

3° Edizione

Area Critica in Medicina Interna

12 Aprile 2025

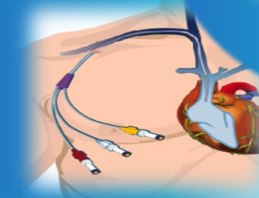
Korovesi Brisejda

S.C. Laboratorio di Patologia Clinica
Settore di Microbiologia
ASL2 Savonese - Ospedale San Paolo

***Interpretazione del FilmArray e
dell'antibiogramma nella scelta
del corretto antibiotico***

Savona

Nh Darsena
Hotel

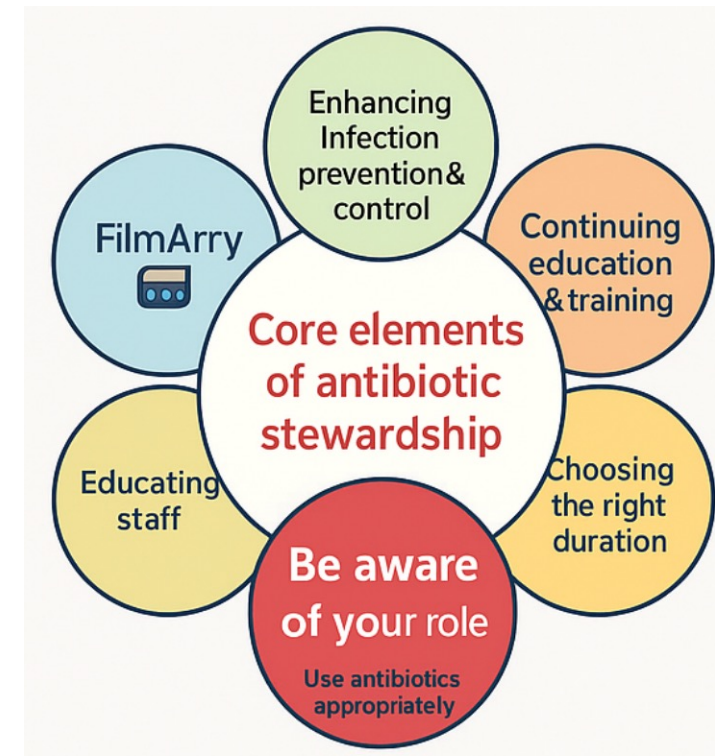


Conflitti interessi dichiarati:

L'autore dichiara di non avere alcun conflitto di interesse in relazione ai contenuti presentati

Diagnosi rapida delle Infezioni Batteriche: il ruolo della *Fast Microbiology*

- La **diagnosi rapida** è essenziale per una **terapia antibiotica mirata** fin dalle prime fasi
- Il **FilmArray** consente l'identificazione simultanea di più **patogeni** e **geni di resistenza** in tempi brevi
- I dati molecolari devono essere integrati con l'antibiogramma **fenotipico**, per una valutazione completa della **sensibilità** agli antibiotici



Pannelli Sindromici Rapidi – Infezioni Osteoarticolari

Liquido Sinoviale



39 Targets Patogeni + Geni di Resistenza		
Gram-negativi (14)	Gram-positivi (15)	Geni di resistenza gram- (6)
Bacteroides fragilis	Anaerococcus prevotii/vaginalis	IMP
Citrobacter	Clostridium perfringens	KPC
Enterobacter cloacae complex	Cutibacterium avidum/granulosum	NDM
Escherichia coli	Enterococcus faecalis	OXA-48-like
Haemophilus influenzae	Enterococcus faecium	VIM
Kingella kingae	Finegoldia magna	CTX-M
Klebsiella aerogenes	Parvimonas micra	
Klebsiella pneumoniae group	Peptoniphilus	Geni di resistenza gram + (2)
Morganella morganii	Peptostreptococcus anaerobius	mecA/C and MREJ (MRSA)
Neisseria gonorrhoeae	Staphylococcus aureus	vanA/B
Proteus spp.	Staphylococcus lugdunensis	
Pseudomonas aeruginosa	Streptococcus spp.	
Salmonella spp.	Streptococcus agalactiae	Lieviti (2)
Serratia marcescens	Streptococcus pneumoniae	Candida spp.
	Streptococcus pyogenes	Candida albicans

Sensibilità = 91.7%

Specificità = 99.8%

Pannelli Sindromici Rapidi – Meningoencefaliti

Liquido cefalo-rachidiano



14 Targets Patogeni		
Batteri	Virus	Lieviti
Escherichia coli K1	Cytomegalovirus (CMV)	Cryptococcus neoformans/C. gattii
Haemophilus influenzae	Enterovirus (EV)	
Listeria monocytogenes	Herpes simplex virus 1 (HSV-1)	
Neisseria meningitidis	Herpes simplex virus 2 (HSV-2)	
Streptococcus agalactiae	Human herpesvirus 6 (HHV-6)	
Streptococcus pneumoniae	Human parechovirus (HPeV)	
	Varicella zoster virus (VZV)	

Sensibilità = 94.2%

Specificità = 99.8%

Pannelli Sindromici Rapidi – Polmoniti

Espettorato, Broncoaspirato, Lavaggio broncoalveolare



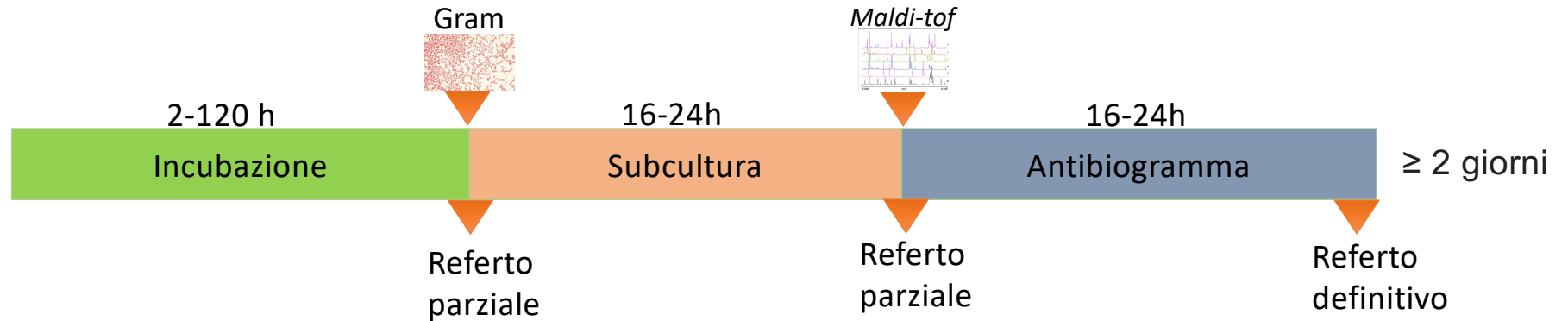
33 Targets Patogeni + Geni di Resistenza		
Batteri (semi-quantitative; 15)	Geni di resistenza gram- (6)	Batteri atipici (3)
Acinetobacter baumannii complex	IMP	Chlamydia pneumoniae
Enterobacter cloacae complex	KPC	Legionella pneumophila
Escherichia coli	NDM	Mycoplasma pneumoniae
Haemophilus influenzae	OXA-48-like	
Klebsiella aerogenes	VIM	
Klebsiella oxytoca	CTX-M	
Klebsiella pneumoniae group		
Moraxella catarrhalis		
Proteus spp.		
Pseudomonas aeruginosa		
Serratia marcescens		
Staphylococcus aureus		
Streptococcus agalactiae		
Streptococcus pneumoniae		
Streptococcus pyogenes		
	Geni di resistenza gram + (1)	Virus respiratori (8)
	mecA/C + MREJ	Adenovirus
		Coronavirus
		Human metapneumovirus
		Human rhinovirus/enterovirus
		Influenza A virus
		Influenza B virus
		Parainfluenza virus
		Respiratory syncytial virus

Sensibilità = 96.2%

Specificità = 97.3%

Poole, Stephen, et al. "Molecular point-of-care testing for lower respiratory tract pathogens improves safe antibiotic de-escalation in patients with pneumonia in the ICU: Results of a randomised controlled trial." *Journal of Infection* 85.6 (2022)

Sistemi molecolari rapidi da emocoltura



Terapia empirica

Terapia quasi mirata

Terapia mirata

Test molecolare
con pannello sindromico
in 70 min



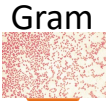
ID molecolare
Antibiogramma molecolare

Caso 1: batteriemia in pz critico



12h

Incubazione



Referto parziale



ID molecolare

Klebsiella pneumoniae

Antibiogramma molecolare

Gene KPC

Fenotipo atteso

Antibiotico	MIC mg/L S/I/R
Piperacillina/Taz	R
Ceftazidime	R
Cefepime	R
Ceftolozano/Taz	R
Ceftazidime/Avi	S
Ertapenem	R
Imipenem	R
Imipenem/Rel	S
Meropenem	R
Meropenem/Vab	S
Amikacina	?
Gentamicina	?
Ciprofloxacina	?
Trimetoprim/Sulf	?
Colistina	?

Sangue

Emocoltura esame microscopico

Emocoltura aerobi

Positivo

Bacilli gram negativi

Klebsiella pneumoniae

Produttore di carbapenemasi di tipo KPC

BATTERI Gram Neg

Acinetobacter baumannii complex Non Rilevato

Bacteroides fragilis Non Rilevato

→ *Enterobacterales* Rilevato

Enterobacter cloacae complex Non Rilevato

Escherichia coli Non Rilevato

Klebsiella aerogenes Non Rilevato

Klebsiella oxytoca Non Rilevato

→ *Klebsiella pneumoniae group* Rilevato

Proteus spp. Non Rilevato

Salmonella spp. Non Rilevato

Serratia marcescens Non Rilevato

Haemophilus influenzae Non Rilevato

Neisseria meningitidis Non Rilevato

Pseudomonas aeruginosa Non Rilevato

Stenotrophomonas maltophilia Non Rilevato

GENI DI RESISTENZA

IMP Non Rilevato

→ KPC Rilevato

OXA-48-like Non Rilevato

NDM Non Rilevato

VIM Non Rilevato

mcr-1 Non Rilevato

→ CTX-M Rilevato

Diversità dei fenotipi attesi KPC

➤ varianti alleliche KPC (>250)

Antibiotico	MIC mg/L S/I/R
Ceftazidime/Avi	1S
Imipenem/Rel	0.5S
Meropenem	>16R
Meropenem/Vab	0.25S

KPC-3

Antibiotico	MIC mg/L S/I/R
Ceftazidime/Avi	>16R
Imipenem/Rel	0.5S
Meropenem	1S
Meropenem/Vab	0.25S

KPC-31

Antibiotico	MIC mg/L S/I/R
Ceftazidime/Avi	>16R
Imipenem/Rel	0.5S
Meropenem	>16R
Meropenem/Vab	0.25S

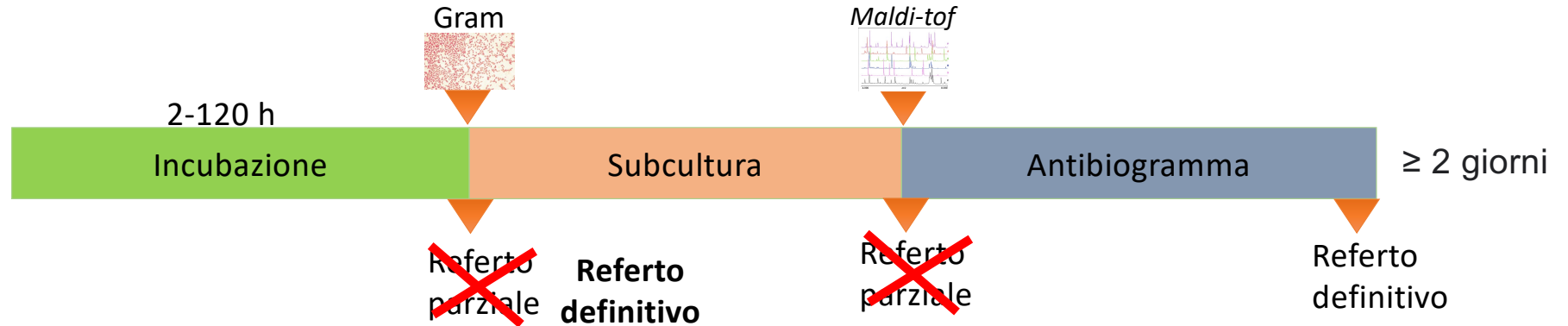
KPC-109

Antibiotico	MIC mg/L S/I/R
Ceftazidime/Avi	>16R
Imipenem/Rel	>8R
Meropenem	>16R
Meropenem/Vab	>16R

*ompK35*Δ,
*ompK36*_{137DT}, *bla*_{KPC}6X

Cross-resistenza
Con altri BLICs

Antibiogramma fenotipico rapido da emocoltura



Terapia empirica

Terapia mirata



ID molecolare
Antibiogramma molecolare

Terapia quasi mirata

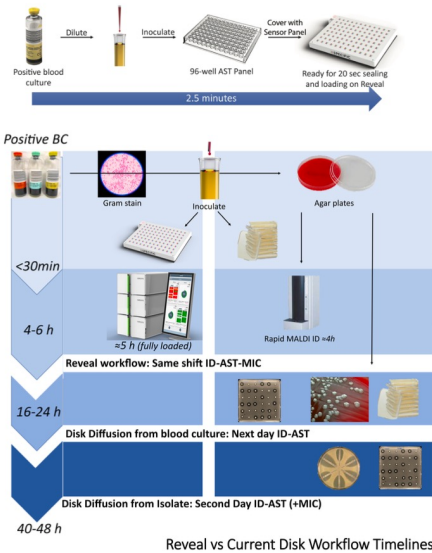


Antibiogramma fenotipico
in circa 6-7h

Clinical evaluation of the SPECIFIC REVEAL™ Rapid AST System with Gram-negative bacteremia samples in 6 hospitals in France and England

Martin Rottman¹, Paul Rhodes², Pragya Singh³, Jean-Louis Herrmann¹, Katy Jeannot³, Vincent Cattoir⁴, Etienne Carbonnelle⁵, Patrick Plesiat³, Alan Williams⁶, Laurent Dortet⁷

< 3-minute low-skill sample prep workflow



- ❖ Circa 700 campioni provenienti da 6 ospedali diversi
- ❖ Categorical agreement ~ 97%
- ❖ Very major errors ~ 0.8%
- ❖ Risultati disponibili in media in 4.5-6.5 ore
- ❖ Tutti gli antibiotici hanno avuto un CA > 94% tranne la piperacillina/tazobactam (CA = 91.1%) ma nella maggior parte dei casi si trattava di **minor errors**.

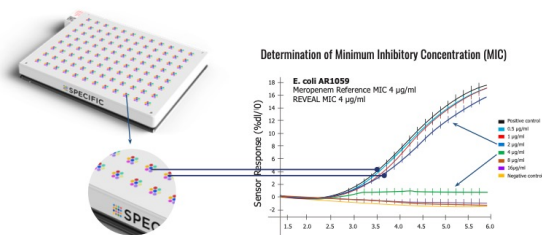
Results

Samples Collected and SPECIFIC REVEAL Performance

Overall performance of REVEAL AST across all sites		Species	Number
Categorical agreement (CA)	96.7%	<i>E. coli</i>	249
Minor Errors (mE)	2.6% (252 / 9566)	<i>K. pneumoniae</i>	94
Major Errors (ME)	0.75% (49 / 6576)	<i>P. aeruginosa</i>	68 (+200)
Very Major Errors (VME)	0.79% (16 / 2031)	<i>E. cloacae</i>	45
Average time to result	5h 36 min	<i>K. aerogenes</i>	16
		<i>K. oxytoca</i>	11
		<i>C. koseri</i>	9

SPECIFIC REVEAL Performance by Antimicrobial Agent

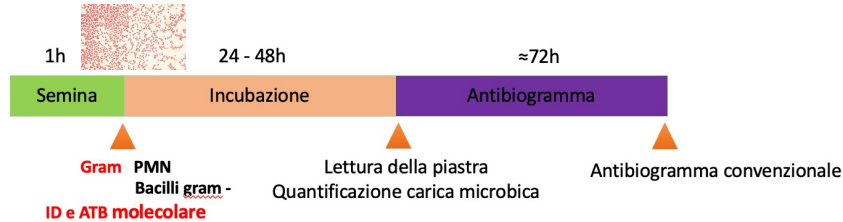
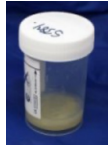
Antibiotic	#S	#I	#R	Total	TTR	#CA	#mE	#ME	#VME	CA
Amikacin	628	8	52	688	5h 15min	673	11	4	1	97.67%
Ampicillin	37	0	60	97	4h 30min	97	0	0	0	100.00%
Aztreonam	355	17	85	457	5h 36min	434	16	8	0	94.75%
Cefazolin	0	0	15	15	5h 13min	15	0	0	0	100.00%
Cefepime	379	131	176	686	5h 55min	646	37	3	1	94.10%
Cefotaxime	251	7	80	338	5h 59min	328	7	3	0	97.04%
Cefoxitin	347	1	9	357	5h 13min	353	2	2	0	98.88%
Ceftazidime	366	129	192	687	5h 59min	663	23	1	0	96.36%
Ceftazidime_Avibactam	287	0	24	311	6h 04min	306	0	3	2	98.39%
Ceftolozane_Tazobactam	186	0	46	232	6h 25min	229	0	1	2	98.71%
Cefuroxime	100	61	43	204	4h 56min	203	1	0	0	99.51%
Ciprofloxacin	310	122	173	605	5h 24min	576	21	9	0	95.04%
Ertapenem	415	4	4	423	6h 15min	419	4	0	0	99.05%
Gentamicin	413	1	67	481	5h 53min	479	1	2	0	99.38%
Imipenem	372	129	93	594	6h 18min	576	17	0	1	96.97%
Levofloxacin	227	121	150	498	5h 46min	484	14	0	1	96.99%
Meropenem	492	59	37	588	6h 18min	562	27	0	0	95.49%
Nitrofurantoin	39	0	1	40	6h 28min	40	0	0	0	100.00%
Piperacillin	161	7	308	476	4h 27min	466	5	6	0	97.69%
Piperacillin_Tazobactam	374	143	151	668	6h 33min	610	52	1	6	91.17%
Tobramycin	551	8	132	691	5h 08min	682	9	1	0	98.55%
Co-Trimoxazole	281	5	133	419	4h 36min	407	5	5	2	97.14%



Caso 2: sospetta polmonite in pz critico

Terapia empirica

BAS



Revisione precoce

Cefiderocol (+ Colistina NEB)

ID molecolare:

P. aeruginosa, > 10⁷ GC/ml

Antibiogramma genotipico	
KPC	NEG
OXA-48	NEG
VIM	POS
NDM	NEG
IMP	NEG
CTX-M	NEG

Antibiotico	MIC mg/L S/I/R
Piperacillina/Taz	R
Ceftazidime	R
Cefepime	R
Ceftolozano/Taz	R
Ceftazidime/Avi	R
Ertapenem	R
Imipenem	R
Imipenem/Rel	R
Meropenem	R
Meropenem/Vab	R
Cefiderocol	S
Aztreonam	?
Amikacina	?
Gentamicina	?
Ciprofloxacina	?
Colistina	?

INTERPRETAZIONE

PROBABILE RESISTENZA A:

- PIPERACILLINA/TAZOBACTAM
- CEFTAZIDIME
- CEFEPIME
- IMIPENEM
- MEROPENEM
- CEFTOLOZANO/TAZOBACTAM
- CEFTAZIDIME/AVIBACTAM
- MEROPENEM/VABORBACTAM
- IMIPENEM/VABORBACTAM

PROBABILE SENSIBILITA' A:

- CEFIDEROCOL

PREVISIONI NON POSSIBILI SU:

- COLISTINA
- AMINOGLICOSIDI
- FLUOROCHINOLONICI
- AZTREONAM

Refertazione meccanismi di R polmoniti

Materiale: Broncoaspirato

Esame microscopico: numerosi leucociti polimorfonucleati, bacilli gram negativi
(Q-score >1)

Esame colturale per germi comuni e miceti

POSITIVO

P. aeruginosa >10⁶ CFU/ML

Isolato produttore di carbapenemasi di tipo VIM

Pannello *Sindromico* Polmoniti

PATOGENI BATTERICI Gram Neg

Acinetobacter calcoaceticus-baumannii

Enterobacter cloacae complex

Escherichia coli

Haemophilus influenzae

Klebsiella aerogenes

Klebsiella oxytoca

Klebsiella pneumoniae group

Moraxella catarrhalis

Proteus spp

→ *Pseudomonas aeruginosa*

Serratia marcescens

GENI DI RESISTENZA Gram Neg

CTX-M

KPC

OXA-48-LIKE

IMP

→ VIM

Non Rilevato

Non Rilevato

Non Rilevato

Non Rilevato

Non Rilevato

Non Rilevato

Non Rilevato

Non Rilevato

Non Rilevato

Rilevato

≥10⁷ copie genomiche/ml

Non Rilevato

Non Rilevato

Non Rilevato

Non rilevato

Non Rilevato

Rilevato

Cellule epiteliali squamose

Esame Microscopico	n.	1-9	10-24	> 25
Referto	0	+	++	+++
n.	0	0	- 1	- 2
1-9	+	+ 1	0	- 1
10-24	++	+ 2	+ 1	0
> 25	+++	+ 3	+ 2	+ 1
Punteggio "Q"				

Se Q-score ≥1

Materiale idoneo

Se Q-score ≤0

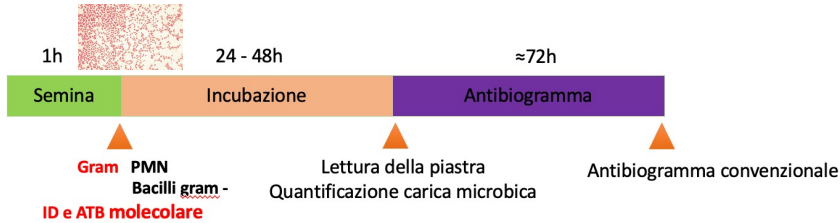
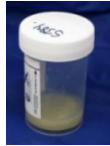
Materiale non idoneo

Leucociti

Caso 2: sospetta polmonite in pz critico

Terapia empirica

BAS



Revisione precoce

Ceftolozano/tazobactam

ID molecolare:

P. aeruginosa, > 10⁷ GC/ml

Antibiogramma genotipico

KPC	NEG
OXA-48	NEG
VIM	NEG
NDM	NEG
IMP	NEG
CTX-M	NEG

Antibiotico	MIC mg/L S/I/R
Piperacillina/Taz	>32R
Ceftazidime	>8R
Cefepime	>16R
Ceftolozano/Taz	8R
Ceftazidime/Avi	2S
Ertapenem	>8R
Imipenem	>8R
Imipenem/Rel	0.25S
Meropenem	>16R
Meropenem/Vab	0.12S
Amikacina	>16R
Aztreonam	>16R
Colistina	1S

INTERPRETAZIONE



Revisione terapia

Ceftazidime/avibactam

ANALISI
MOLECOLARE
GES-5

Different phenotypes of DTR-*P. aeruginosa*

AmpC;MexAB; Δ oprD

Antibiotico	MIC mg/L S/I/R
Piperacillina/Taz	1I
Ceftazidime	0.5I
Cefepime	0.25I
Ceftolozano/Taz	≤ 0.25 S
Ceftazidime/Avi	2S
Imipenem	0.5I
Meropenem	1S
Amikacina	2S
Ciprofloxacina	0.5I
Colistina	1S

Antibiotico	MIC mg/L S/I/R
Piperacillina/Taz	>32R
Ceftazidime	>8R
Cefepime	>16R
Ceftolozano/Taz	>16R
Ceftazidime/Avi	>32R
Ertapenem	>8R
Imipenem	>8R
Meropenem	>16R
Amikacina	1S
Ciprofloxacina	>32R
Colistina	1S

GES+ Δ oprD

Antibiotico	MIC mg/L S/I/R
Piperacillina/Taz	>32R
Ceftazidime	>8R
Cefepime	>16R
Ceftolozano/Taz	>16R
Ceftazidime/Avi	2S
Ertapenem	>8R
Imipenem	>8R
Meropenem	>16R
Amikacina	>64
Ciprofloxacina	>32R
Colistina	1S

FIM-1

Antibiotico	MIC mg/L S/I/R
Piperacillina/Taz	>32R
Ceftazidime	>8R
Cefepime	>16R
Ceftolozano/Taz	>16R
Ceftazidime/Avi	>16R
Ertapenem	>8R
Imipenem	>8R
Meropenem	>16R
Amikacina	>64
Ciprofloxacina	0.5I
Colistina	1S

Antibiogramma genotipico

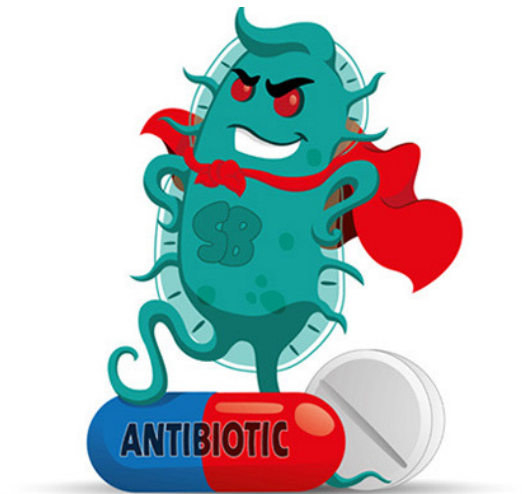
KPC	NEG
OXA-48	NEG
VIM	NEG
NDM	NEG
IMP	NEG
CTX-M	NEG

Pro e contro dei sistemi sindromici rapidi

- ✓ Permettono di prevedere la resistenza batterica quando viene identificato un meccanismo di resistenza
- ✓ Rilevano con rapidità le carbapenemasi più frequenti
- ✓ Consentono un'identificazione diretta dal campione clinico, riducendo i tempi di risposta (TTR)
- ✓ Forniscono dati semiquantitativi utili nei casi sospetti di polmonite
- ✗ L'assenza di rilevazione di un meccanismo di resistenza non garantisce la sensibilità agli antibiotici
- ✗ C'è una copertura limitata per farmaci non appartenenti alla classe dei b-lattamici
- ✗ I costi sono superiori rispetto alle metodiche colturali tradizionali

Conclusioni

- Crescente complessità nella diagnostica microbiologica
- Vantaggi della diagnostica molecolare sindromica per la gestione delle infezioni da patogeni MDR (rapidità e *stewardship* per nuovi antibiotici)
- Necessità di conoscere i limiti della diagnostica molecolare - complementarità con *Fast-AST*
- Personalizzare percorso diagnostico per tipologia di paziente (stewardship diagnostica combinatoriale)



Thanks!