Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

Workshop Annuale del CRN-AR e NRL-AR
20 novembre 2026
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Agenti patogeni negli animali: principi generali, informazioni utili ed esempi pratici nel processo di armonizzazione delle metodiche per i test di sensibilità agli antibiotici

Virginia Carfora, DVM, PhD
UOS Anatomia, Istopatologia, Batteriologia, e Micologia, NRL-AR e CRN-AR
UOC Patologia Animale e Sanità Pubblica
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana "M. Aleandri"





CRN-AR (D.M. 8-5-2002, G. U. 22 maggio 2002, n. 118)

- ✓ Nell'ambito dei propri compiti istituzionali, nonché in conformità con gli obiettivi del PNCAR 2022-2025 (prorogato al 31 dicembre 2026) e sulla base dei piani d'azione dell'UE e delle specifiche indicazioni del Ministero della Salute, il CRN-AR, IZSLT ha il compito di coordinare la rete degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IIZZSS) per l'armonizzazione dei metodi di test di sensibilità agli antimicrobici (AST) dei patogeni batterici di origine animale

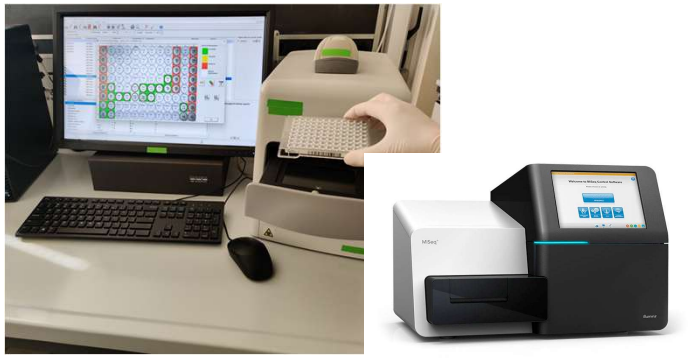
- ✓ L'obiettivo, è quello di poter rendere un servizio sempre più accurato da parte degli IIZZSS e che consenta l'utilizzo dei referti degli AST nella pratica clinica da parte dei veterinari pratici in un modo sempre più consapevole, nel rispetto dei principi dell'uso prudente



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



- **Armonizzazione di metodi AST:** Implementazione e condivisione di metodologie e strumenti (es. procedure accreditate per Disk Diffusion e Microdiluizione in brodo nel Network degli IIZZSS) per agenti patogeni animali.



- **Laboratorio di secondo livello:**, analisi di conferma fenotipiche e genotipiche, caratterizzazione profonda di isolati batterici (agenti zoonotici o patogeni animali) con fenotipi AMR di interesse, profili di resistenza eccezionali, rari o mai segnalati.



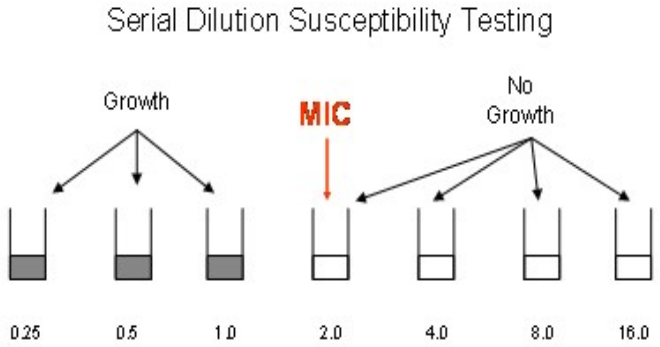
MOD 016 del 23/03/2026

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

UOC Patologia Animale e Sanità Pubblica
UOS Anatomo Istopatologia Batteriologia e Micologia

POS BAT 006 NOR rev 0

TEST DI SENSIBILITÀ AI CHEMIOANTIBIOTICI (MICRODILUIZIONE IN BRODO)



MOD 016 del 24/08/2022

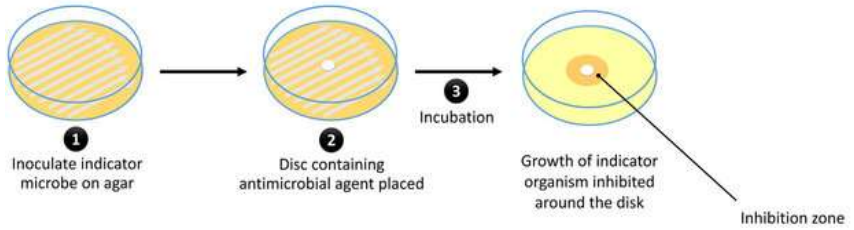
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

UNITÀ OPERATIVA COMPLESSA DIAGNOSTICA GENERALE

POS DIG 010 NOR rev. 9
SENSIBILITÁ AI CHEMIOANTIBIOTICI: AMPICILLINA, PENICILLINA, AMOXICILLINA/ACIDO CLAVULANICO, CEFAZOLINA, CEFOTAXIME, CEFTIOFUR, CEFTAZIDIME, OXACILLINA, CEFOXITINA, GENTAMICINA, SPECTINOMICINA, CEFPODOXIME, KANAMICINA, AMIKACINA, ERITROMICINA, TILMICOSINA, TULATROMICINA, CLINDAMICINA, PIRLIMICINA, TETRACICLINA, SULFAMETOXAZOLO/TRIMETHOPRIM, ENROFLOXACINA, FLORFENICOLO, CLORAMFENICOLO, TIAMULINA, RIFAMPICINA, TILDIPIROSINA, DOXICICLINA LINEZOLID ,MEROPENEM (DIFFUSIONE IN AGAR)

pag. 1 di 14

Disk diffusion assay



Hossain 2024; 10.1556/1886.2024.00035



POS BAT 006 NOR
exPOS DIG 006 NOR

8.1 Preparazione dell'inoculo

La preparazione dell'inoculo è una fase delicata, la sua standardizzazione è essenziale affinché la prova di sensibilità ai chemioantibiotici secondo micro-diluizione in brodo sia accurata e riproducibile.

I controlli di purezza e la conta delle colonie della sospensione di inoculo, per questo motivo sono eseguiti su ogni isolato testato.

8.5 *Lettura della prova*

La lettura deve essere eseguita quando siano stati rispettati i tempi di incubazione, e comunque quando:

a. i pozzetti delle piastre contenenti i controlli di crescita mostrano una crescita sufficiente del microrganismo testato;

b. quando non c'è crescita nel pozzetto contenente il controllo negativo di crescita, se presente.

Gli esiti della prova sono considerati validi se il controllo di purezza e la conta delle colonie avranno dato esito favorevole.

La crescita in ogni pozzetto deve essere comparata con quella nel controllo positivo.

In generale la lettura delle piastre può essere effettuata utilizzando un sistema di lettura semi-automatico o automatico, o utilizzando un sistema manuale con l'impiego di uno specchietto per lettura delle piastre a 96 pozzetti.

La MIC registrata sarà la più bassa concentrazione del chemioantibiotico che inibisce completamente la crescita visibile.

Di seguito una guida schematica per la lettura dei pozzetti proposta dall'EURL-AR:

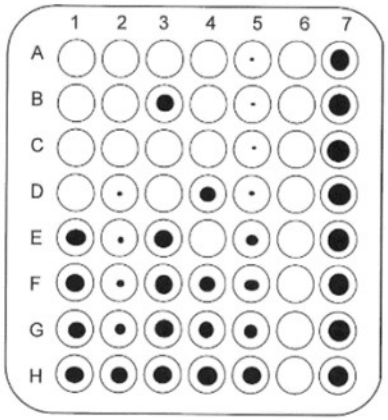


EUCAST, 2024

Figure 1: Schematic guidance for MIC reading

Column	Pattern observed	Interpretation
1	Typical pattern	MIC is well D
2	Fading end point	MIC is well C
3	Single well contamination	MIC is well D
4	Skip	MIC is well C
5	Typical pattern for trimethoprim and sulphonamides	MIC is well D
6	No growth at all in the test range	MIC is smaller than or equal to the lowest concentration (e.g. MIC ≤ 1 µg/mL)
7	Growth in all wells	MIC is greater than the highest concentration (e.g. MIC > 512 µg/ml)

● = Growth



A. Franco 2022-2024+
update 2026



Conta delle colonie vitali per la verifica delle UFC/ml e della purezza.

Allo scopo prelevare un'ansata di **1 µl** della sospensione di inoculo e distribuire per striscio continuo su una piastra di agar sangue incubare overnight a (35°C±2)°C.

Per una sospensione con concentrazione accettabile per il test, ci si attende di osservare la crescita secondo le Tabella 1. Se questa condizione non si verifica, il risultato per l'isolato in esame non può essere utilizzato.

Tabella 1: Stima della concentrazione della sospensione di inoculo in rapporto al range di colonie coltivabili su piastra

Conta colonie	Piastra inoculata con 1 µl	Piastra inoculata con 1/50 µl
<5*10^4	<50 colonie	0 colonie (No crescita)
5*10^4	50-100 colonie	0 - 2 colonie
1*10^5 - 5*10^5	>100 colonie	≤10 colonie
>5*10^5	>100 colonie	>10 colonie

È necessario assicurare che i pozzetti contengano approssimativamente:

1X105 UFC/ml (range $5X10^4$ UFC/ml – $5X10^5$ UFC/ml)



A. Franco 2022-2024+
update 2026

CLSI VET01, 6th ed
CLSI, M07, 12th ed
CLSI, M02, 14th ed

8.6 Acceptable Quality Control Ranges

8.6.1 Zone Diameter Quality Control Ranges

Acceptable zone diameter QC ranges are listed in CLSI VET01S[1] Tables 4A, 4B, and 4C. These ranges were developed following specific protocols outlined in CLSI VET02[6] or CLSI M23.[22]

8.6.2 Minimal Inhibitory Concentration Quality Control Ranges

Acceptable MIC QC ranges are listed in CLSI VET01S[1] Tables 5A through 5E. These ranges were developed following specific protocols outlined in CLSI VET02[6] or CLSI M23.[22]

8.7 Quality Control Testing Frequency (also refer to Appendix G and CLSI VET01S[1] Tables 4D and 5F)

Appropriate QC strains should be tested on each day the test is performed on patient isolates. Alternatively, one of the two plans can be adopted to demonstrate acceptable performance to reduce the frequency of disk diffusion and/or MIC QC tests to weekly. Either plan allows weekly QC testing once satisfactory performance with daily testing of QC strains is documented (see Subchapter 8.7.2). The weekly QC testing options are not applicable when disk diffusion or MIC tests are performed less than once a week.

8.7.1 Daily Quality Control Testing

A laboratory can perform QC testing daily. Daily (vs weekly) QC testing must be performed on each day patient isolates are tested if disk diffusion or MIC tests are performed less than once a week. Daily QC testing or testing on consecutive test days means testing QC strains on each day disk diffusion or MIC tests are performed on patient isolates. It does not refer to calendar days.

8.7.2 Performance Criteria for Reducing Quality Control Frequency to Weekly

Two plans are available to demonstrate satisfactory performance with daily QC testing before going to weekly QC testing:

- The 20- or 30-day plan
- The 15-replicate (3- × 5-day) plan

8.7.2.1 The 20- or 30-Day Plan

When implementing the 20- or 30-day plan:

- All applicable QC strains are tested for 20 or 30 consecutive test days, and results are documented.
- Recommended actions as described in Appendix G, section G1 should be followed.
- If no more than one of 20 or three of 30 zone diameter measurements or MIC results for each antimicrobial agent and organism combination are outside the acceptable zone diameter or MIC QC ranges listed in CLSI VET01S[1] Tables 4A and 4B and 5A through 5D, it is acceptable to go to weekly QC testing.
- If completion of the 20- or 30-day plan is unsuccessful, corrective action should be taken as appropriate and daily QC testing continued.
- If a laboratory routinely tests QC strains on each day of use and wishes to convert to a weekly QC plan, it is acceptable to retrospectively analyze QC data from consecutive tests available during the previous two years, providing no aspects of the test system have changed.



20-30 Repliche: per verificare la ripetibilità ed eventualmente la riproducibilità del metodo (se la prova è eseguita da più operatori)

8.8 Controlli di Qualità

Al fine di poter applicare correttamente i Controlli di Qualità si deve eseguire in maniera preliminare, la fase di validazione della metodica, cosi come descritto nel paragrafo 10 "Validazione e attività correlate. Dichiarazione di validazione". **Se la fase di validazione ha dato esito soddisfacente ovvero, la proporzione dei valori ottenuti che ricadono all'interno del range accettabile è ≥90%, si potranno eseguire i Controllo di Qualità** scegliendo tra le seguenti modalità:

-una volta ogni settimana, se si testano isolati almeno una volta la settimana;
-ogni giorno in cui si effettuano sedute di prova.

A. Franco 2022-2024+
update 2026



Table 5A. MIC QC Ranges for Nonfastidious Organisms

Antimicrobial Agent	MIC QC Ranges, µg/mL			
	Staphylococcus aureus ATCC® 29213	*Enterococcus faecalis* ATCC® 29212	*Escherichia coli* ATCC® 25922	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853
Amikacin	1-4	64-256	0.5-4	1-4
Amoxicillin-clavulanate[b]	0.12/0.06-0.5/0.25	0.25/0.12-1/0.5	2/1-8/4	-
Ampicillin	0.5-2	0.5-2	2-8	-
Apramycin	2-8	-	2-16	2-16
Avilamycin	-	0.5-2		
Cefazolin	0.25-1	-		
Cefoperazone	1-4	-	0.	
Cefoxitin	1-4	-		
Cefovecin	0.5-2	-		
Cefpodoxime	1-8	-		
Ceftazidime	4-16	-	0.	
Ceftiofur	0.25-1	-		
Cephalexin	1-8	-		
Cephalothin	0.12-0.5	-		
Chloramphenicol	2-16	4-16		
Clindamycin[c]	0.06-0.25	4-16		
Danofloxacin	0.06-0.25	0.25-1	0.0	
Difloxacin	0.06-0.5	1-4	0.0	
Doxycycline	0.12-0.5	2-8		
Enrofloxacin	0.03-0.12	0.12-1	0.0	
Erythromycin[c]	0.25-1	1-4		
Florfenicol	2-8	2-8		
Gamithromycin	0.5-4	4-32		
Gentamicin[d]	0.12-1	4-16		
Imipenem	0.015-0.06	0.5-2	0.	
Kanamycin	1-4	16-64		
Kanamycin-cephalexin	1/0.1-4/0.4	-	2/0	
Levofloxacin	0.06-0.5	0.25-2	0.0	
Marbofloxacin	0.12-0.5	0.5-2	0.0	
Meropenem	0.03-0.12	2-8	0.0	
Minocycline	0.06-0.5	1-4		
Monensin	2-16	4-16		
Narasin	0.25-2	0.25-1		
Orbifloxacin	0.25-2	1-8	0.0	
Oxacillin	0.12-0.5	8-32		
Penicillin	0.25-2	1-4		
Penicillin-novobiocin	0.015/0.03-0.06/0.12	0.25/0.5-2/4		
Piperacillin	1-4	1-4		
Piperacillin-tazobactam[b]	0.25/4-2/4	1/4-4/4	1	
Pirlimycin	0.25-1	2-8		
Pradofloxacin	0.03-0.12	0.12-0.5	0.0	
Rifampin	0.004-0.015	0.5-4		
Spectinomycin	64-256	64-256		
Sulfisoxazole[e]	32-128	32-128		
Tetracycline	0.12-1	8-32		
Tiamulin	0.5-2	-	-	-
Tildipirosin	2-16	-	1-8	-
Tilmicosin	1-4	8-32	-	-

CLSI VET01S, 7th ed
CLSI M100 Ed36

Table 5A-1. MIC QC Ranges for Nonfastidious Organisms and Antimicrobial Agents Excluding β-Lactam Combination Agents[a]

Antimicrobial Agent	MIC QC Ranges, µg/mL			
	Escherichia coli ATCC® 25922	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853	*Staphylococcus aureus* ATCC® 29213	*Enterococcus faecalis* ATCC® 29212
Amikacin	0.5-4	1-4	1-4	64-256
Amikacin-fosfomycin (5:2)[c]	0.25/0.1-2/0.8	1/0.4-8/3.2	0.5/0.2-4/1.6	32/12.8-128/51.2
Amoxicillin	–	–	–	–
Ampicillin	2-8	–	0.5-2	0.5-2
Azithromycin	–	–	0.5-2	–
Azlocillin	8-32	2-8	2-8	1-4
Aztreonam	0.06-0.5	2-8	–	–
Besifloxacin	0.06-0.25	1-4	0.016-0.06	0.06-0.25
Biapenem	0.03-0.12	0.5-2	0.03-0.12	–
Cadazolid	–	–	0.06-0.5	0.06-0.25
Carbenicillin	4-16	16-64	2-8	16-64
Cefaclor	1-4	–	1-4	–
Cefamandole	0.25-1	–	0.25-1	–
Cefazolin	1-4	–	0.25-1	–
Cefdinir	0.12-0.5	–	0.12-0.5	–
Cefditoren	0.12-1	–	0.25-2	–
Cefepime	0.016-0.12	0.5-4	1-4	–
Cefetamet	0.25-1	–	–	–
Cefiderocol[d,e]	0.06-0.5	0.06-0.5	–	–
Cefixime	0.25-1	–	8-32	–
Cefmetazole	0.25-1	> 32	0.5-2	–
Cefonicid	0.25-1	–	1-4	–
Cefoperazone	0.12-0.5	2-8	1-4	–
Cefotaxime	0.03-0.12	8-32	1-4	–
Cefotetan	0.06-0.25	–	4-16	–
Cefoxitin[f]	2-8	–	1-4	–
Cefpodoxime	0.25-1	–	1-8	–

MIC QC ranges tables



Designing the MIC plates…**CRITERI GENERALI PER LA SCELTA DELLE MOLECOLE DA INCLUDERE NELLE PLATES MIC per uso diagnostico:**



1) **Includere molecole per cui sono disponibili CBs specifici** (quando presenti, CBs per specifiche combinazioni specie animali/malattia) nei documenti di riferimento internazionali per le diverse combinazioni patogeno/molecola (es. **in mancanza di CBs/(T)ECOFFs disponibili non e' possibile includere una o piu' molecole**).

2) **Concetto delle molecole prototipo**

3) **Stabilità e maneggevolezza delle molecole da includere.** Non possono essere incluse tutte le molecole utilizzate nella pratica clinica (vedi anche indicazioni specifiche di alcuni produttori di plates sull'impossibilita' di inserire alcune molecole, es. tiamfenicolo)

4) **Includere tutte le diluizioni utili per valutare la sensibilità/resistenza secondo gli standard considerati**, cioè intervalli di diluizioni più limitato, per scopi diagnostici (quindi solo i pozzetti diluizioni realmente necessari)

5) **Principi dell'uso prudente degli antibiotici nella pratica clinica**



Designing the MIC plates..



- ✓ concetto di **"molecole prototipo":** già noto e presente da molti anni nelle pagine tematiche NRL-AR e CRN-AR. **Ovvero utilizzare nelle plates, ogni volta che è possibile, una molecola rappresentativa di una determinata classe o sottoclasse antimicrobica per i test *in vitro* (in relazione alle basi genetiche della resistenza antimicrobica)**

- ✓ **Quando possibile, queste molecole prototipo sono rilevanti anche in termini di utilizzo nella pratica clinica per le specie animali coinvolte**, es:

  - la benzilpenicillina rappresenta una molecola prototipo per testare la sensibilità alle penicilline e alle aminopenicilline naturali in diversi taxa
  - l'enrofloxacina rappresenta una molecola prototipo per testare sensibilità ai fluorochinoloni

- ✓ Oltre a ciò, per alcune combinazioni di classi antimicrobiche/specie batteriche **la scelta di un determinato prototipo si basa anche sui principi dell'uso prudente degli antimicrobici nella pratica clinica**: es. la scelta della benzilpenicillina può essere un approccio più prudente rispetto alla scelta di un'aminopenicillina (ad esempio per agenti patogeni veterinari come coccaceae o Pasteurellaceae ecc.)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Designing the MIC plates…



Utilizzare una sorta di "cascata" per decidere quali standard di breakpoint clinici considerare nell'ordine di priorità:

Primo: CLSI Vet standard >**VET01S Ed.7 or VET06 Ed.1** **(per alcuni agenti patogeni veterinari "fastidious")**

Secondo: CLSI Human Derived breakpoints in base a quanto proposto dal CLSI Vet Standard: **CLSI M100 S36**

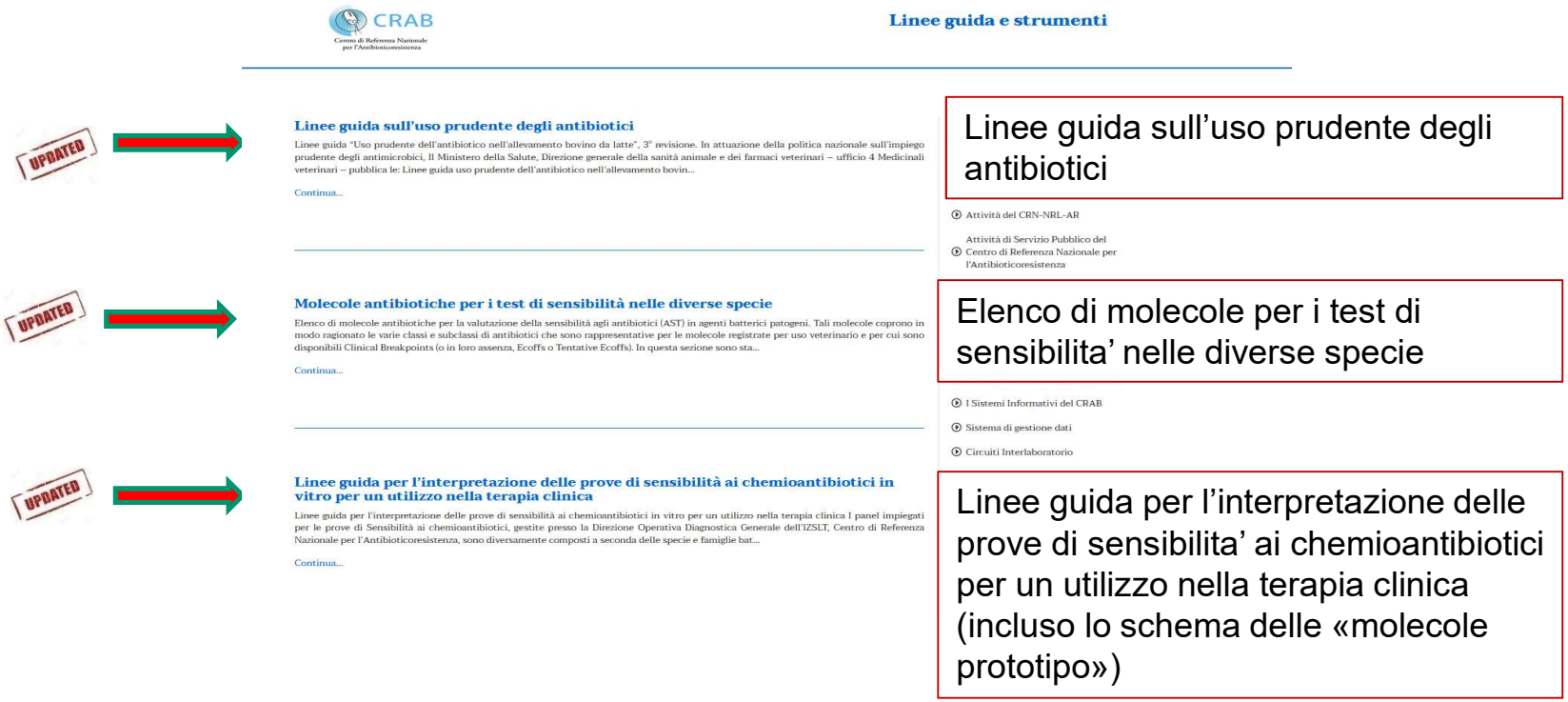
Terzo: Standard Francese > **CASFM-VET 2023**.

In alcuni casi, in mancanza di CBs di qualsiasi standard, sono stati utilizzati provvisoriamente ECOFFs o ECOFFs provvisori (tentative ECOFFs) EUCAST.



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

crab.izslt.it/linee-guida-e-strumenti.html



Linee guida sull'uso prudente degli antibiotici

Elenco di molecole per i test di sensibilita' nelle diverse specie

Linee guida per l'interpretazione delle prove di sensibilita' ai chemioantibiotici per un utilizzo nella terapia clinica (incluso lo schema delle «molecole prototipo»)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

LINEE GUIDA

Linee Guida su Buone Pratiche di Gestione Sanitaria e USO PRUDENTE ANTIBIOTICI









Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

UPDATED 2026

Molecole prototipo e loro equivalenti in vitro

Molecole prototipo e loro equivalenti in vitro rev 8 2026 -26/10/2026

CRAB

CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER L'ANTIBIOTICORESISTENZA

LINEE GUIDA PER L'INTERPRETAZIONE DELLE PROVE DI SENSIBILITÀ AI CHEMIOANTIBIOTICI *IN VITRO* PER UN UTILIZZO NELLA TERAPIA CLINICA

I panel impiegati per le prove di Sensibilità agli antibiotici (AST), gestite presso la Direzione Operativa Diagnostica Generale dell'IZSLT, Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza, sono diversamente composti a seconda delle specie e famiglie batteriche oggetto di prova. Includono numerose molecole, alcune delle quali rappresentative di classi o subclassi di antibiotici ("class representative"), e pertanto definibili "molecole prototipo".
Le molecole prototipo, sono utilizzate per valutare la Sensibilità dell'isolato anche nei confronti delle molecole rappresentate. La composizione di panel che comprendano almeno tali "molecole prototipo" consente di saggiare, con un numero ragionevole di test in vitro per isolato batterico, un range di classi e subclassi di molecole adeguato allo scopo del servizio diagnostico, ed in funzione della terapia. Nella Tabella seguente è compreso un elenco delle molecole prototipo e delle relative molecole rappresentate.

MOLECOLA PROTOTIPO	MOLECOLE RAPPRESENTATE DAL PROTOTIPO
Penicillina G (benzilpenicillina)[#]	Penicilline naturali: es. Penicillina G, Penicillina V (Fenossimetilpenicillina), Penetamato Aminopenicilline (Ampicillina, Amoxicillina)
Ampicillina	Ampicillina, Amoxicillina, Cefalosporine di I° generazione
Oxacillina[$]	Oxacillina, Meticillina, Cloxacillina, Nafcillina
Amoxicillina + ac. clavulanico[$]	Amoxicillina + ac. clavulanico
Cefazolina*/Cefalotina	Cefalosporine di I° generazione (orali e parenterali es. Cefaclor, Cefalessina: UTI non complicate da *E. coli*, *K. pneumonaie*, *P. mirabilis*, oppure via endomammaria/endouterina nel bovino es. Cefacetrile, Cefapirina, Cefalonio)
Ceftiofur/Cefotaxime	Cefalosporine a spettro esteso (terza e quarta generazione) es. Ceftiofur, Cefoperazone Cefovecina (cani e gatti), Cefquinome
Clindamicina	Clindamicina, Lincomicina (Pirlimicina^)
Cloramfenicolo	Cloramfenicolo, Tiamfenicolo (Amfenicoli). Se esito AST è S, l'esito è rappresentativo anche per quello di Florfenicolo**
Florfenicolo	Florfenicolo
Tetraciclina	Tetraciclina, Clortetraciclina, Doxyciclina, Minociclina, Oxytetraciclina. Se esito AST è R, esito AST per Doxiciclina potrebbe ancora essere S (*Staphylococcus spp*)***
[Doxiciclina]	Doxiciclina, Tetraciclina (vedi sopra)
Trimethoprim-Sulfametoxazolo	Sulfonamidi potenziati con Trimetoprim
Sulfissoxazolo (Sulfametoxazolo)	Tutti i Sulfonamidi
Trimetoprim	Trimetoprim
Enrofloxacina/Ciprofloxacina	Enrofloxacina, Danofloxacina, Ciprofloxacina, Marbofloxacina, Orbifloxacina, Pradofloxacina (fluorochinolonici in genere)
Acido Nalidixico	Acido Nalidixico, Flumequine (chinolonici)
Colistina	Colistina, Polimixina B
Streptomicina Kanamicina**** Gentamicina****	Streptomicina, Diidrostreptomicina Kanamicina, Neomicina (Framicetina), Paromomicina Gentamicina (Tobramicina), Apramicina
Amikacina	Amikacina
Spectinomicina	Spectinomicina (Aminociclitoli) per *Pasteurellaceae* nei ruminanti
Eritromicina*****	Macrolidi (14-15 membered): Eritromicina, Tulatromicina e Gamitromicina (solo per *Pasteurellaceae*, es. *M. haemolytica*, *P. multocida* nei ruminanti),
Tilmicosina*****	Macrolidi (16-membered): Tilmicosina, Tildipirosina (solo per *Pasteurellaceae*, es. *M. haemolytica*, *P. multocida* nei ruminanti), Spiramicina, Tilvalosina, Tilosina
Spiramicina°	Spiramicina
Rifampicina	Rifamicine (Rifampicina, Rifaximina)
Tiamulina	Tiamulina (Pleuromutiline) per *A. pleuropneumoniae* nel suino

1 di 2

[$] Linee guida per l'uso dei beta-lattamici per i test di sensibilita' agli antibiotici in *Staphylococcus spp* per scopi diagnostici

****Amminoglicosidi:** Ad oggi sono stati descritti numerosi geni che codificano resistenza a molte combinazioni differenti di amminoglicosidi. E' quindi talvolta complicato definire per questa classe molecole "prototipo" che siano trasversalmente rappresentative. Pertanto è raccomandato testare contemporaneamente più di una molecola rappresentativa di diverse subclassi (es. almeno Kanamicina e Gentamicina). Spectinomicina (aminociclitoli) può essere testata separatamente per *Pasteurellaceae* nel bovino

*****Macrolidi:** seppur non sia agevole definire per i macrolidi delle molecole che siano sempre rappresentative per le varie subclassi, a causa dell'ampia variabilità della loro struttura e attività, è necessario includere
nei panel diagnostici almeno una molecola rappresentativa per ogni subclasse: 14-15 membered (es. Eritromicina) e 16-membered (es. Tilmicosina).
[°] **Spiramicina:** può essere testata separatamente per esigenze generali o specifiche (in alcuni casi basi genetiche di resistenza specifiche)

https://crab.izslt.it/media/foto-articoli/39/varie/Molecole-prototipo-e-loro-equivalenti-in-vitro%20rev%208%202026.pdf



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Resistenze intrinseche o «expected resistance phenotypes» (EUCAST 2023)



Resistenze intrinseche in batteri di interesse veterinario

Resistenze intrinseche agli antibiotici

Esistono gruppi, famiglie o specie di batteri che risultano "naturalmente resistenti" agli antibiotici. Ciò è dovuto solitamente a presenza (o assenza) di specifici processi funzionali o caratteristiche strutturali.

Tale resistenza naturale è definita "resistenza intrinseca" (diversamente da "resistenza acquisita", dovuta appunto ad acquisizione di geni o meccanismi di resistenza presenti in altri microrganismi, o a mutazioni).

Ad esempio le specie di Klebsiella sono naturalmente resistenti all'ampicillina (aminopenicillina) grazie ad una produzione intrinseca di beta-lattamasi che inattiva l'antibiotico prima che agisca sui suoi target (peptidoglican binding protein, PBP). Oppure, le specie di Enterococcus presentano resistenza intrinseca alle cefalosporine poiché questo genere di batteri non possiede il PBP cui le cefalosporine si legano per poter agire.

Nelle tabelle "Resistenze intrinseche in batteri di interesse veterinario", si riporta una rassegna delle resistenze intrinseche in batteri di interesse veterinario (in grado di causare malattie batteriche negli animali, e malattie zoonosiche).

AVVERTENZA: tutta una serie di antibiotici, riservati ad uso umano ed a prescrizione ospedaliera nell'Uomo, non debbono essere riportati nei rapporti di prova (antibiogrammi) per isolati batterici da campioni diagnostici animali.

Inoltre, in molti casi, come si evince dalle Tabella "Critically Important Antimicrobials (CIAs) non registrati per uso veterinario e riservati ad un uso esclusivo umano", non risultano neanche efficaci in quanto molte specie batteriche hanno resistenza intrinseca a una o più delle suddette molecole riservate per uso umano.

Pertanto, in tutti i casi di resistenza intrinseca riportati nelle seguenti Tabelle, la loro prescrizione o il loro utilizzo "off-label" negli animali da parte del veterinario risulterebbe non prudente, non responsabile, e anche particolarmente dannoso, sia in un'ottica di Salute Animale, che di "One Health". Infatti tale uso risulterebbe nell'esercitare pressione di selezione verso Antibiotici di Importanza Critica (Critically Important Antimicrobials, CIAs), considerati di ultima scelta ("salvavita") e riservati ad un uso umano nelle infezioni batteriche invasive e gravi.

Tabelle Resistenze intrinseche in batteri di interesse veterinario
Tabella Critically Important Antimicrobials (CIAs) non registrati per uso veterinario e riservati ad un uso esclusivo umano

Riferimenti:
American Society of Microbiology
Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine (Giguère S et al., Eds)
Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)
European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)
Société Française de Microbiologie

Il Centro di Referenza Nazionale CRN-AR e National Reference Laboratory NRL-AR

- Il Centro di Referenza Nazionale e National Reference Laboratory
- Attività del CRN-NRL-AR
- Attività di Servizio Pubblico del Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza
- Il sistema di monitoraggio dell'antibioticoresistenza nel settore veterinario in Italia

I sistemi informativi del CRAB

- I Sistemi Informativi del CRAB
- Sistema di gestione dati
- Circuiti Interlaboratorio

Piano monitoraggio resistenza anticrobica

- Spedizione campioni Piano Armonizzato EU AMR 2021 e seguenti (Dec. 2020/1729/EU)
- Piano di Monitoraggio Armonizzato AMR

Tabella 3: Resistenza intrinseca in Gram negativi non-fermentanti di interesse Veterinario (e zoonosico)

NOTA: Gram-negativi non fermentanti sono inoltre generalmente resistenti a: benzilpenicillina, cefalosporine di prima e seconda gen., glicopeptidi, acido fusidico, macrolidi, lincosamidi, streptogramine, rifampicina, daptomicina, linezolid.

Microrganismo	Ampicillina	Amoxicillina-acido clavulanico	Ampicillina-sulbactam	Ticarcillina	Ticarcillina-acido clavulanico	Piperacillina	Piperacillina-tazobactam	Cefazolina, Cefalotina, Cefalessina, Cefadrossile	Cefotaxime	Ceftriaxone	Ceftazidime	Cefepime	Aztreonam	Ertapenem	Imipenem	Meropenem	Ciprofloxacina	Cloramfenicolo	Amminoglicosidi	Trimethoprim	Trimethoprim-sulfametossazolo	Fosfomicina	Tetracicline	Tigeciclina	Polimixina B/Colistina
Acinetobacter baumanniii, A. pitti, A. nosocomialis, A. calcoaceticus complex	R	R	R*					R	R	R			R	R				R		R		R	R§		
Burholderia cepacia complex, *Burkholderia spp.*	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R#	R		R			R
Pseudomonas aeruginosa	R	R	R					R	R	R				R				R	R^	R		R			

P. AERUGINOSA
intrinsecamente R a molte classi di molecole

Tabella 1: Resistenza intrinseca di batteri Gram positivi di interesse Veterinario (e zoonosico)

NOTA: i seguenti batteri Gram positivi sono anche intrinsecamente resistenti anche ad aztreonam, polimixina B/colistina e acido nalidixico.

Microrganismo	Acido Fusidico	Ceftazidime	Cefalosporine (eccetto ceftazidime)	Amminoglicosidi	Macrolidi	Clindamicina	Quinupristina - Dalfopristina	Vancomicina	Teicoplanina	Fosfomicina	Novobiocina	Sulfonammidi
Staphylococcus saprophyticus	R	R								R	R	
Staphylococcus cohnii, S. xylosus		R									R	
Staphylococcus capitis		R								R		
Altri Stafilococchi coagulasi negativi		R										
Staphylococcus aureus, Staphylococcus pseudintermedius		R										
Altri Stafilococchi coagulasi positivi		R										
Streptococcus spp.	R	R		R*								
Enterococcus faecalis	R	R	R	R*	R	R	R					R#
Enterococcus faecium		R	R	R*§	R							R#
Enterococcus gallinarum, Enterococcus casseliflavus	R	R	R	R	R	R	R	R				R#
Corynebacterium spp										R		
Listeria monocytogenes		R	R^									
Bacillus anthracis		R	R									R#

ENTEROCOCCUS SPP

*Bassa resistenza intrinseca agli amminoglicosidi. Se il batterio presenta soltanto bassa resistenza intrinseca agli amminoglicosidi, le penicilline (qualora il batterio risulti sensibile) hanno azione sinergica e battericida

§ resistenza (gene cromosomiale) a vari amminoglicosidi (tranne gentamicina, amikacina, streptomicina)

R anche a trimethoprim (in vivo)

AVVERTENZA: in generale, per Enterococcus spp.: cefalosporine, amminoglicosidi, clindamicina e trimethoprim-sulfametossazolo, potrebbero apparire attivi in vitro ma non sono efficaci clinicamente e non dovrebbero essere riportati come sensibili

https://crab.izslt.it/linee-guida-e-strumenti/resistenze-intrinseche-in-batteri-di-interesse-veterinario.html



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



Resistenze intrinseche in batteri di interesse veterinario

Resistenze intrinseche agli antibiotici

Esistono gruppi, famiglie o specie di batteri che risultano "naturalmente resistenti" agli antibiotici. Ciò è dovuto solitamente a presenza lo assenza di specifici processi funzionali o caratteristiche strutturali.

Tale resistenza naturale è definita "resistenza intrinseca" (diversamente da "resistenza acquisita", dovuta appunto ad acquisizione di geni o meccanismi di resistenza presenti in altri microrganismi, o a mutazioni).

Ad esempio le specie di Klebsiella sono naturalmente resistenti all'ampicillina (aminopenicillina) grazie ad una produzione intrinseca di beta-lattamasi che inattiva l'antibiotico prima che agisca sui suoi target (peptidoglican binding protein, PBP). Oppure, le specie di Enterococcus presentano resistenza intrinseca alle cefalosporine poiché questo genere di batteri non possiede il PBP cui le cefalosporine si legano per poter agire.

Nelle tabelle "Resistenze intrinseche in batteri di interesse veterinario", si riporta una rassegna delle resistenze intrinseche in batteri di interesse veterinario (in grado di causare malattie batteriche negli animali, e malattie zoonosiche).

AVVERTENZA: tutta una serie di antibiotici, riservati ad uso umano ed a prescrizione ospedaliera nell'Uomo, non debbono essere riportati nei rapporti di prova (antibiogrammi) per isolati batterici da campioni diagnostici animali.

Inoltre, in molti casi, come si evince dalle Tabella "Critically Important Antimicrobials (CIAs) non registrati per uso veterinario e riservati ad un uso esclusivo umano", non risultano neanche efficaci in quanto molte specie batteriche hanno resistenza intrinseca a una o più delle suddette molecole riservate per un uso umano.

Pertanto, in tutti i casi di resistenza intrinseca riportati nelle seguenti Tabelle, la loro prescrizione o il loro utilizzo "off-label" negli animali da parte del veterinario risulterebbe non prudente, non responsabile, e anche particolarmente dannoso, sia in un'ottica di Salute Animale, che di "One Health". Infatti tale uso risulterebbe nell'esercitare pressione di selezione verso Antibiotici di Importanza Critica (Critically Important Antimicrobials, CIAs), considerati di ultima scelta ("salvavita") e riservati ad un uso umano nelle infezioni batteriche invasive e gravi.

Tabelle Resistenze intrinseche in batteri di interesse veterinario
Tabella Critically Important Antimicrobials (CIAs) non registrati per uso veterinario e riservati ad un uso esclusivo umano

Riferimenti:
American Society of Microbiology
Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine (Giguère S et al., Eds)
Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)
European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)
Société Française de Microbiologie

Il Centro di Referenza Nazionale CRN-AR e National Reference Laboratory NRL-AR

- Il Centro di Referenza Nazionale e National Reference Laboratory
- Attività del CRN-NRL-AR
- Attività di Servizio Pubblico del Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza
- Il sistema di monitoraggio dell'antibioticoresistenza nel settore veterinario in Italia

I sistemi informativi del CRAB

- I Sistemi Informativi del CRAB
- Sistema di gestione dati
- Circuiti Interlaboratorio

Piano monitoraggio resistenza anticrobica

- Spedizione campioni Piano Armonizzato EU AMR 2023 e seguenti (Dec. 2020/1729/EU)
- Piano di Monitoraggio Armonizzato AMR

Resistenze intrinseche o «expected resistance phenotypes» (EUCAST 2023)

Tabella 2: Resistenza intrinseca di batteri Gram negativi di interesse Veterinario (e zoonosico).

NOTA: Enterobacteriaceae hanno resistenza intrinseca a: benzilpenicillina, glicopeptidi, acido fusidico, macrolidi (in genere, con poche eccezioni), lincosamidi, streptogramine, rifampicina, daptomicina, linezolid.

Microrganismo	Ampicillina	Amoxicillina - acido clavulanico	Ampicillina-sulbactam	Piperacillina	Ticarcillina	Cefazolina, Cefalotina, Cefalessina, Cefadrossile	Cefoxitina	Cefuroxime	Imipenem	Tetracicline	Tigeciclina	Colistina, Polimixina B	Nitrofurantoina
Citrobacter koseri, C. amalonaticus[1]	R			R	R								
Citrobacter freundii[2]	R	R	R			R	R	R					
Enterobacter cloacae complex, *E. aerogenes*	R	R	R			R	R	R					
Escherichia coli	Non sono note resistenze intrinseche ai beta-lattamici in questo microrganismo												
Escherichia hermannii	R				R								
Hafnia alvei	R	R	R			R	R						
Klebsiella pneumoniae, K. oxytoca	R				R								
Morganella morganii	R	R	R			R			§	R	R	R	R
Proteus mirabilis	Non sono note resistenze intrinseche alle penicilline e cefalosporine in questo microrganismo.								§	R	R	R	R
Proteus penneri	R					R	R	R	§	R	R	R	R
Proteus vulgaris	R					R		R	§	R	R	R	R
Providencia rettgeri, P. stuartii†	R	R	R			R	R	R	§	R	R	R	R
Raoultella spp	R				R								
Serratia marcescens	R	R	R			R	R	R		R*		R	R
Yersinia enterocolitica	R	R	R		R	R	R						
Yersinia pseudotuberculosis												R	
Salmonella e Shigella spp.	Non sono note resistenze intrinseche ai beta-lattamici in questi microrganismi. Fare riferimento all'AVVERTENZA riportata sotto.												

Serratia marcescens è intrinsecamente R alle (amino)penicilline (anche potenziate) e cefalosporine di 1-2 gen, tetracicline, polimixine…

K.pneumoniae, K.oxytoca, K.aerogenes sono intrinsecamente R alle aminopenicillin e **K.aerogenes** è intrinsecamente R anche ad amoxi-clav e cefalosporine di I gen (inclusa la cefazolina)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Fenotipi di resistenza eccezionali

Tabella 2: fenotipi di resistenza eccezionali di batteri Gram positivi

Microrganismo	Fenotipo eccezionale.
Staphylococcus aureus	Resistenza alla vancomicina, teicoplanina, telavancina, dalbavancina, oritavancina, daptomicina, linezolid, tedizolid, quinupristina-dalfopristina e/o tigeciclina.
Stafilococchi coagulasi negativi	Resistenza alla vancomicina, teicoplanina, telavancina, dalbavancina, oritavancina, daptomicina, linezolid1, tedizolid1, quinupristina-dalfopristina[1] e/o tigeciclina.
Corynebacterium spp.	Resistenza alla vancomicina, teicoplanina, telavancina, dalbavancina, oritavancina, daptomicina, linezolid, tedizolid, quinupristina-dalfopristina e/o tigeciclina.
*Streptococcus pneumoniae**	Resistenza ai carbapenemi, vancomicina, teicoplanina, telavancina, dalbavancina, oritavancina, daptomicina, linezolid, tedizolid, quinupristina-dalfopristina, tigeciclina e/o rifampicina
Streptococchi beta-emolitici Gruppo A† ,B§ ,C^ e G#	Resistenza alla penicillina, cefalosporine, vancomicina, teicoplanina, telavancina, dalbavancina, oritavancina, daptomicina, linezolid, tedizolid, quinupristina-dalfopristina e/o tigeciclina.
Enterococcus spp.	Resistenza alla daptomicina, linezolid e/o tigeciclina; Resistenza alla teicoplanina ma non alla vancomicina.
Enterococcus faecalis	Resistenza all'ampicillina.

[1]Esclusi i Paesi in cui gli stafilococchi coagulasi negativi resistenti al linezolid, tedizolid o al quinupristina-dalfopristina non sono rari.

*Polmonite in cavalli, cavie/ratti

† *Streptococcus pyogenes*

§ *Streptococcus agalactiae*

^ *Streptococcus dysgalactiae* (subsp. *dysgalactiae;* subsp. *equisimilis), S. equi* (subsp. *equi;* subsp. *zooepidemicus)*

#*Streptococcus canis* in cani e gatti, bovini (raro in mastiti), *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* Gruppo G

Non è utile terapeuticamente e non è uso prudente associare ad un beta-lattamico un inibitore delle beta-lattamasi per il trattamento di Streptococchi di Gruppo A, B, C, G. Né è corretto utilizzare cefalosporine di terza e quarta generazione.

Streptococchi Gr. A, B, C, G che risultino resistenti ai beta-lattamici di prima scelta: si raccomanda di inviare gli isolati al CRN-AR, NRL-AR per approfondimenti e conferma del fenotipo osservato.



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

National Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance (Reg.(EC) 2004/882 - Reg.(EU) 2017/625)
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza (D. M. 4 ottobre 1999)

TEST DI SENSIBILITÀ AI CHEMIOANTIBIOTICI (MICRODILUIZIONE IN BRODO)

Panel Staphylococcus spp-animali da compagnia

ANTIBIOTICO*	Raccomandazioni§
Benzilpenicillina (HD)	NR
Eritromicina (HD)	non utilizzare in terapia come prima scelta
Enrofloxacin (VET) Cavallo Gatto Cane	non utilizzare in terapia come prima scelta
Tetracichina (HD) Cane (VET)	NR
Doxiciclina (HD) Cane e Cavallo (VET)	considerare come opzione terapeutica se isolato resistente alla tetraciclina
Sulfametoxazolo/ Trimethoprim (HD)	NR
Clindamicina (HD) Cane (VET)	NR
Rifampicina (HD)	NR
Cloramfenicolo (HD) Cane (VET)	molecola prototipo per amfenicoli non fluorurati, es. tiamfenicolo
Florfenicol *S.hyicus* (ECOFFs- EUCAST) *S. pseudintermedius* (ECOFFs- EUCAST)	considerare come opzione terapeutica se isolato resistente al cloramfenicolo
Oxacillina (HD) *S. aureus* *S. pseudintermedius S. schleiferi* *Staphylococcus* spp	molecola saggiata per individuare Staphylococcus Meticillino Resistenti (MRS)
Amikacina (VET) Cane e cavallo adulto Puledro	non utilizzare in terapia come prima scelta.
Kanamicina (CASFM VET 2023)	NR
Gentamicina (HD)	NR
Tilosina *S. pseudintermedius* (ECOFFs- EUCAST)	non utilizzare in terapia come prima scelta e considerare come opzione terapeutica solo se isolato resistente all'eritromicina

*in questo panel è riportato un elenco di molecole che coprono in modo ragionato le varie classi e subclassi di antibiotici, che sono rappresentative per le molecole registrate per uso veterinario utilizzabili per la determinazione della MIC in specifici agenti batterici patogeni (o gruppi di agenti batterici patogeni). Per tali molecole sono disponibili CBs CLSI-VET, relativi alla specie animale/sede di infezione considerata. Qualora assenti, viene specificato l'utilizzo di CBs CLSI human-derived (HD) o di CASFM-VET 2023. In ultima istanza, qualora risultassero assenti CBs dei suddetti standard, sono stati utilizzati provvisoriamente epidemiological cut-off values (ECOFFs) o ECOFFs provvisori (tentative ECOFFs) EUCAST, secondo il criterio di priorità ("cascata") riportato nella Procedura Operativa Standard accreditata POS BAT 006 NOR.

§La colonna RACCOMANDAZIONI può essere d'ausilio per la gestione dell'esito già categorizzato (in Sensibile, Intermedio, Resistente) da parte del veterinario clinico per la scelta del chemioantibiotico da utilizzare, conformemente ai principi dell'uso prudente contenuti nei documenti Europei ed Internazionali e nelle Linee Guida per le diverse specie e produzioni animali. NR= Nessuna raccomandazione: il risultato del test per l'associazione agente patogeno-molecola considerato non prevede raccomandazioni particolari.

Raccomandazioni basate su quanto riportato nelle linee guida sull'uso prudente degli antibiotici

https://crab.izslt.it/linee-guida-e-strumenti/molecole-antibiotiche-per-i-test-di-sensibilita-nelle-diverse-specie.html

MOD BAT 005 rev.0 — I.Z.S.L.T. "M.Aleandri" — 2 di 2

UOC Patologia Animale e Sanità Pubblica

Foglio di lavoro: *Panel Streptococcus spp. animali da compagnia*
TEST DI SENSIBILITÀ AI CHEMIOANTIBIOTICI (MICRODILUIZIONE IN BRODO)

ANTIBIOTICO	Sensibile (ug/mL)	Intermedio (ug/mL)	Resistente (ug/mL)	Raccomandazioni
Benzilpenicillina *Streptococcus spp. beta emolitico* group (HD)	≤0.12	0.25-2	≥4	NR
Streptococcus spp. beta emolitico group (HD)	≤0.12	--	--	
Streptococcus spp. (cavallo)	≤0.5	1	≥2	
Eritromicina (HD)	≤0.25	0.5	≥1	non utilizzare in terapia come prima scelta
Enrofloxacin. (urti l'Itrato respiratorio, SST, Uri) e gatti (SST)	≤0.5	1-2	≥4	non utilizzare in terapia come prima scelta.
S.equi equi/ zooepidemicus (cavallo)	≤0.12	0.25	≥0.5	
Cfodomirina. *Streptococcus β-hemolytic group* (cane) (SST)	≤0.5	1-2	≥4	NR
Streptococcus spp. group (HD)	≤0.25	0.5	≥1	
Streptococcus spp. beta emolitico (HD)	≤0.25	0.5	≥1	
Tetraciclina (HD) *Streptococcus spp.*	≤2	4	≥8	NR
Amikacina. *Streptococcus spp.* (cane)	≤4	8	≥ 16	non utilizzare in terapia come prima scelta.
S.equi equi/ zooepidemicus (cavallo adulto)	≤4	8	≥ 16	Non somministrare per uso orale per il trattamento di forme di mastite clinicamente
S.equi equi/ zooepidemicus (puledro)	≤2	4	≥ 8	
Streptomicina HLAR clinical breakpoint CASFM VET 2023	≤250	--	>500	Non somministrare per uso orale per il trattamento di forme di mastite clinicamente
Gentamicina HLAR clinical breakpoint CASFM VET 2023	≤250		>500	Non somministrare per uso orale per il trattamento di forme di mastite clinicamente
Penicillina *S.equi equi/ zooepidemicus* (cavallo)	≤0.12	0.25	≥ 0.5	considerare come opzione terapeutica se isolato resistente alla tetraciclina
Cloramfenicolo (HD)	≤4	8	≥ 16	molecola prototipo per anfenicoli non fluorurati, es. tiamfenicolo
Sulfametoxazolo/ Trimetoprim. *Streptococcus spp.* beta emolitico group (HD)	≤0.5	1	≥2	NR
clinical breakpoint CASFM VET 2023	≤2/38		>4/152	
***Colistina.** *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* (cavallo)	≤0.25	-	-	Le specie di *Streptococcus* mostrano principali sono sensibili alla benzilpenicillina e quindi sono trattabili con penicilline naturali. In alcuni casi particolari di R alle penicilline naturali, per la terapia risultano comunque efficaci le penicilline amoxicillina, ampicillina, o le aminopenicilline potenziate. Isolati con dubbia o ridotta suscettibilità alla benzilpenicillina vanno inviati al CRN-AR. E' quindi non comune osservare resistenza fenotipica alle penicilline e non è giustificato dover ricorrere all'uso di molecole di terza scelta, come cefalosporine di III o IV gen. (es. ceftiofur)

HD: Human-derived breakpoint
*Colistina, ove isolati sospetti resistenti devono essere inviati al CRN-AR
HLAR High Level Aminoglycoside Resistance

Con l'obiettivo di poter **interpretare i risultati AST ottenuti tramite appropriate combinazioni di molecole/famiglie batteriche-generi o specie/specie animali e produzioni**, abbiamo anche progettato **21 moduli specifici allegati alla nostra POS BAT 006 NOR** per i test di sensibilità ai chemioantibiotici in microdiluizione in brodo (abbiamo applicato lo stesso modello anche per la POS DIG 010 NOR-Disk Diffusion) per scopi diagnostici. Tali moduli sono anche pubblicati sul nostro sito come panels specifici (solo per i test MIC)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Pseudomonas aeruginosa-animali da compagnia

TEST DI SENSIBILITÀ AI CHEMIOANTIBIOTICI (MICRODILUIZIONE IN BRODO)

Panel Pseudomonas aeruginosa-animali da compagnia

ANTIBIOTICO*	**Raccomandazioni§**
Gentamicina Cane, Cavallo (VET) ECOFFs- EUCAST	Non somministrare per via orale per il trattamento di forme di malattia extraintestinale
Enrofloxacin (VET) Cavallo Gatto Cane	non utilizzare in terapia come prima scelta
Amikacina (VET) Cavallo adulto e cane Puledro	non utilizzare in terapia come prima scelta Non somministrare per via orale per il trattamento di forme di malattia extraintestinale
Colistina (HD)** ECOFFs- EUCAST	Non utilizzare in terapia come prima scelta Non somministrare per uso orale per il trattamento di forme di malattia extraintestinale
Ceftazidime (HD)**	non utilizzare in terapia come prima scelta

*in questo panel è riportato un elenco di molecole che coprono in modo ragionato le varie classi e subclassi di antibiotici, che sono rappresentative per le molecole registrate per uso veterinario utilizzabili per la determinazione delle MIC in specifici agenti batterici patogeni (o gruppi di agenti batterici patogeni). Per tali molecole sono disponibili CBs CLSI-VET, relativi alla specie animale/sede di infezione considerate. Qualora assenti, viene specificato l'utilizzo di CBs CLSI human-derived (HD) o di CASFM-VET 2023. In ultima istanza, qualora risultassero assenti CBs dei suddetti standard, sono stati utilizzati provvisoriamente epidemiological cut-off values (ECOFFs) o ECOFFs provvisori (tentative ECOFFs) EUCAST, secondo il criterio di priorità ("cascata") riportato nella Procedura Operativa Standard accreditata POS BAT 006 NOR.

§La colonna RACCOMANDAZIONI può essere d'ausilio per la gestione dell'esito già categorizzato (in Sensibile, Intermedio, Resistente) da parte del veterinario clinico per la scelta del chemioantibiotico da utilizzare, conformemente ai principi dell'uso prudente contenuti nei documenti Europei ed Internazionali e nelle Linee Guida per le diverse specie e produzioni animali. NR= Nessuna raccomandazione: il risultato del test per l'associazione agente patogeno-molecola considerato non prevede raccomandazioni particolari.

**Colistina/Ceftazidime (uso iniettabile): la sua prescrizione per un animale da compagnia (es. cane o gatto) è regolata dall'Articolo 112 del Regolamento (UE) 2019/6, nel contesto dell'"uso in deroga".

N.B. Considerato l'elevato numero di resistenze intrinseche di questo patogeno, è possibile testare soltanto un limitato numero di molecole (https://crab.izslt.it/linee-guida-e-strumenti/resistenze-intrinseche-in-batteri-di-interesse-veterinario.html)

Elevato numero di resistenze intrinseche. Solo un numero limitato di molecole puo' essere testato /riportato.

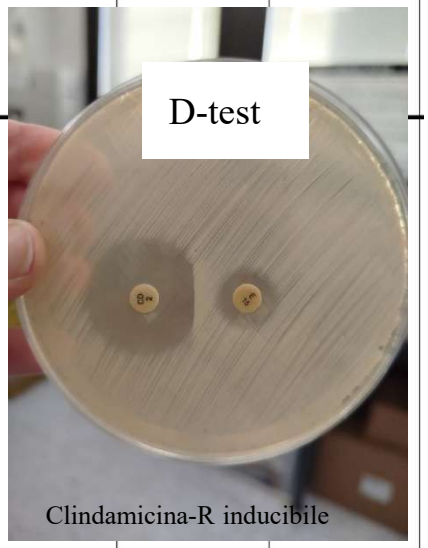


Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Applicazione a livello di laboratorio di criteri di controllo e verifica "esperti" dei referti prima dell'emissione, per limitare al massimo eventuali RP inaccurati

Matrice	: Tampone cutaneo	**Specie animale**	: Cane
Data inizio prove:	: 1/13/2026	**Data fine prove:**	: 1/14/2026
Progressivo campione:	: .		
Isolato batterico	: Staph. Coagulasi Positivo		
Necessaria revisione del sistema esperto	: Si		

Antibiotico		
Amikacin	<= 1	S
Chloramphenicol	64	R
Clindamycin	0,25	S
Doxycycline	<= 0.06	S
Enrofloxacin	<= 0.03	S
Erythromycin	> 16	R
Florfenicol	<= 2	S
Gentamicin	<= 2	S
Oxacillin + 2% NaCl	<= 0.25	S
Penicillin	0.25	R
Rifampin	<= 0.5	S
Tetracycline	<= 0.12	S
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	<= 1	S
Tylosin (Tartrate/ Base)	8	R



Clindamicina-R inducibile

Matrice	: Organi	**Specie animale**	
Data inizio prove:	: 3/11/2026	**Data fine prove:**	
Progressivo campione:	: C.I.		
Isolato batterico	: Escherichia coli		
Necessaria revisione del sistema esperto	: Si		

Antibiotico		
Amoxicillin/Clavulanic Acid	64	R
Ampicillin	2	S
Cefotaxime	<= 0.25	S
Chloramphenicol	2	S
Colistin	**<= 2**	**S**
Doxycycline	2	S
Enrofloxacin	<= 0.03	S
Gentamicin	<= 1	S
Kanamycin	<= 8	S
Sulfamethoxazole	<= 32	S
Tetracycline	<= 2	S
Trimethoprim	<= 2	S

Implausibile: Rivedere lettura MIC



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza

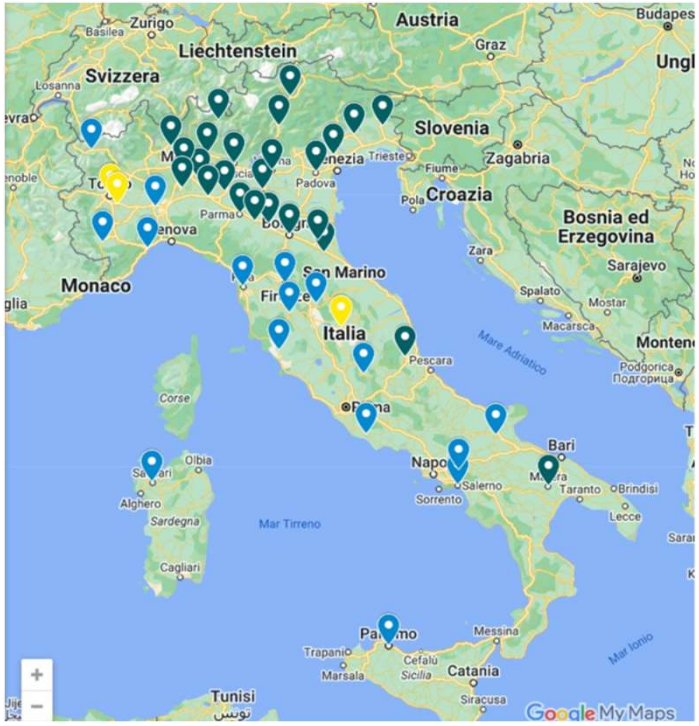
L'applicazione dei criteri/procedure e controlli di qualità descritti rappresentano non solo i presupposti per rendere un servizio accurato da parte dei laboratori che eseguono le prove, ma sono presupposti anche per l'accreditamento delle prove AST; non è infatti sufficiente che l'Istituto o i laboratori che eseguono la prova siano accreditati.



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Circuiti Interlaboratorio/ External Quality Assessment Schemes (EQAS) distribuiti al network IIZZSS

Hanno la funzione di monitorare l'affidabilità e l'accuratezza delle prove AST negli isolati da animali produttori di alimenti e negli animali da compagnia, eseguite dai laboratori partecipanti, ma non bastano per l'accreditamento delle prove!



✓ N° partecipanti 2022**: 46 laboratori** IIZZSS
29 hanno eseguito AST come microdiluizione in brodo (MIC) (60%)
19 hanno eseguito AST come Disk Diffusion (40%)

✓ N° participanti 2024: **43 laboratori** IIZZSS (2 laboratori hanno utilizzato entrambi i metodi):

34 hanno eseguito AST come microdiluizione in brodo (MIC) (75.5%)
11 hanno eseguito AST come Disk Diffusion (25.5%)

Circuito interlaboratorio 2026 in preparazione!



Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Contesto Sovranazionale EU:

European Partnership on Animal Health and Welfare

The NRC-AR Italy also contributed to the design and promotion of ***ad hoc* plates for ECOFFs setting** within subtask 1.3

Task 1. Identification of and interpretive criteria for phenotypic antimicrobial susceptibility testing (ST 1.3 - ECOFFs for bacteria from terrestrial farmed animals)

Task 2. Genomic monitoring of pathogens of veterinary importance and their AMR genetic determinants in terrestrial and aquatic food-producing animal/premises and the surrounding environment

Task 8.2-EARS-Vet full scale implementation:

i) Perform joint data analysis across EU countries of AMR in clinical pathogens of animals across the EU, develop an EARS-Vet database, EARS-Vet report and an EARS-Vet interactive visualization dashboard (subtask 8.2.1).

ii) Improve harmonisation and comparability -Propose standardized EARS-Vet MIC plates for AST of bacterial pathogens and re-test with harmonized methods a subset of strains of interest. (subtask 8.2.2).

iii) EARS-Vet proficiency test. WGS (whole genome sequencing) analyses of phenotypes of interest (subtask 8.2.3).

iiii) EARS-Vet communication and implementation strategy (subtask 8.2.4)

EU-JAMRAI Joint Action Antimicrobial Resistance and Healthcare-Associated Infections

The NRC-AR Italy also contributed to the design and promotion of *ad hoc* and tailored **plates for surveillance purposes** within the **EARS-VET network**



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CRAB
Centro di Referenza Nazionale
per l'Antibioticoresistenza



Grazie per l'attenzione!

….e grazie a tutti i colleghi del CRN-AR, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana "M. Aleandri"

