



XLVI Congresso Nazionale AMCLI

11 – 14 Novembre 2017

Palacongressi di Rimini

RESISTENZE DI *ACHROMOBACTER XYLOSOXIDANS*: QUALE REFERTO?

*Claudia Pecoraro

**Maria Trancassini

*DIPARTIMENTO MATERNO INFANTILE E SCIENZE UROLOGICHE

**DIPARTIMENTO DI SANITÀ PUBBLICA E MALATTIE INFETTIVE



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

ACHROMOBACTER SPP

- **Bacilli gram negativi, non lattosio fermentanti**
- **Aerobi e anaerobi facoltativi**
- **Catalasi positivi**
- **Ossidasi positivi**
- **Sono molto diffusi nell'ambiente e possono comportarsi da patogeni opportunisti.**

ACHROMOBACTER SPP

PATOGENO OPPORTUNISTA IN:

- **IMMUNOCOMPROMESSI (HIV)**
- **PAZIENTI ONCOLOGICI**
- **NEONATI**

TRASMISSIONE

- *Achromobacter xylosoxidans* è associato a una varietà di infezioni umane quali:
 - Batteremie
 - Meningiti
 - Polmoniti
 - Endocarditi
 - Peritoniti
 - Osteomieliti
 - Infezioni del tratto urinario
 - Endoftalmiti
- Molte infezioni sono *nosocomiali* e interessano neonati, gravi ustionati e tutti i pazienti immunocompromessi.
- Possono contaminare dispositivi usati in ambiente ospedaliero tra cui: disinfettanti, soluzioni saline e acqua deionizzata.

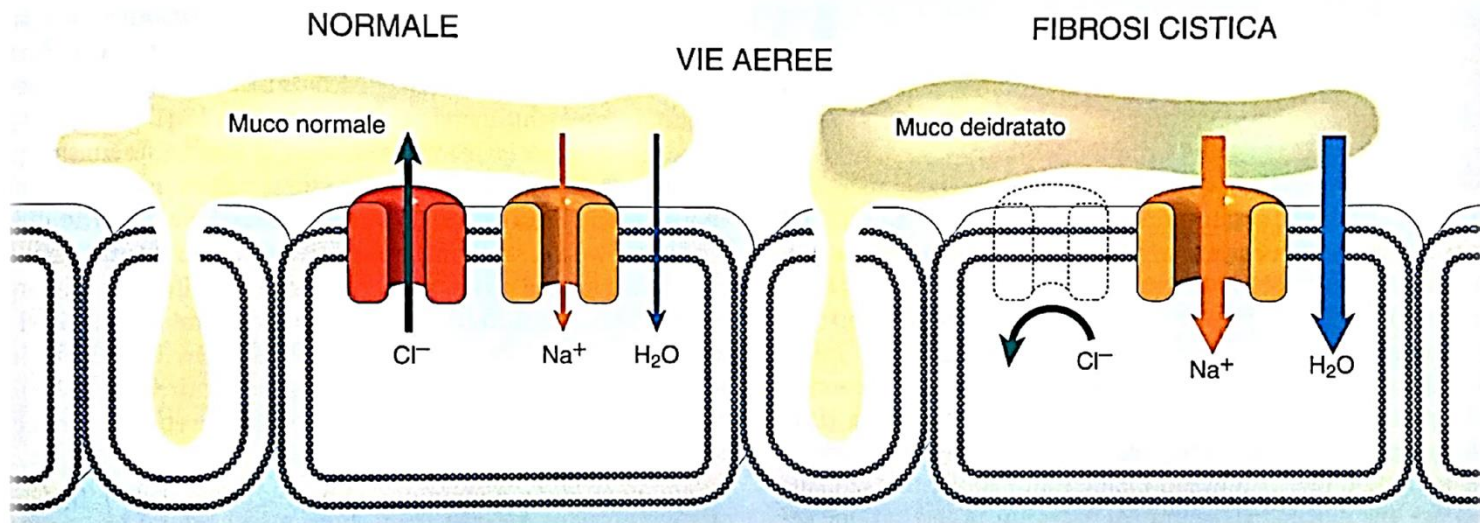
***ACHROMOBACTER*SPP E FIBROSI CISTICA**

- **Patogeno emergente**
- **Ruolo patogeno non chiaro anche se in alcuni lavori in correlazione con un peggioramento della funzionalità respiratoria**
- **Responsabile di colonizzazioni e/o infezioni**
- **Presente come unico microrganismo o insieme a *P.aeruginosa* o *S.aureus***

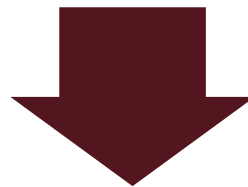
COSA È LA FIBROSI CISTICA?

- La fibrosi cistica è una malattia ereditaria delle ghiandole esocrine che colpisce principalmente l'apparato gastrointestinale e respiratorio.
- La diagnosi viene posta in caso di positività del test del sudore o dell'identificazione di 2 mutazioni causanti la fibrosi cistica in pazienti con i sintomi caratteristici o con screening neonatale positivo.
- Il trattamento è sintomatico e si basa su un approccio multidisciplinare intensivo.

ESPETTORATO IN FIBROSI CISTICA



**secrezioni mucose dense e viscosi
mancato movimento ciliare del tessuto bronchiale**



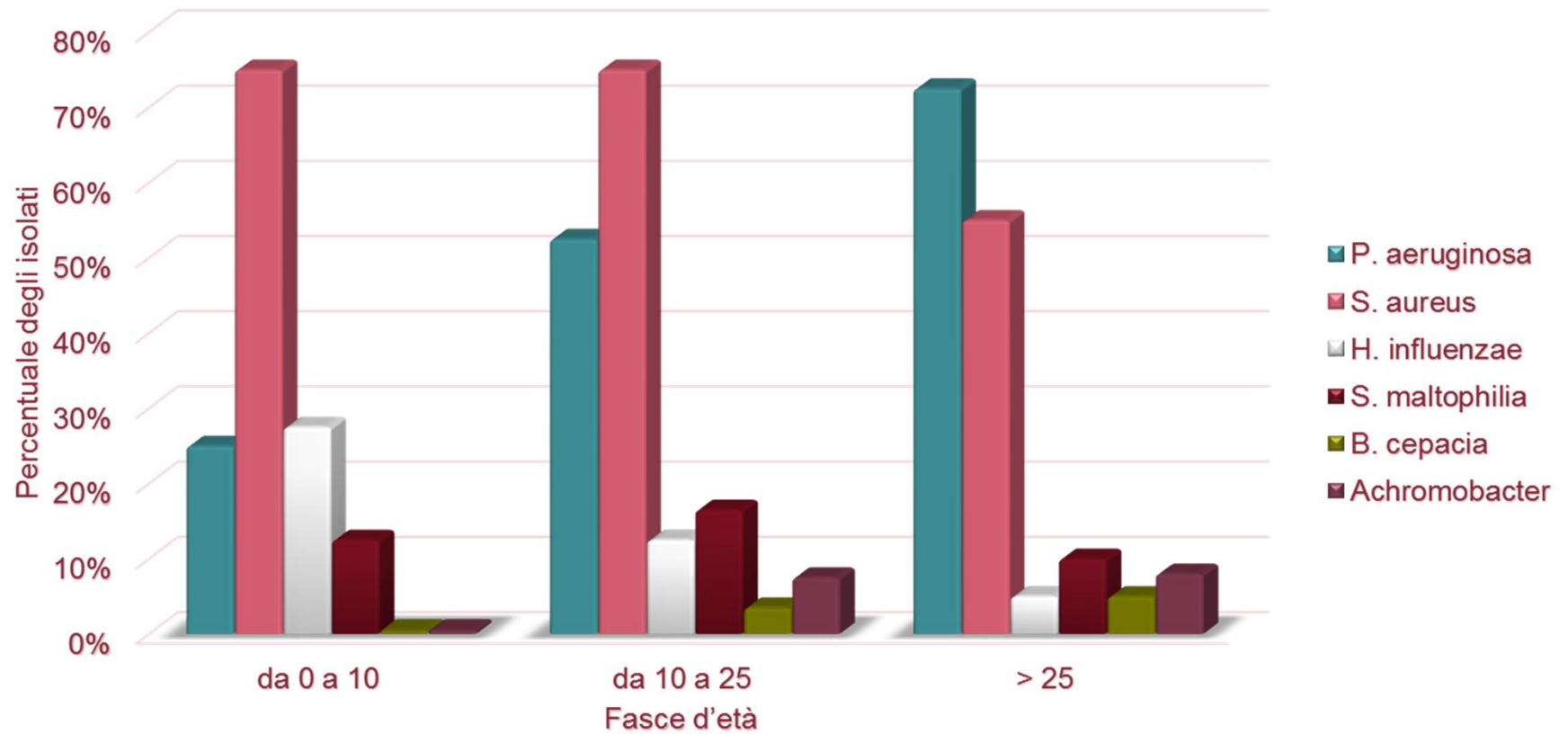
danno polmonare per ostruzione diffusa nelle vie aeree

ISOLATI BATTERICI PIÙ FREQUENTI IN FC

I polmoni della maggior parte dei pazienti con fibrosi cistica sono colonizzati da batteri patogeni quali:

- *Pseudomonas aeruginosa* viene isolato più frequentemente in adulti con infezione cronica ed è la prima causa di esacerbazione polmonare.
- *Staphylococcus aureus* è il patogeno più diffuso nell'infanzia e in adolescenza.
- *Stenotrophomonas maltophilia* è uno dei più comuni microorganismi emergenti *MDR*.
- *Burkholderia cepacia complex* *Achromobacter spp* sono patogeni emergenti associati alle infezioni croniche.

Isolati batterici



Annual Data Report 2015 *Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry, USA*

PREVALENZA DI *ACHROMOBACTER*SPP IN PAZIENTI FC

- Studi di prevalenza mostrano una grande variabilità tra i diversi centri di raccolta dati per i pazienti affetti da fibrosi cistica.
- Questi valori oscillano dal 3 al 30% in bambini e adulti.
- Questa diversità tra i vari centri dipende da molteplici fattori quali:
 - Tipo di infezione (intermittente, cronica)
 - Periodo di osservazione
 - Metodi di coltura
 - Metodi di identificazione

STUDIO DI PREVALENZA DI *ACHROMOBACTER XYLOSOXIDANS* OSSERVATA IN ITALIA DAL 1996 AL 2006

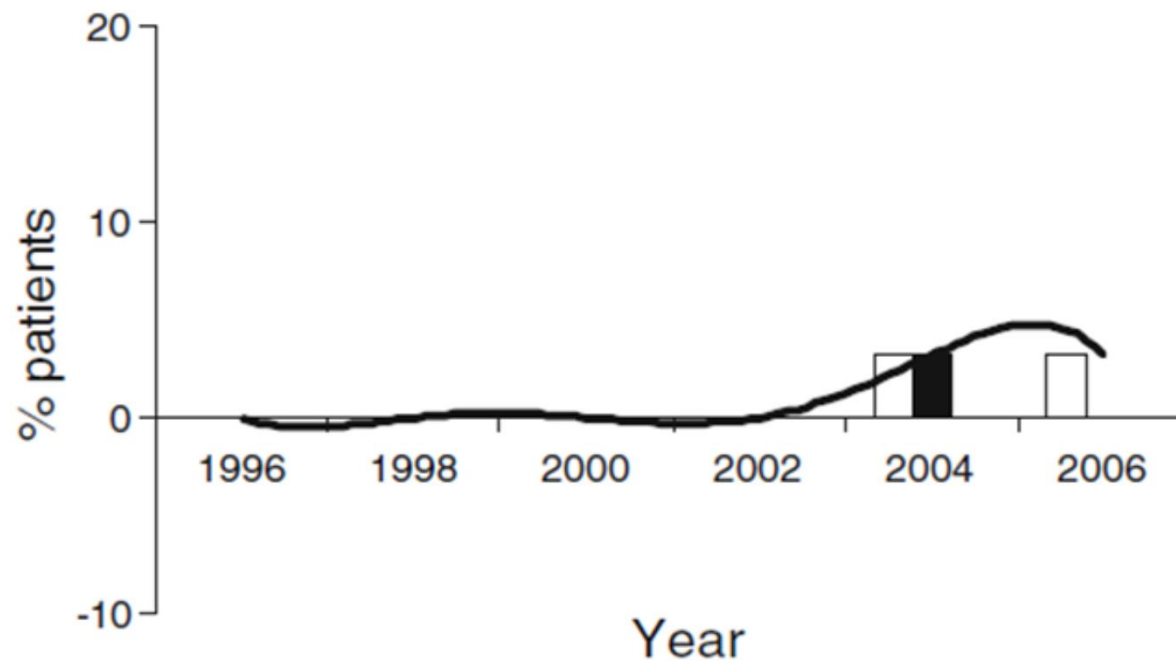
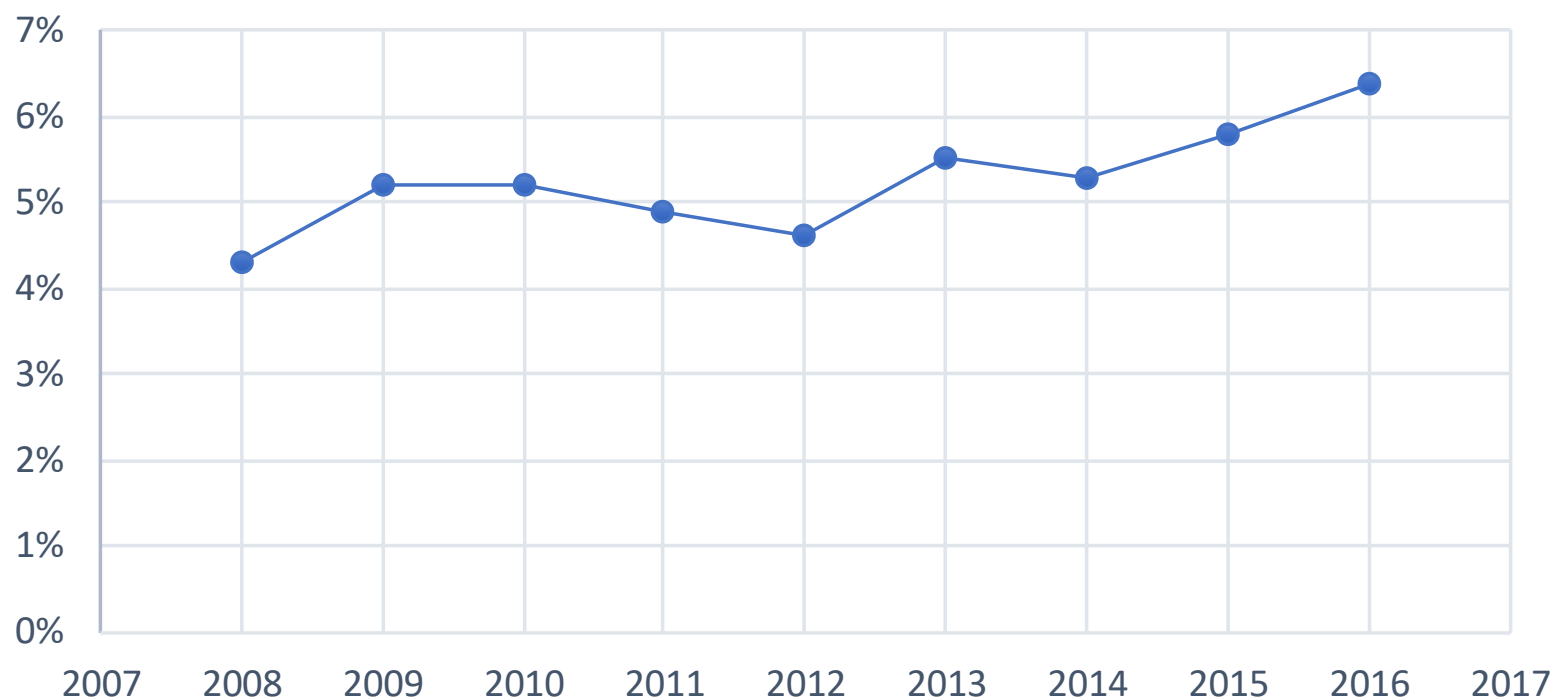


Fig. 2 Prevalence over the years of emerging bacteria in children (black bars) and adults (white bars).

**Emerging pathogens in cystic fibrosis: ten years of follow-up in a cohort of patients
L. Spicuzza & C. Sciuto & G. Vitaliti & G. Di Dio & S. Leonardi & M. La Rosa
Eur J Clin Microbiol Infect Dis (2009) 28:191–195

TREND DI PREVALENZA ISOLATI DI ACHROMOBACTER SPP



Percentuale di isolati di *Achromobacter*spp ottenuti da campioni respiratori provenienti dal Centro di Riferimento Regionale di Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico Umberto I.

FATTORI DI VIRULENZA DI *ACHROMOBACTER* SPP

- **PRODUZIONE DI BIOFILM**
- **MOTILITÀ**
- **CAPACITÀ DI ADESIONE (FIBRONECTINA)**

PROBLEMATICHE PIÙ FREQUENTI NELL'ISOLAMENTO E NELLA VALUTAZIONE DELLA SUSCETTIBILITÀ AGLI ANTIBIOTICI

- Microrganismo a crescita lenta
- Mis-identificazione con altri batteri gram negativi non fermentanti e ossidasi positivi
- Antibiotico resistenza
- Mancanza di valori breakpoint per EUCAST e CLSI

ACHROMOBACTER SPP

LA CRESCITA OTTIMALE AVVIENE SU TERRENI SELETTIVI E NON QUALI:

- **AGAR SANGUE DI MONTONE**
- **McCONKEY AGAR**
- **BCSA (*Burkholderia cepacia* Selective Agar)**

IDENTIFICAZIONE

- **API 20NE/VITEK2**
- **MALDI-TOF**
- **SEQUENZIAMENTO 16S rRNA**
- **SISTEMA MLST (multi-locus sequence typing)**

SPECIE DI *ACHROMOBACTER*

<i>Achromobacter</i>	<i>aegrifaciens</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>animicus</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>anxifer</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>denitrificans</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>dolens</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>insolitus</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>insuavis</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>marplatensis</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>mucicolens</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>piechaudii</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>pulmonis</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>ruhlandii</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>spanius</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>spiritinus</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>xylosoxidans</i>

Achromobacter xylosoxidans e *Achromobacter ruhlandii* sono i più comunemente osservati nei pazienti affetti da fibrosi cistica, come riportato da diversi lavori...


Nel nostro studio le specie maggiormente rinvenute sono:

- 80% *A. xylosoxidans*
- 15% *A. spanius*
- 3% *A. ruhlandii*
- 2% *A. insolitus*

MECCANISMI DI RESISTENZA ANTIBIOTICA

- **RESISTENZE INTRINSECHE**
- **AUMENTATA IMPERMEABILITÀ DI MEMBRANA**
- **AUMENTATA PRODUZIONE DI POMPE DI EFFLUSSO**
- **PRODUZIONE DI BETA-LATTAMASI**
- **MUTAZIONE DEI TARGET DI AZIONE DEGLI ANTIBIOTICI**

ANTIBIOTICO RESISTENZA



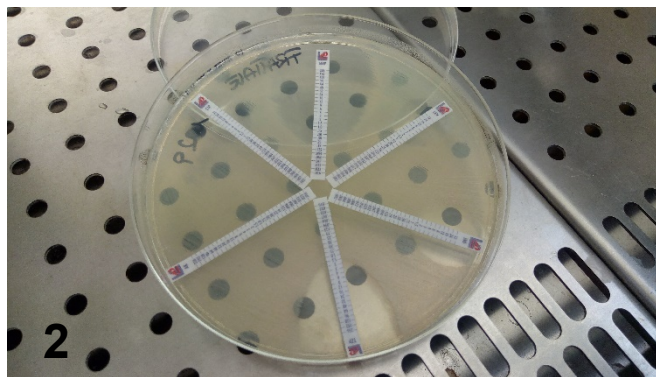
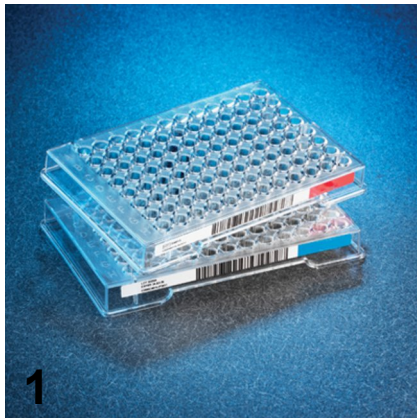
Organism	Category	Resistance mechanism	Antimicrobial affected
<i>A. xylosoxidans</i>	β-lactamases	Intrinsic OXA ₁₁₄ , OXA ₂₄₃ , and OXA ₂ ; Cephalosporinase, <i>bla_{ampC}</i> ; Acquired carbapenemases (<i>bla_{IMP}</i>)	β-lactams
	Efflux systems	RNA-type multidrug efflux pumps; AxyABM and AxyXY-OprZ	Decreased MICs of cephalosporins (except cefepime), aztreonam, fluoroquinolones, chloramphenicol. In-nate aminoglycoside resistance and extrudes cefepime, carbapenems, some fluoroquinolones, tetracyclines, and erythromycin
	Enzymatic modification	Aminoglycoside modifying enzymes, AAC(6')-Ib and aadA1	Aminoglycosides

Abbreviations: ESBL, extended spectrum β-lactamase; MBL, metallo β-lactamase; RND, resistance nodulation division; TMP-SMX, trimethoprim-sulfamethoxazole.

* *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine* Vol. 36 No. 1/2015

METODICHE DI VALUTAZIONE DELLA SUSCETTIBILITÀ AGLI ANTIBIOTICI

1. MICRODILUIZIONE (SENSITITRE/MICROSCAN)
2. MIC STRIP TEST SU MULLER HINTON AGAR
3. METODO DI DIFFUSIONE IN AGAR



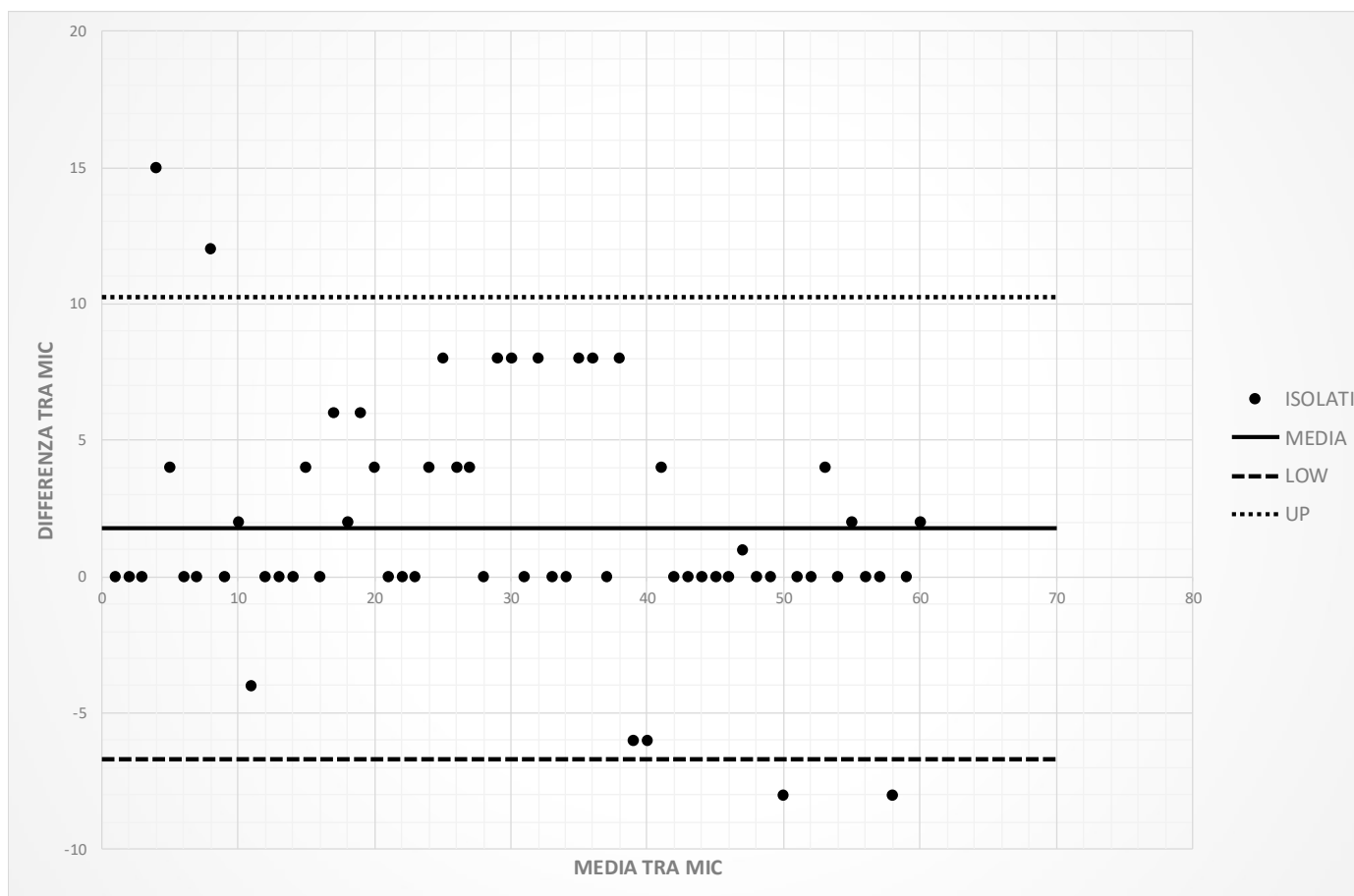
MATERIALI E METODI

- 40 ceppi di *Achromobacterspp.* isolati da campioni respiratori di 18 pazienti afferenti al Centro Regionale di Riferimento del A.O.U.Policlinico Umberto I di Roma
- 20 ceppi di *Achromobacterspp.* isolati da campioni respiratori di 12 pazienti afferenti all'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù

MATERIALI E METODI

- ID con MALDI-TOF (Bruker)
- ANTIBIOGRAMMA con metodo MIC STRIP TEST (Liofilchem) su MHE
- ANTIBIOGRAMMA con metodica automatizzata in microdiluizione MICROSCAN (Beckman)

GRAFICO DI BLAND-ALTMAN (esempio per Cefprozil)

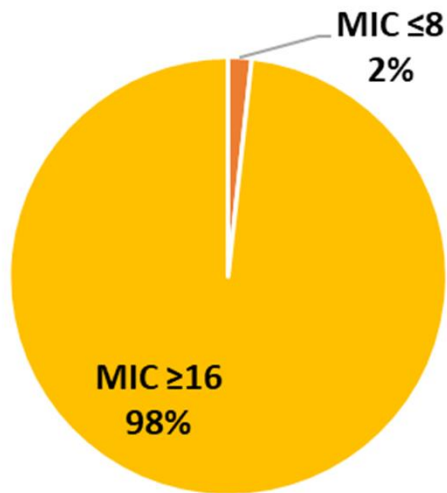


ANTIBIOTICI A CONFRONTO CON LE DUE METODICHE

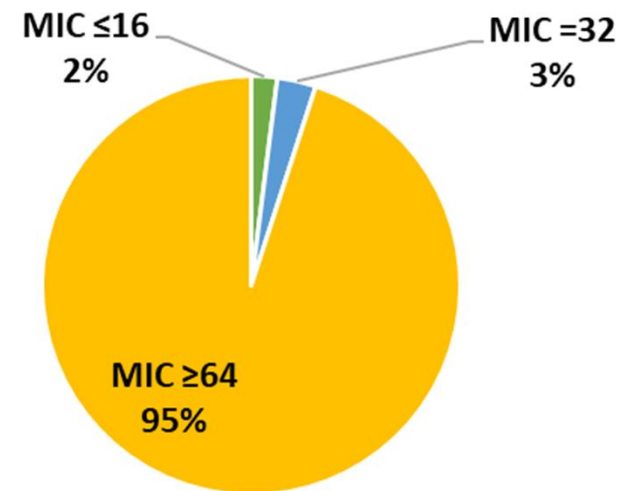
- **PIPERACILLINA/TAZOBACTAM**
- **IMIPENEM**
- **MEROPENEM**
- **LEVOFLOXACINA**
- **CIPROFLOXACINA**
- **CEFTAZIDIME**
- **AMIKACINA**
- **COTRIMOSSAZOLO**

AMIKACINA

EUCAST per Pseudomonas*



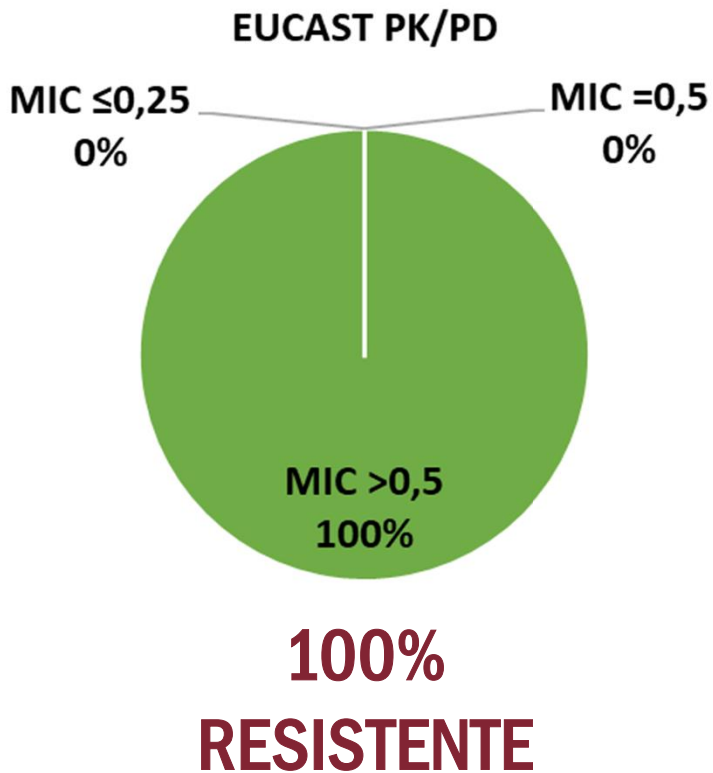
CLSI for other Non-Enterobacteriaceae



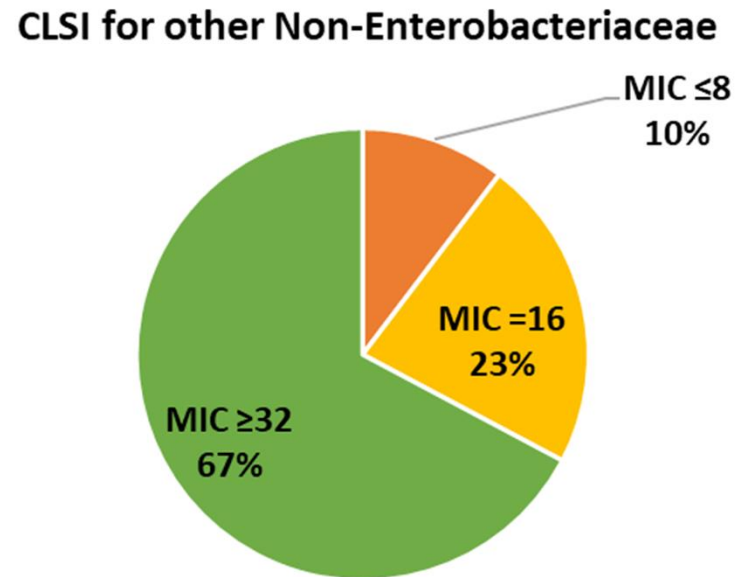
98% Vs 95%
RESISTENTE

* EUCAST NON FORNISCE VALORI DI BREAKPOINT PER L'AMIKACINA IN PK/PD (IE)

CIPROFLOXACINA



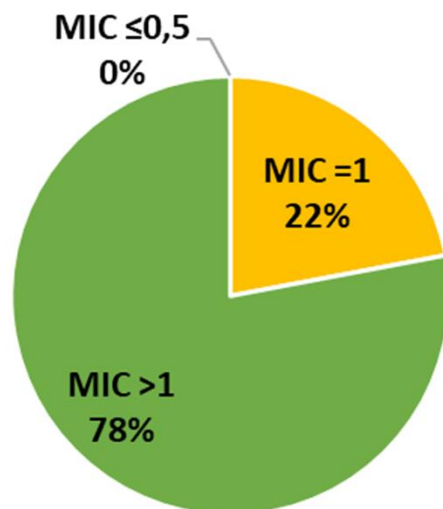
**10%
SENSIBILE**



**CLSI usa una MIC di breakpoint 32 volte più elevata
di EUCAST!!**

LEVOFLOXACINA

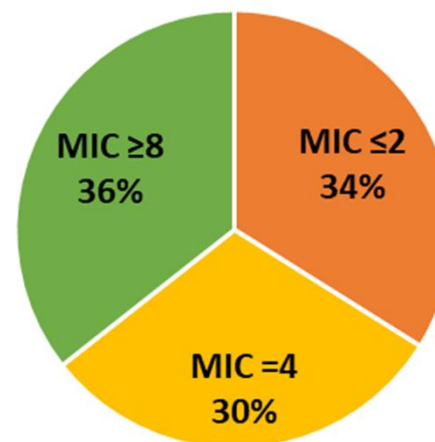
EUCAST PK/PD



100% I/R

0% è S!

CLSI for other Non-Enterobacteriaceae



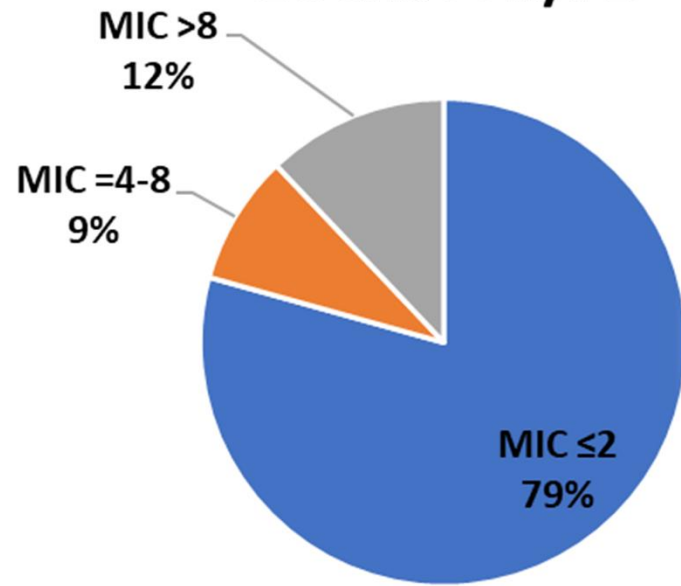
66% I/R

34% è S!

Elevata differenza nella MIC di breakpoint!!

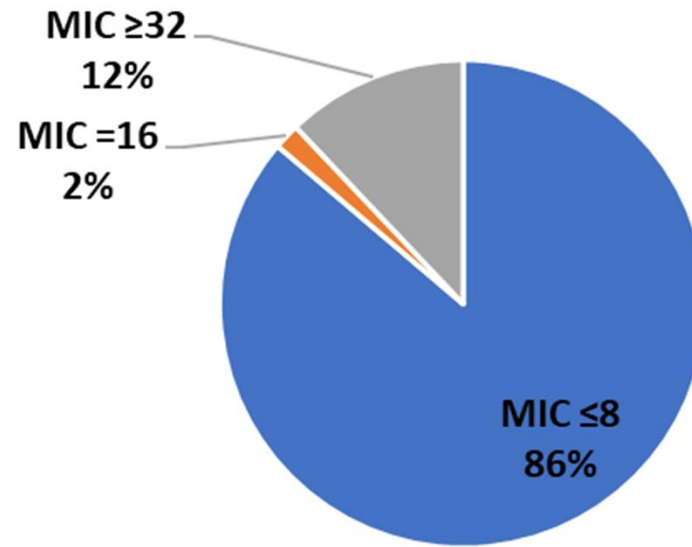
IMIPENEM

EUCAST PK/PD



79% S

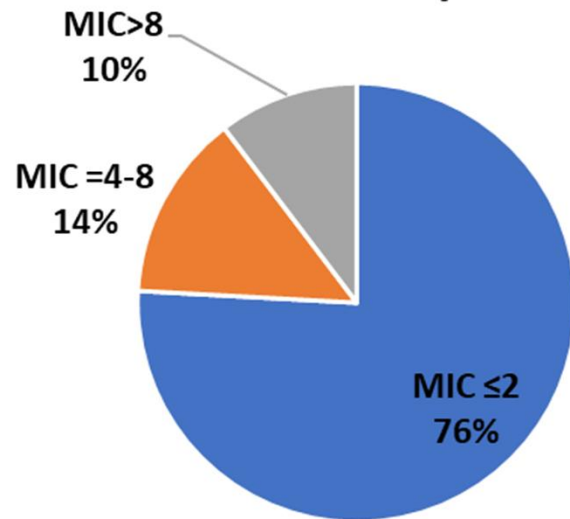
CLSI for other Non-Enterobacteriaceae



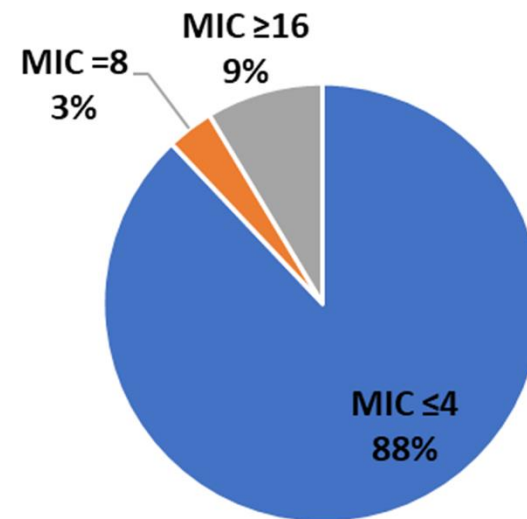
86% S

MEROPENEM

EUCAST PK/PD



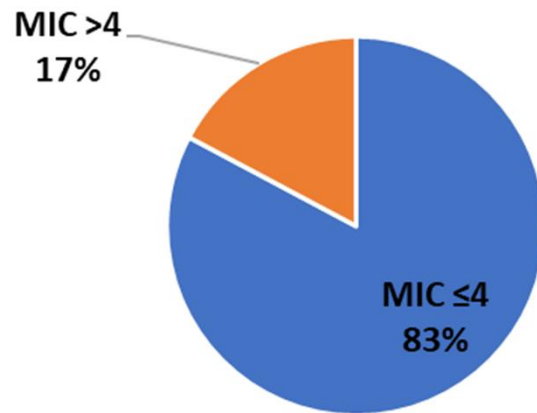
CLSI for other Non-Enterobacteriaceae



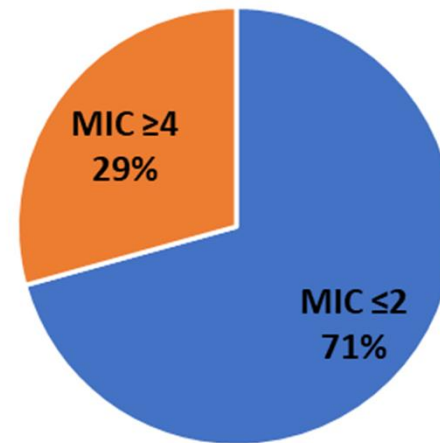
76% Vs 88%
SENSIBLE

COTRIMOSSAZOLO

EUCAST per *Stenotrophomonas maltophilia**



CLSI for other Non-Enterobacteriaceae

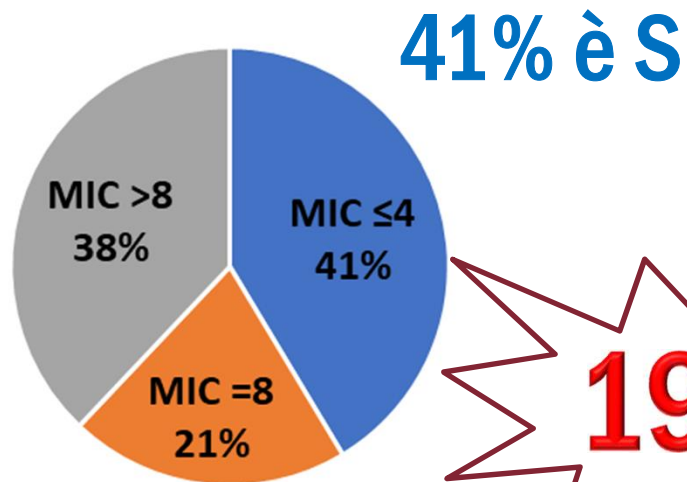


83% Vs 71%
SENSIBILITÀ

* EUCAST NON FORNISCE VALORI DI BREAKPOINT PER COTRIMOSSAZOLO IN PK/PD (IE)

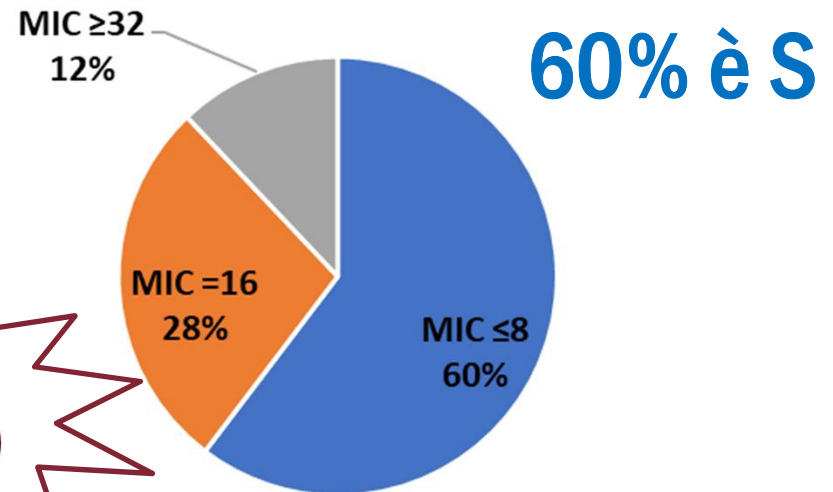
CEFTAZIDIME

EUCAST PK/PD



59% è I/R

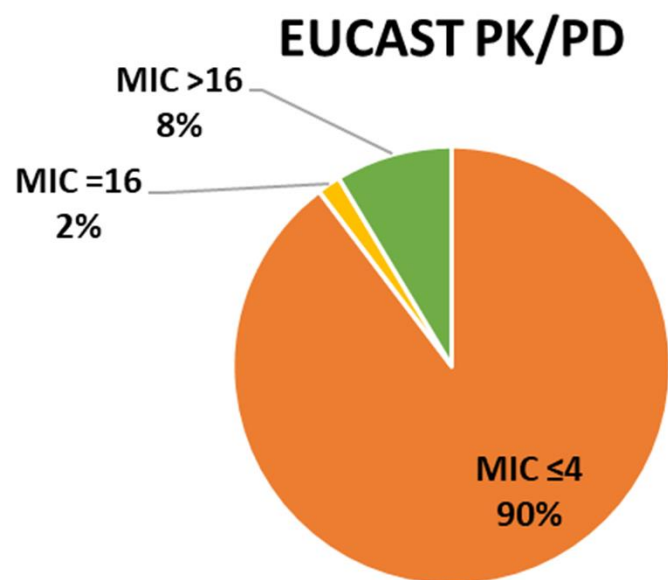
CLSI for other Non-Enterobacteriaceae



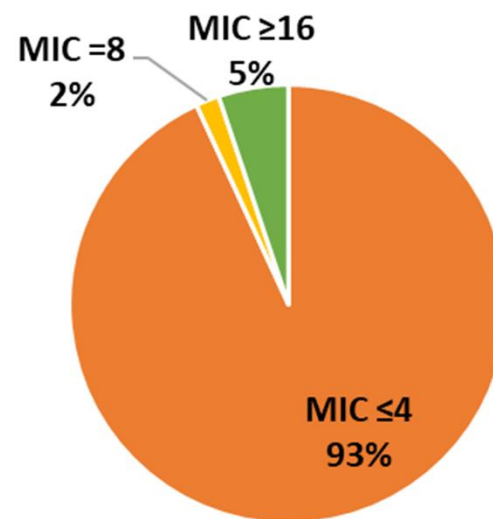
40% è I/R

19%

PIPERACILLINA/TAZOBACTAM



CLSI for other Non-Enterobacteriaceae



90%

**ANTIBIOTICO CON PIÙ ALTA
PERCENTUALE DI
SENSIBILITÀ!**

93%

DISCUSSIONI DEI RISULTATI

- **Correlazione positiva, indice di Pearson con p-value $<0,001$ (da studio di regressione lineare)**
- **Piperacillina/tazobactam ha la più alta percentuale di sensibilità tra gli antibiotici testati**
- **Valutazione dei breakpoint tra EUCAST e CLSI per i FLUOROCHINOLONI, quale usare?**

TRATTAMENTO

Organism	First line	Second line	Combination	Alternative combination
<i>A. xylosoxidans</i>	Piperacillin–tazobactam Meropenem Trimethoprim–sulfamethoxazole	Ceftazidime Minocycline Colistin Chloramphenicol	Meropenem PLUS Ciprofloxacin/ levofloxacin ^d	Meropenem PLUS Minocycline, or levofloxacin ^d PLUS Chloramphenicol PLUS Colistin (inhaled ^c)

^cInhaled antibiotics have been recommended primarily in pulmonary exacerbations of CF.

^dUse of newer fluoroquinolones are preferred when used in combination, in preference to ciprofloxacin, given the greater invitro activity,¹³ although intrinsic resistance and poor activity is widely reported across the class.⁷⁰

RINGRAZIAMENTI

- M.Trancassini
- A.Bressan
- F.Febbraro

UOC di Microbiologia e Virologia A.O.U.
Umberto I di Roma
Prof. Guido Antonelli

- E.Fiscarelli

Ospedale Pediatrico Bambino Gesù