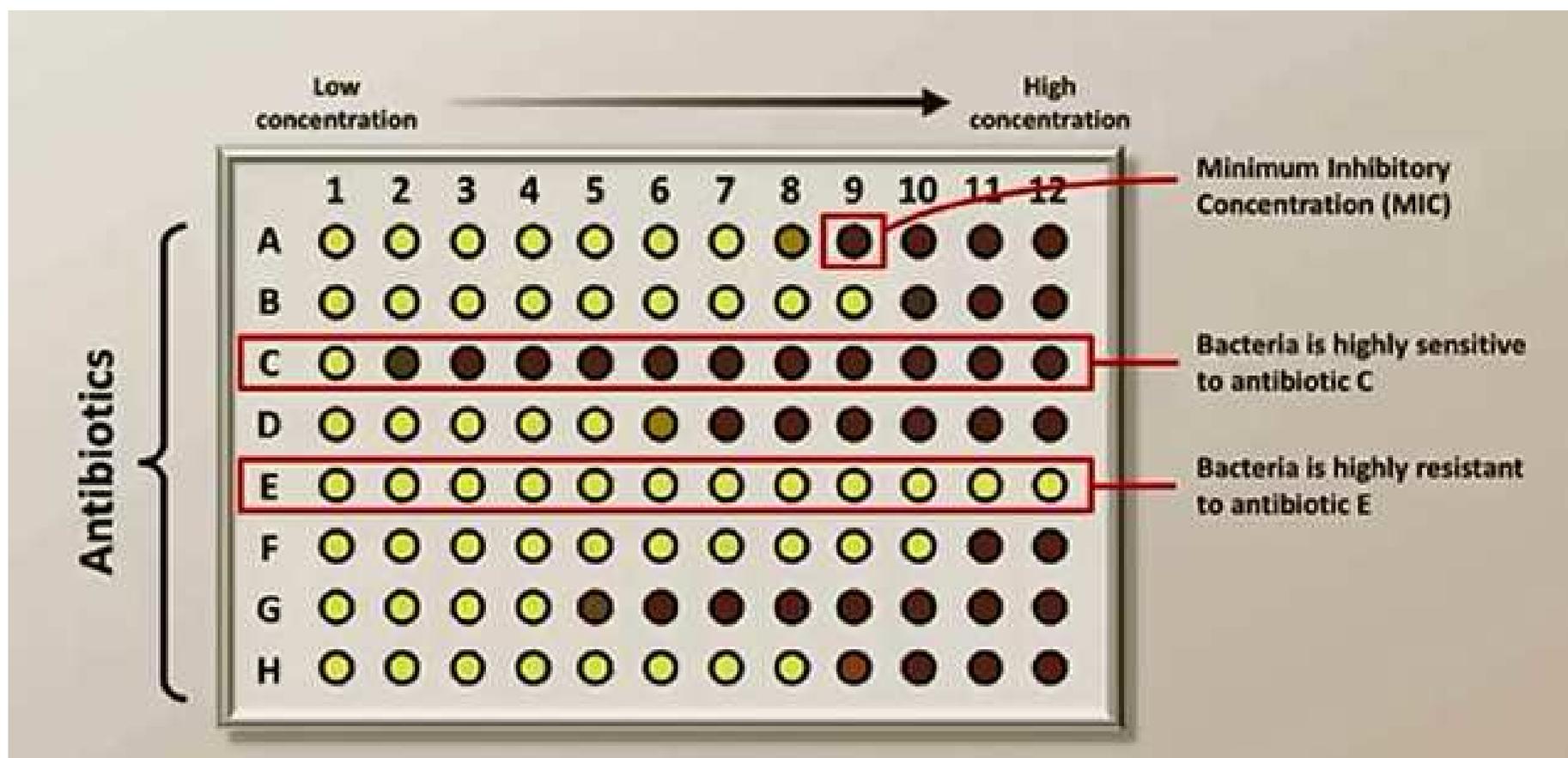
Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

Diluizione in brodo – micrometodo antibiotici A, B, ... H vs *Staphylococcus aureus*



cfr. Nota sul referto “Antibiogramma eseguito con metodo Sensititre (Oxoid)”

Cos'è

A cosa serve

Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

MIC: minima concentrazione di antibiotico in grado di inibire, in condizioni sperimentali prefissate, ogni segno di crescita visibile del batterio in esame

In base a tale parametro il batterio si definisce

SENSIBILE, S. «ad alte dosi», o **RESISTENTE** a quell'antibiotico

Solo in alcuni casi è necessario ottenere:

MBC: minima concentrazione di antibiotico in grado di inibire, in condizioni sperimentali prefissate, la crescita batterica di almeno il 99%

MBC

MIC

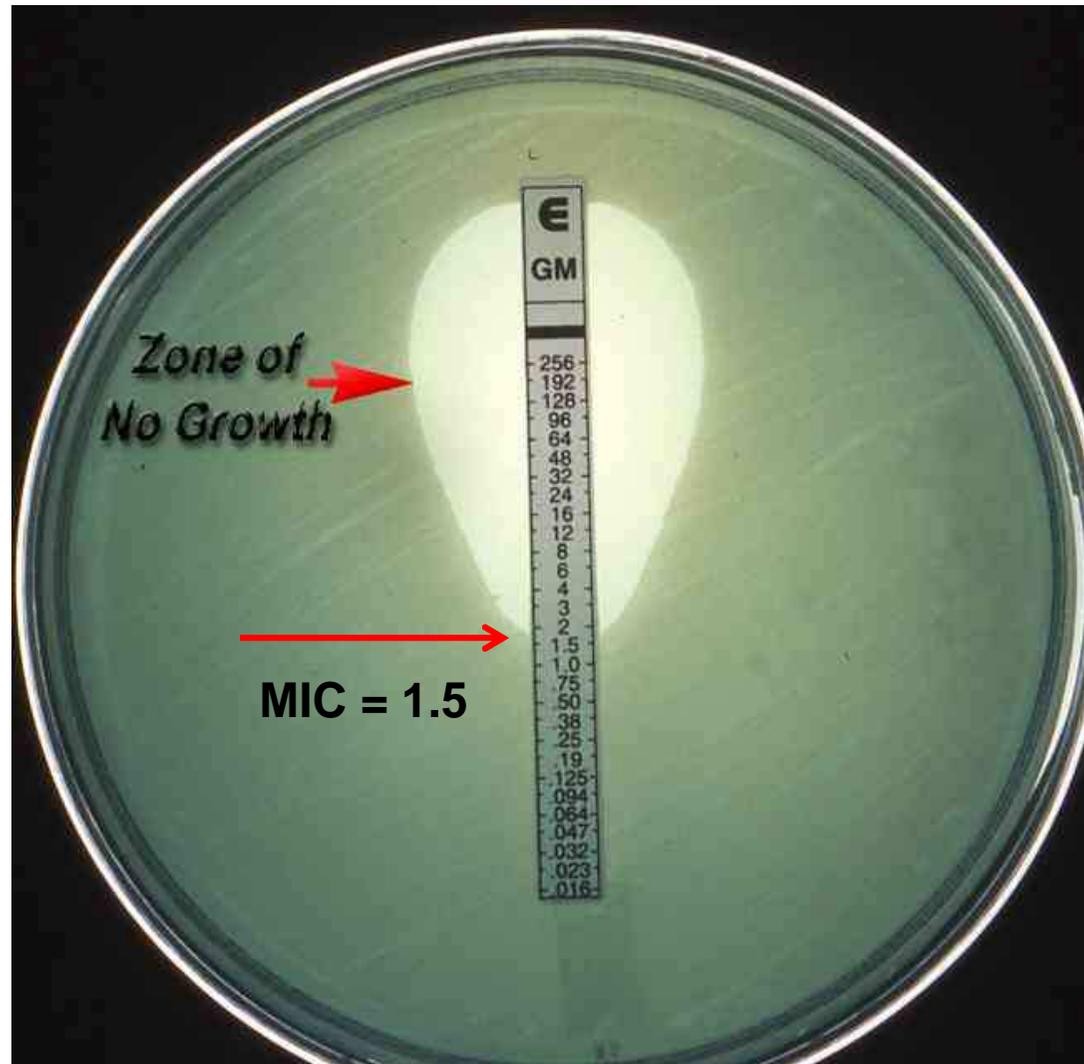
se ≥ 32 , il batterio si definisce **TOLLERANTE**

L'antibiotico risulta:

battericida in vitro ma non in vivo

E-test

ad esempio: gentamicina vs *Pseudomonas* spp



Cos'è

A cosa serve

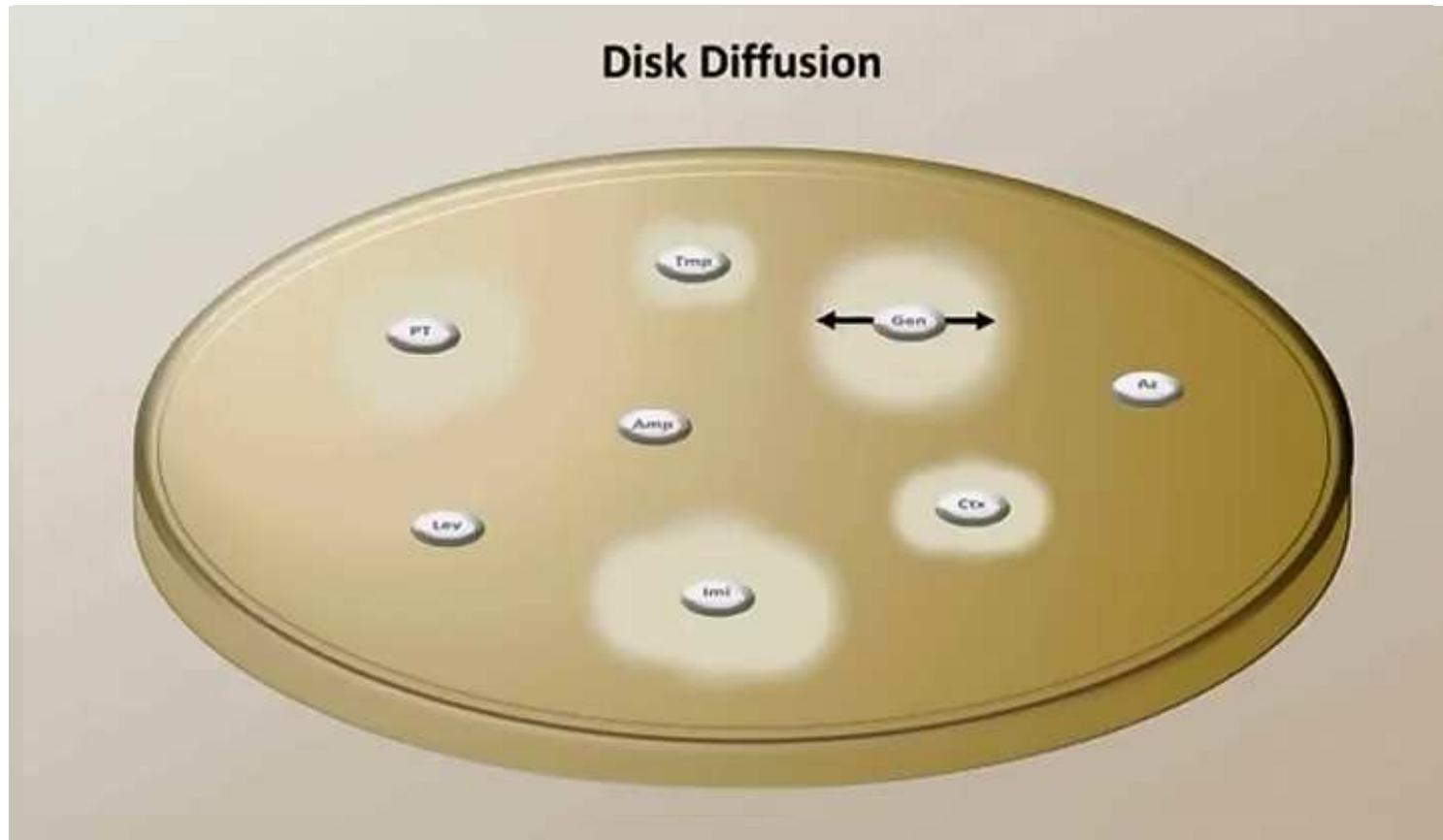
Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

Antibiogramma per diffusione (Kirby-Bauer)



Misura dell'alone di inibizione

Cos'è

A cosa serve

Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

Fattore tempo



Cos'è

A cosa serve

Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

ANTIBIOGRAMMA: come si interpreta?

http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/

ta pagina è in inglese. Tradurre la pagina con Google Toolbar? [Ulteriori informazioni](#) Non in inglese? [Aiutaci a migliorare](#) Traduci

**EUCAST**
EUROPEAN COMMITTEE
ON ANTIMICROBIAL
SUSCEPTIBILITY TESTING
European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

Home Contact Sitemap

- Organization
- EUCAST News
- Clinical breakpoints**
- Expert rules
- MIC - distributions and QC
- Zone diameter distributions
- EUCAST disk diffusion test
- Frequently Asked Questions (FAQ)
- Meetings
- EUCAST Presentations
- Documents
- Information for industry
- Links



The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST

EUCAST is a standing committee jointly organized by ESCMID, ECDC and European national breakpoint committees. EUCAST deals with breakpoints and technical aspects of phenotypic in vitro antimicrobial susceptibility testing and functions as the breakpoint committee of EMA and ECDC. EUCAST does not deal with antibiotic policies, surveillance or containment of resistance or infection control. The Steering Committee is the decision making body. It is supported by a General Committee with representatives from European and other countries, FESCI and ISC. The Steering Committee also consults on EUCAST proposals with experts within the fields of infectious diseases and microbiology, pharmaceutical companies and susceptibility testing device manufacturers.

search term

QUICK NAVIGATION

Remember to activate you free 2011 membership with the newly-founded ESCMID

EUCAST News

01 Nov 2011
Consultation on Aspergillus breakpoints for posaconazole
[Download](#)

Cos'è

A cosa serve

Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters

Version 9.0, valid from 2019-01-01

This document should be cited as "The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019. <http://www.eucast.org>."

Content	Page	Additional information
Introduction	1	
Guidance on reading EUCAST Breakpoint Tables	3	
Information on technical uncertainty	4	
Gram-positive bacteria	5	
Gram-positive bacilli	10	
<i>Stenotrophomonas</i> spp.	15	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	19	Link to Guidance Document on <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Burkholderia cepacia</i> complex	-	Link to Guidance Document on <i>Burkholderia cepacia</i> complex
<i>Mycobacter</i> spp.	20	
<i>Staphylococcus</i> spp.	24	
<i>Staphylococcus</i> spp.	29	
<i>Staphylococcus</i> groups A, B, C and G	34	
<i>Staphylococcus pneumoniae</i>	39	
Streptococcus group streptococci	45	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	50	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	55	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	59	
<i>Streptococcus meningitidis</i>	63	
Gram-positive anaerobes	67	
<i>Streptococcus difficile</i>	72	
Gram-negative anaerobes	73	
<i>Campylobacter pylori</i>	77	
<i>Haemophilus monocytogenes</i>	78	
<i>Haemophilus multocida</i>	79	
<i>Haemophilus jejuni</i> and <i>coli</i>	81	
<i>Haemophilus</i> spp.	82	
<i>Haemophilus sanguinicola</i> and <i>urinae</i>	84	
<i>Haemophilus kingae</i>	86	
<i>Haemophilus</i> spp.	88	
<i>Haemophilus tuberculosis</i>	90	
Topical agents	91	Link to Guidance Document on Topical Agents
PD (Non-species related) breakpoints	92	
Appendices	96	
Expert Rules	-	Link to EUCAST Expert Rules
Detection of Resistance Mechanisms	-	Link to EUCAST Guidelines on Detection of Resistance Mechanisms
Microbial 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

Cos'è

A cosa serve

Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

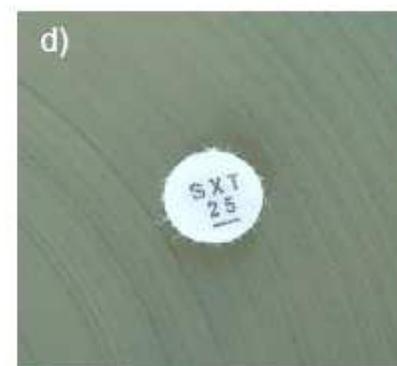
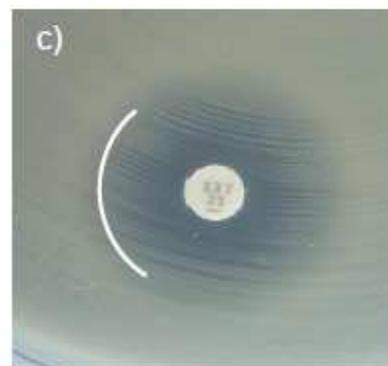
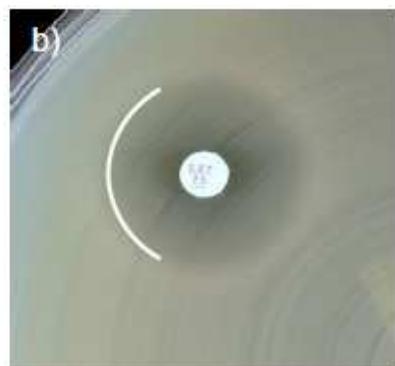
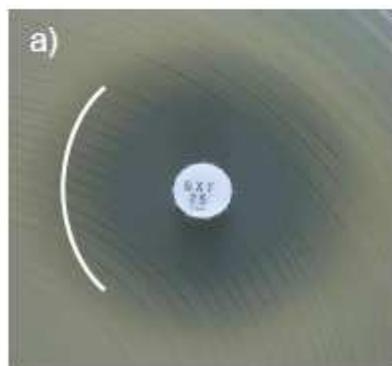
Stenotrophomonas maltophilia

EUCAST Clinical Breakpoint

Trimethoprim-sulfamethoxazole is the only agent for which EUCAST breakpoints are currently available. For further information, see guidance document on www.eucast.org.

Disk diffusion (EUCAST standardised disk diffusion method)
 Medium: Mueller-Hinton agar
 Inoculum: McFarland 0.5
 Incubation: Air, 35±1°C, 18±2h
 Reading: Read zone edges from the back of the plate against a dark background (see specific instructions).
 Quality control: *Escherichia coli* ATCC 25922

Miscellaneous agents	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)		Notes Numbers for comments on MIC breakpoints Letters for comments on disk diffusion
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Trimethoprim-sulfamethoxazole ¹	4 ²	4 ²	1.25-23.75	16 ^A	16 ^A	1. Trimethoprim:sulfamethoxazole in the ratio 1:19. Breakpoints are expressed in mg/L. 2. Breakpoints are based on high dose therapy. A. Ignore haze or fine growth within the inhibition zone (see pictures below).



Examples of inhibition zones for *Stenotrophomonas maltophilia* with trimethoprim-sulfamethoxazole.

a-c) An outer zone can be seen. Report susceptible if the zone diameter ≥ 16 mm.

d) Growth up to the disk and no sign of inhibition zone. Report resistant.

cfv Nota: “antibiogramma per levofloxacinu interpretatu secondu CLSI”

Cos'è

A cosa serve

Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

EUCAST: Penicilline vs *Enterobacteriales*

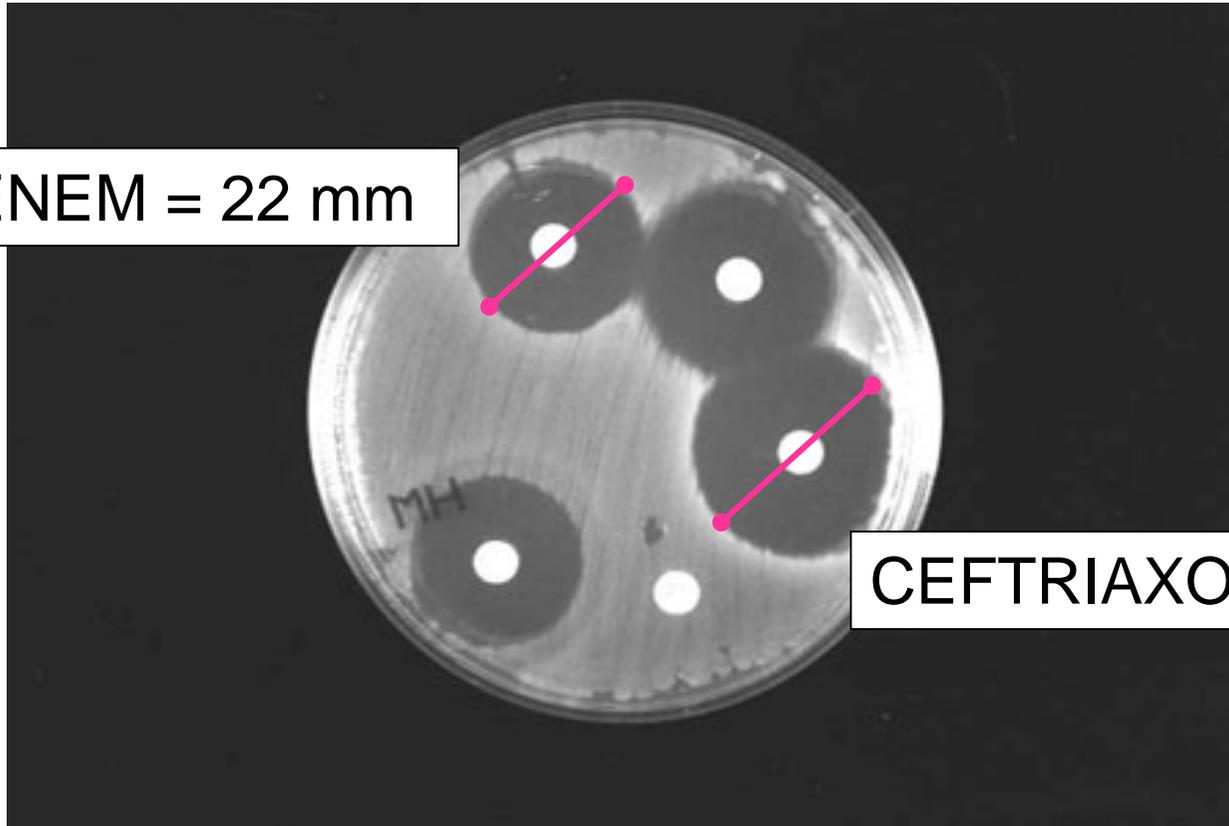
Penicillins ¹	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Benzylpenicillin	-	-		-	-
Ampicillin	8 ¹	8	10	14 ^{A,B}	14 ^B
Ampicillin-sulbactam	8 ^{1,2}	8 ²	10-10	14 ^{A,B}	14 ^B
Amoxicillin	8 ¹	8	-	Note ^C	Note ^C
Amoxicillin-clavulanic acid	8 ^{1,3}	8 ³	20-10	19 ^{A,B}	19 ^B
Amoxicillin-clavulanic acid (uncomplicated UTI only)	32 ^{1,3}	32 ³	20-10	16 ^{A,B}	16 ^B
Piperacillin	8	16	30	20	17
Piperacillin-tazobactam	8 ⁴	16 ⁴	30-6	20	17

Carbapenems ¹	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Doripenem	1	2	10	24	21
Ertapenem	0.5	1	10	25	22
Imipenem ²	2	8	10	22	16
Meropenem	2	8	10	22	16



Kirby-Bauer per *Haemophilus influenzae*

IMIPENEM = 22 mm



CEFTRIAXONE = 27 mm

Quale antibiotico funziona meglio?

Cos'è

A cosa serve

Quando

Come

Interpretazione

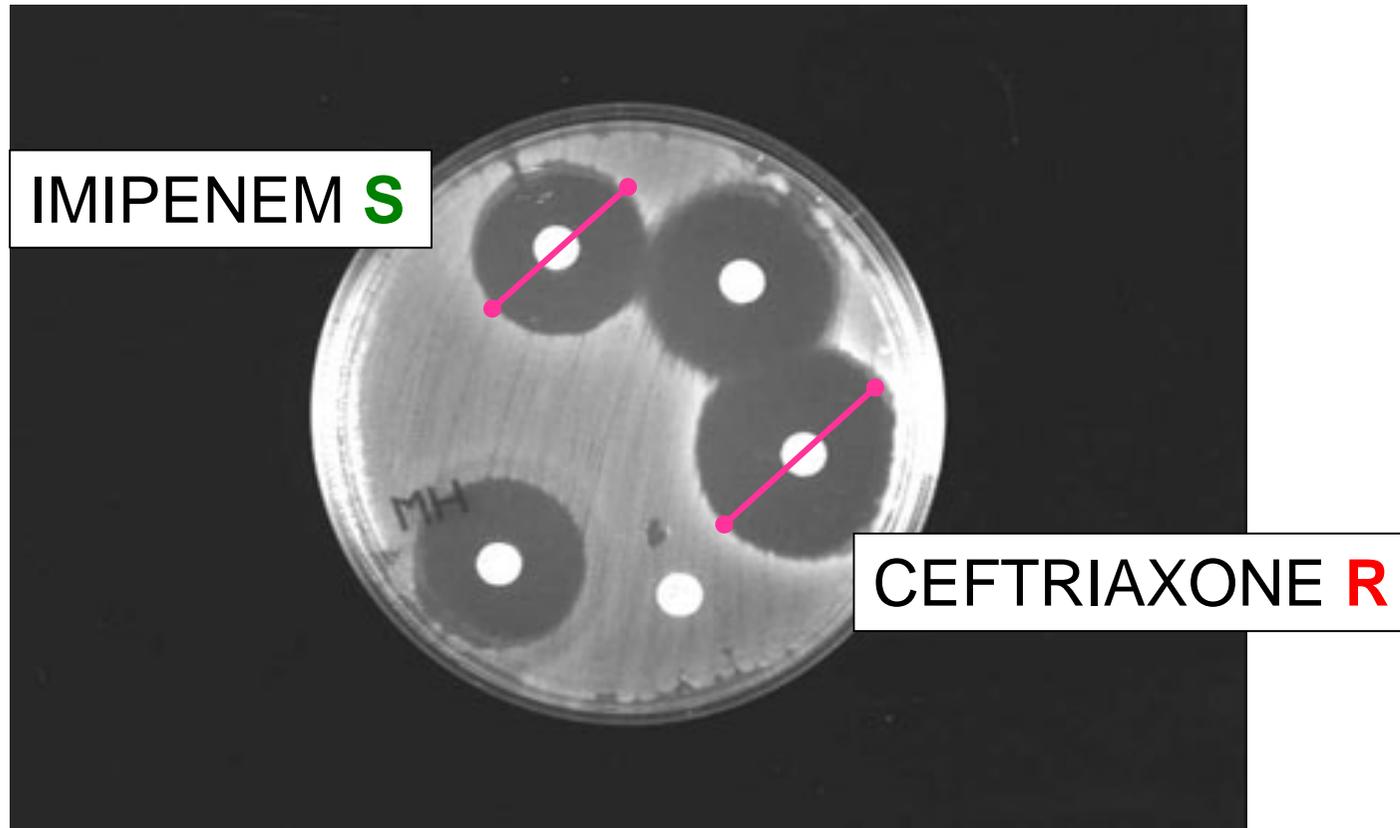
Resistenza

Haemophilus influenzae

EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 6.0, valid from 2016-01-01

Carbapenems	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Doripenem ¹	1	1	10	20 ^A	20 ^A
Ertapenem ¹	0.5	0.5	10	20 ^A	20 ^A
Imipenem ¹	2	2	10	20 ^A	20 ^A
Meropenem ¹ (infections other than meningitis)	2	2	10	20 ^A	20 ^A
Meropenem ² (meningitis)	0.25	1		Note ^B	Note ^B
Leftazidime	-	-		-	-
Ceftibuten	1	1	30	25 ^A	25 ^A
Ceftobiprole	IE	IE		IE	IE
Ceftolozane-tazobactam	IE	IE		IE	IE
Ceftriaxone	0.125	0.125	30	30 ^A	30 ^A
Cefuroxime iv	1	2	30	20 ^A	25 ^A
Cefuroxime oral	0.125	1	30	50	26

Kirby-Bauer per *Haemophilus influenzae*



Cos'è

A cosa serve

Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

Interpreting Susceptibility Reports

Date/Time: 4/4/2013 15:10
Source: Urine, indwelling catheter
Result: 100,000 CFU/mL gram negative rods
Result: 100,000 CFU/mL Pseudomonas aeruginosa

Antimicrobial	MIC mcg/mL	Int
AMIKACIN	8	S
CEFEPIME	8	S
CEFTAZIDIME	4	S
CIPROFLOXACIN	>=4	R
GENTAMICIN	8	I
IMIPENEM	2	S
LEVOFLOXACIN	>=8	R
PIP/TAZO	<=1	S
TOBRAMICIN	<=1	S

Equal MICs between
different antibiotics does not
mean equal susceptibility!

... stesso concetto per la MIC

Cos'è

A cosa serve

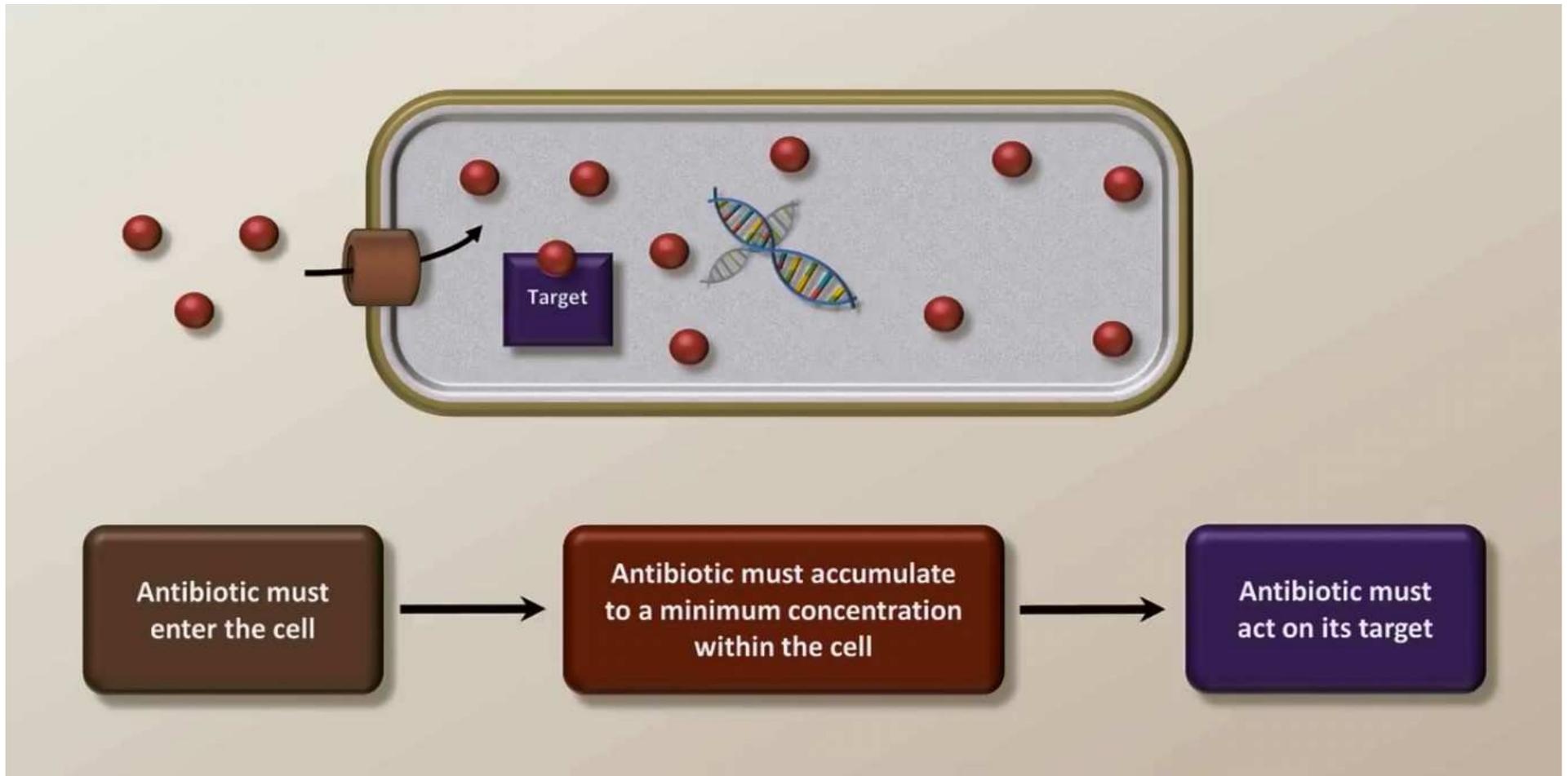
Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

Antibiotico vs batterio



Cos'è

A cosa serve

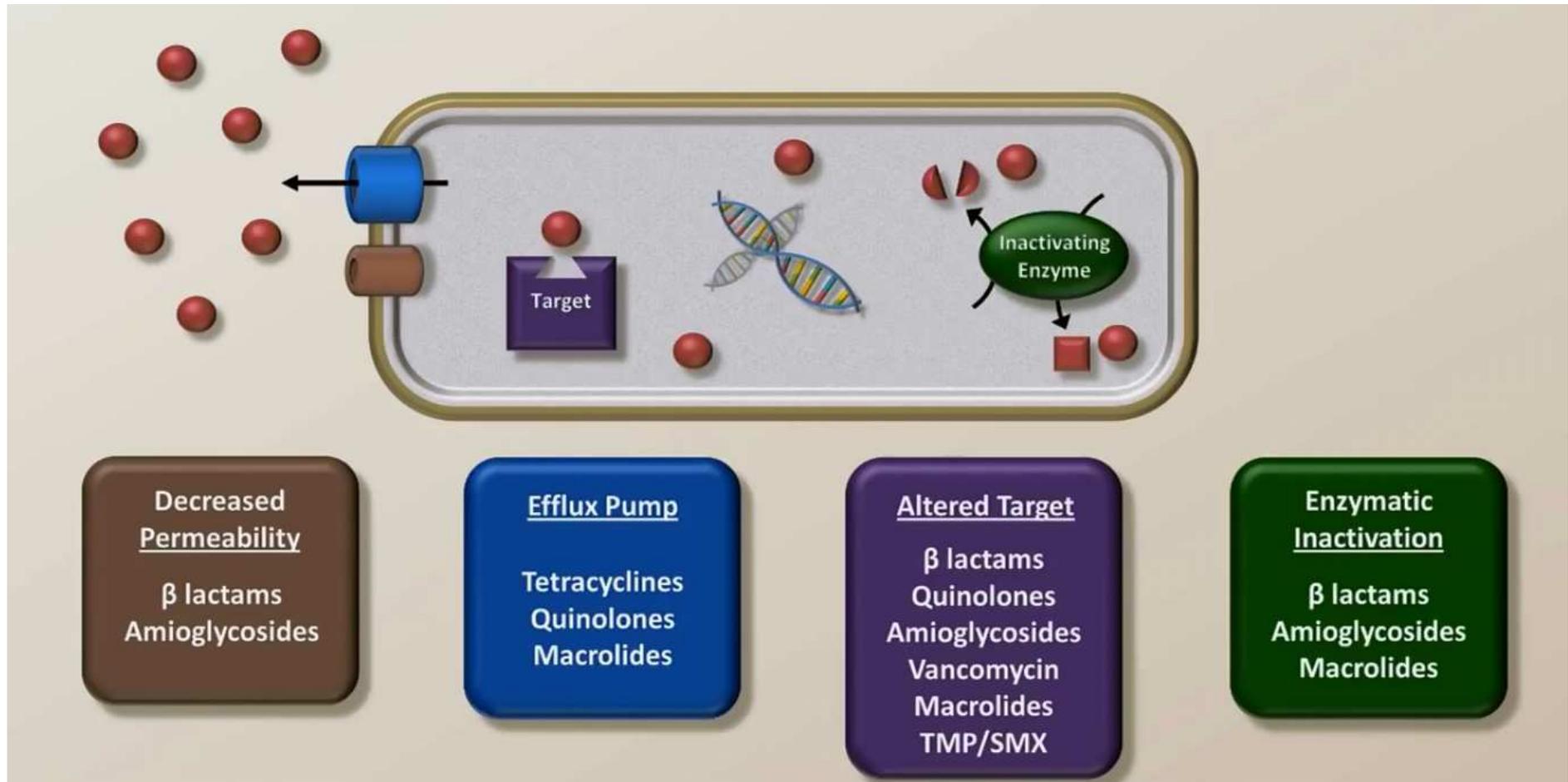
Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

Meccanismi di resistenza



Cos'è

A cosa serve

Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

Meccanismi di resistenza rilevati in laboratorio

Resistenza	Genere	Test fenotipici	Gene
Meticillino-R	Staphylococcus	Cefoxitin DD PBP2a, MIC oxacillina	mecA, mecC
Vancomicino-R	Enterococcus	MIC glicopep.	vanA, vanB, vanC
ESBL	Enterobatteri	Combinazione	CTX.....
Carbapenemasi	Enterobatteri	Inibizione da ...	KPC, OXA, VIM...
R ai macrolidi	Stafilo e Strepto	D-test	erm

Cos'è

A cosa serve

Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

CEFOXITIN DISK DIFFUSION PER METICILLINO-RESISTENZA

13 mm



30 mm

cfr. Nota “Cefoxitin screen test positivo = stafilococco meticillino-resistente”

Cephalosporins ¹	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Cefoxitin (screen), <i>S. aureus</i> , <i>S. lugdunensis</i> and <i>S. saprophyticus</i>	Note ³	Note ³	30	22 ^A	22 ^A
Cefoxitin (screen), Coagulase-negative staphylococci other than <i>S. lugdunensis</i> and <i>S. saprophyticus</i>	Note ⁴	Note ⁴	30	25 ^A	25 ^A

Notes

Numbered notes relate to general comments and/or MIC breakpoints.

Lettered notes relate to the disk diffusion method.

1/A. Susceptibility of staphylococci to cephalosporins is inferred from the cefoxitin susceptibility except for cefixime, ceftazidime, ceftibuten and ceftolozane-tazobactam, which do not have breakpoints and should not be used for staphylococcal infections.

Some methicillin-resistant *S. aureus* are susceptible to ceftaroline and ceftobiprole, **see Notes 5/B and 6/C.**

2. Breakpoints are based on high dose therapy (500 mg x 2).

3. *S. aureus* and *S. lugdunensis* with cefoxitin MIC values >4 mg/L and *S. saprophyticus* with cefoxitin MIC values >8 mg/L are methicillin resistant, mostly due to the presence of the *mecA* or *mecC* gene. Disk diffusion reliably predicts methicillin resistance.

4. For staphylococci other than *S. aureus*, *S. lugdunensis* and *S. saprophyticus*, the cefoxitin MIC is a poorer predictor of methicillin resistance than the disk diffusion test.

5/B. Methicillin-susceptible isolates can be reported susceptible to ceftaroline without further testing.

6/C. Methicillin-susceptible isolates can be reported susceptible to ceftobiprole without further testing.

EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing

Enterococci. All enterococci are considered to be intrinsically resistant to cephalosporins, but resistance to ampicillin mediated by alterations to PBP5 is increasingly recognized, particularly in *E. faecium* [21]. Penicillinase-producing *Enterococcus* isolates have been rarely detected, but have recently been described in Europe [22].

Enterobacteriaceae. IF resistant to ciprofloxacin, THEN report as resistant to all fluoroquinolones

Clin Microbiol Infect 2013; 19: 141–160

EUCAST: carbapenemasi in *Enterobacteriales*

Carbapenems ¹	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Doripenem	1	2	10	24	21
Ertapenem	0.5	1	10	25	22
Imipenem ²	2	8	10	22	16
Meropenem	2	8	10	22	16

Notes

Numbered notes relate to general comments and/or MIC breakpoints.

Lettered notes relate to the disk diffusion method.

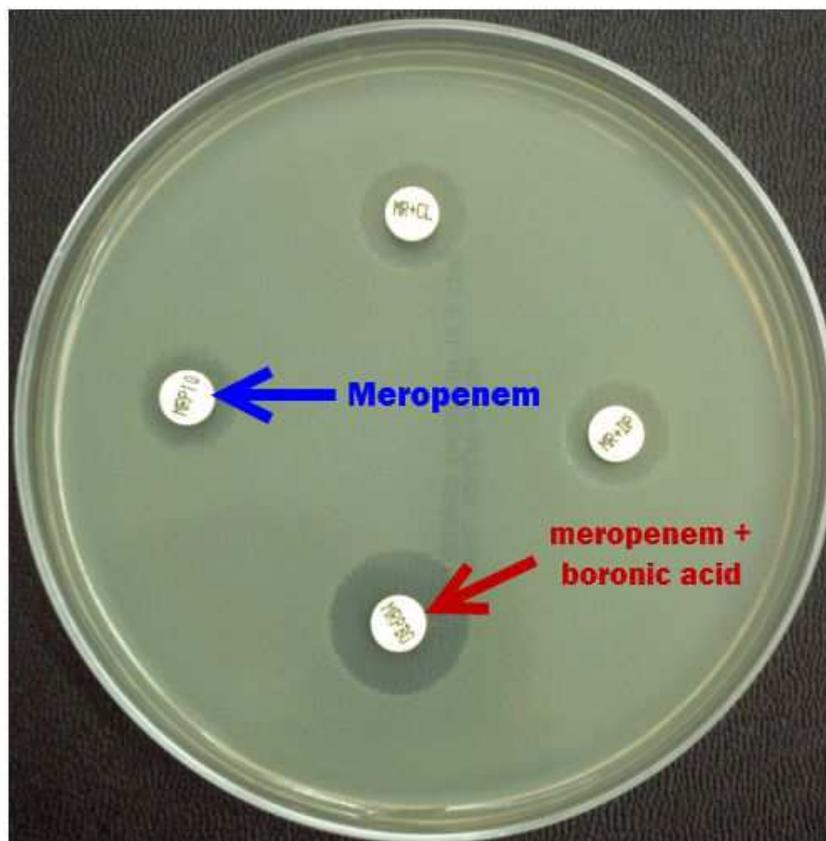
1. The carbapenem breakpoints for Enterobacteriaceae will detect all clinically important resistance mechanisms (including the majority of carbapenemases). Some isolates that produce carbapenemase are categorised as susceptible with these breakpoints and should be reported as tested, *i.e.* the presence or absence of a carbapenemase does not in itself influence the categorisation of susceptibility. Carbapenemase detection and characterisation are recommended for public health and infection control purposes.

2. Low-level resistance is common in *Morganella* spp., *Proteus* spp. and *Providencia* spp.

TEST FENOTIPICO PER CARBAPENEMASI: POSITIVO ISOLATO PRODUTTORE DI CARBAPENEMASI “KPC”

MRP10 < 5mm

MRPBO ≥ 5mm



Case report

J Clin Microbiol. 2011, 49:3019-20.

7-year-old girl, exacerbation of her eczema complicated by secondary skin infection.

Skin culture: MRSA susceptible to clindamycin, cotrimoxazole, and vancomycin but erythromycin resistant.

Treatment: oral clindamycin for 7 days, and the skin lesions improved.

10 days later: severe purulent cellulitis at the same site. She was admitted to our hospital for failure of outpatient therapy and begun on intravenous vancomycin.

Repeat cultures from the site: MRSA resistant to clindamycin.

>48 h of intravenous vancomycin: dramatic resolution of the skin lesions, and she was switched to oral cotrimoxazole.

The cellulitis resolved promptly, and there was no further recurrence.

Testing of the previous MRSA isolate:
confirmed the presence of **inducible clindamycin resistance**.

Cos'è

A cosa serve

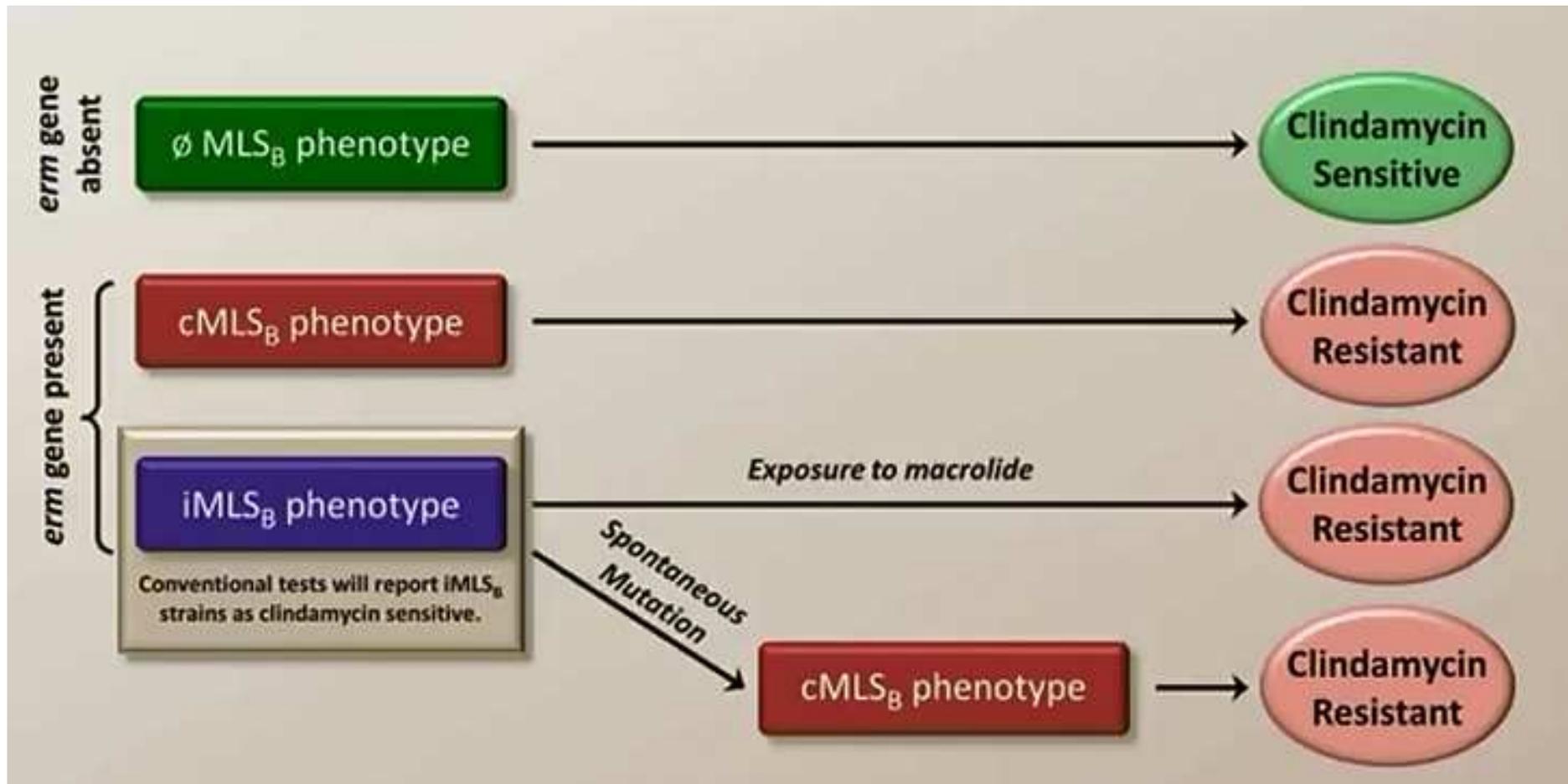
Quando

Come

Interpretazione

Resistenza

“D-test positivo = Resistenza inducibile a clindamicina”



Cos'è

A cosa serve

Quando

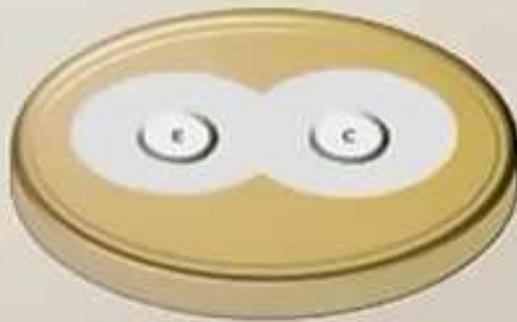
Come

Interpretazione

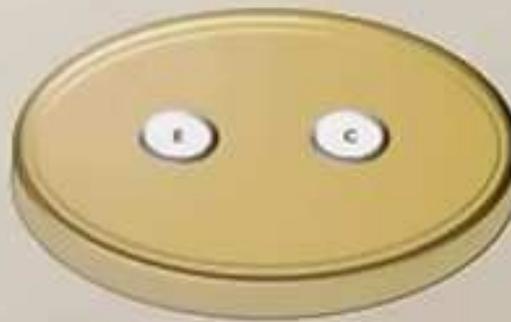
Resistenza

Inducible Clindamycin Resistance in *Staph. Aureus*

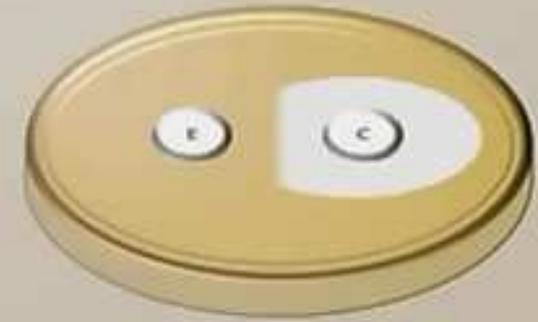
The D-Test



∅ MLS_B phenotype



cMLS_B phenotype



iMLS_B phenotype

(D-test positive)

For D-test positive MRSA strains, CLSI recommends reporting them as “resistant” to clindamycin, as well as adding to the susceptibility report, “This isolate is presumed to be resistant based on detection of inducible clindamycin resistance. Clindamycin may still be effective in some patients.”

“D-test positivo = Resistenza inducibile a clindamicina”

- Le infezioni da MRSA con D-test positivo, profonde e/o associate ad una carica elevata (sepsi, endocardite, osteomielite, ascessi) NON devono essere trattate con clindamicina, anche se MIC < breakpoint di sensibilità.
- Le infezioni da MRSA con D-test negativo POSSONO essere trattate con clindamicina, se il batterio risulta sensibile all'antibiogramma.