

L'interpretazione dei saggi di sensibilità agli antibiotici: un invito alla discussione

Gabriella Piatti¹, Roberto Bandettini², Graziana Manno², Domizio Serra³, Anna Marchese¹, Eugenio A. Debbia¹

¹ Sezione di Microbiologia C.A. Romanzi, DISCAT, Università di Genova

² Laboratorio Centrale, Istituto G. Gaslini

³ Laboratorio d'Analisi, Ospedale Evangelico Internazionale, Genova

CARO DIRETTORE

Il fenomeno della resistenza batterica agli antibiotici si configura sempre più ubiquitario e complesso coinvolgendo la maggior parte delle specie batteriche d'interesse medico, sia in ambiente nosocomiale, sia in quello comunitario (6, 11, 12, 15, 16, 24-26). Il problema della refrattarietà ha inoltre coinvolto negli ultimi anni i farmaci anti-retrovirali (17) e antiparassitari (26).

I batteri hanno adottato diverse e sofisticate strategie per giungere alla resistenza (2, 5, 10, 12, 21, 22) e spesso le contromisure messe in atto hanno avuto impatti molto modesti sul problema globale (12, 26). L'impiego di nuovi principi attivi è da sempre l'unico rimedio capace di superare le resistenze attuali, ma anche in questo campo all'orizzonte non appare qualcosa di veramente innovativo (12, 18, 26).

In molti casi, inoltre, i dati del laboratorio, facilmente influenzabili dalle condizioni sperimentali, possono risultare di difficile interpretazione a causa di eventuali alterazioni della fisiologia della cellula batterica, quale, per esempio, il tasso di crescita, dovuto all'acquisizione della resistenza. Il patogeno può, quindi, sembrare fenotipicamente sensibile alla sostanza saggiata celando la presenza di informazioni genetiche che potrebbero rappresentare il primo passo verso la refrattarietà. I batteri che possiedono meccanismi genetici di resistenza in corso di evoluzione o che per altri motivi presentano una sensibilità ridotta potrebbero diventare più facilmente refrattari al farmaco qualora siano esposti a concentrazioni sub-inibenti la crescita, note per favorire la selezione dei ceppi resistenti e spesso presenti *in vivo* in particolari distretti corporei (3, 4, 13, 14, 19, 20).

La scelta inconsapevole di un antibiotico dotato di attività "borderline" o più limitata nei confronti di un ceppo batterico potrebbe portare non solo al fallimento terapeutico, ma favorire la sopravvivenza e la diffusione di ceppi in evoluzione o francamente resistenti.

L'antibiogramma è il saggio di laboratorio attraverso il quale il clinico viene messo al corrente dal Microbiologo sulle caratteristiche di sensibilità agli antibiotici di un patogeno.

Le informazioni che sono contenute nel referto

forniscono soltanto un quadro molto generico e forse pericoloso sull'interazione patogeno-antibiotico mettendo in un'unica categoria i microrganismi al di là o al di qua di un certo limite, accomunando in un unico gruppo ceppi con genotipi diversi mascherati da un fenotipo simile.

Gli esempi tipici si trovano sulle più note linee guida internazionali e in particolare quello dei ceppi produttori di β -lattamasi a spettro esteso (ESBL) ove pur rientrando nella categoria sensibile (S) alcuni di questi stipiti hanno l'informazione genetica per la produzione di questo enzima evidenziale solo con prove aggiuntive (3).

Sulla base di queste considerazioni, è stata avvertita la necessità di ampliare la quantità e la qualità di informazioni da trasmettere al clinico oltre agli usuali saggi per la sensibilità agli antibiotici.

A tal fine sono qui riportati alcuni esempi di antibiogramma, in rappresentanza del numero più elevato disponibili, preparati secondo il criterio citato. Ulteriori e dettagliate informazioni sono reperibili in specifiche pubblicazioni (3, 13, 19).

In generale il fac-simile della risposta prevede, come d'uso, una lista degli antibiotici saggiati per quel determinato patogeno, lista che può essere modificata sulla base del campione, del reparto di provenienza, del tipo di paziente e dell'esperienza del Microbiologo e della realtà ove opera.

La seconda colonna elenca quelli che sono i principi attivi dotati di attività equivalente *in vitro* rispetto all'antibiotico utilizzato per il saggio. La terza colonna delibera le categorie di appartenenza, sensibile (S), intermedio (I) e resistente (R), sulla base dell'alone misurato, registrato in caso di saggio eseguito mediante diffusione da dischetto, e riportato nella quarta colonna.

I valori soglia (breakpoints) per definire un microrganismo S, I, o R, in questo caso sono quelli suggeriti da CLSI (3) sono trascritti accanto. Le rimanenti parti dello schema sono quelle utilizzate dai laboratori che adottano un sistema che si basa sulla determinazione delle concentrazioni minime inibenti (MIC).

L'aspetto importante riguarda il valore dell'alone (o della MIC) riportato in questo tipo di risposta. Se il ceppo risulta resistente o intermedio non esistono differenze rispetto al saggio usuale, ma se il

ceppo risulta sensibile appare di grande importanza valutare quanto la misura dell'alone o della MIC si discosta dai valori di breakpoint. In via del tutto provvisoria e in corso di definizione per aloni che risultino inclusi in un diametro ≤ 5 mm o MIC comprese nelle ≤ 3 diluizioni rispetto ai valori soglia il ceppo potrebbe essere considerato, per i motivi già citati, un ceppo con ridotta sensibilità a quel antibiotico. In tal caso il clinico potrebbe optare, quando possibile, per un farmaco alternativo più attivo.

Le note riportano oltre alle abbreviazioni quelle che sono le caratteristiche di resistenza intrinseca del ceppo agli antibiotici. Vi sono inoltre alcune informazioni sulle resistenze indice che possono

dare informazioni sulla eventuale produzione di enzimi inattivanti verso alcuni specifici gruppi di farmaci. Le altre note, che possono anche ridursi o aumentare secondo le esigenze del singolo laboratorio, riferiscono sia a quanto già citato sia alla presenza di ESBL, la produzione di biofilm se saggiata, per i ceppi isolati da protesi o da cateteri (8). L'ultima annotazione riguarda i ceppi utilizzati per i controlli di qualità inseriti nei saggi. Gli schemi si riferiscono a *Enterobacteriaceae* (7), *P. aeruginosa* e altri non fermentanti (9), stafilococchi (1) e enterococchi (23) che rappresentano i più diffusi ceppi di isolamento clinico, per gli altri patogeni sono in preparazione tabulati appropriati.

Antibiogramma ceppo: *Escherichia coli*

Antibiotici Saggiati	Antibiotici con attività equivalente in vitro	Categoria	Valori dell'alone (in mm)	Valori soglia (in mm)			Valori della MIC (in µg/ml)	
				R	I	S	R	S
		R/I/S						
ampicillina	amoxicillina		≤ 13	14-16	≥ 17		≥ 32	≤ 8
Piperacillina			≤ 17	18-20	≥ 21		≥ 128	≤ 16
amoxicillina/clavulanato	Ampicillina/sulbactam		≤ 13	14-17	≥ 18		≥ 32	≤ 8
Piperacillina/tazobactam			≤ 17	18-20	≥ 21		≥ 128	≤ 16
cefamandolo ^a	Cefuroxime, cefotetan, cefoxitin, cefaclor		≤ 14	15-17	≥ 18		≥ 32	≤ 8
cefotaxime ^b	Ceftizoxime, ceftriaxone		≤ 14	15-22	≥ 23		≥ 64	≤ 8
ceftazidime ^b	Cefoperazone Cefsulodin		≤ 14	15-18	≥ 18		≥ 32	≤ 8
Cefepime			≤ 14	15-18	≥ 18		≥ 32	≤ 8
Aztreonam			≤ 15	16-21	≥ 22		≥ 32	≤ 8
imipenem	meropenem		≤ 13	14-15	≥ 16		≥ 16	≤ 4
gentamicina	Tobramicina, netilmicina		≤ 12	13-14	≥ 15		≥ 8	≤ 4
Amikacina			≤ 14	15-16	≥ 17		≥ 32	≤ 16
Ac.pipemidico	cinoxacina		≤ 14	15-18	≥ 19		≥ 64	≤ 16
Norfloxacin	Enoxacina, ofloxacin		≤ 12	13-16	≥ 17		≥ 16	≤ 4
ciprofloxacina	levofloxacina		≤ 15	16-20	≥ 21		≥ 4	≤ 1
Nitrofurantoina			≤ 14	15-16	≥ 17		≥ 128	≤ 32
Fosfomicina			≤ 12	13-15	≥ 16		≥ 256	≤ 64
Doxiciclina			≤ 12	13-15	≥ 16		≥ 16	≤ 4
Cloramfenicolo			≤ 12	13-15	≥ 18		≥ 32	≤ 8
Trimetop/sulfamet.			≤ 10	11-13	≥ 14		≥ 8	≤ 2

NOTE

S, sensibile; I, intermedio; R, resistente

Resistenze intrinseche: penicillina G, glicopeptidi, acido fusidico, macrolidi, ketolidi, clindamicina, linezolid, streptogramine (quinupristina/dalfopristina), mupirocina

Resistenze indice: se il ceppo presenta resistenza a una qualsiasi cefalosporina di II generazione^a, si sospetta produzione di potente β -lattamasi, è sconsigliato l'uso di cefalosporine di prima generazione; resistenza a qualsiasi cefalosporina di III generazione^b, possibile produzione di potente β -lattamasi, è sconsigliato l'uso di cefalosporine di prima e seconda generazione; resistenza a ceftazidime o cefpodoxime, probabile produzione di ESBL, sconsigliato l'uso di tutte le cefalosporine; resistenza a ureidopenicilline, produzione di penicillinasi.

Biofilm produttore si, no

Controlli di qualità eseguiti periodicamente con i ceppi: *E. coli* ATCC25922, and ATCC 35218 per la combinazione tra un β -lattamico e l'inibitore suicida, *P. aeruginosa* ATCC 27853

Antibiogramma ceppo: *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotici saggiati	Antibiotici con attività equivalente in vitro	Categoria	Valori dell'alone (in mm)	Valori soglia (in mm)			Valori della MIC (in µg/ml)	Valori soglia (in µg/ml)	
				R	I	S		R	S
		R/I/S							
carbenicillina	Ticarcillina			≤13	14-16	≥17		≥512	≤128
piperacillina				≤17	-	≥18		≥128	≤64
piperacillina/tazobactam	ticarcillina-clavulanato			≤17	-	≥18		≥128	≤64
cefotaxime	Ceftizoxime, ceftriaxone			≤14	15-22	≥23		≥64	≤8
ceftazidime	Cefoperazone Cefsulodin			≤14	15-18	≥18		≥32	≤8
cefepime				≤14	15-18	≥18		≥32	≤8
aztreonam				≤15	16-21	≥22		≥32	≤8
imipenem	Meropenem			≤13	14-15	≥16		≥16	≤4
gentamicina	Tobramicina, netilmicina			≤12	13-14	≥15		≥8	≤4
amikacina				≤14	15-16	≥17		≥32	≤16
norfloxacina	Enoxacina, ofloxacina			≤12	13-16	≥17		≥16	≤4
ciprofloxacina	Levofloxacina			≤15	16-20	≥21		≥4	≤1
colistina ^a									

NOTE

S, sensibile; I, intermedio; R, resistente

Resistenze intrinseche: penicillina G, ampicillina, amoxicillina, amoxicillina-clavulanato, ampicillina-sulbactam, cefalosporine di I e II generazione, cefotaxime, ceftriaxone, cefixime, cefpodoxime, glicopeptidi, acido fusidico, macrolidi, ketolidi, clindamicina, linezolid, streptogramine (quinupristina/dalfopristina), mupirocina, acido nalidixico, trimetoprim-sulfametoxazolo, rifampicina, tetracicline, cloramfenicolo, nitrofurantoina.

Sconsigliata la monoterapia per infezioni diverse da quelle alle vie urinarie.

^a, valutabile su richiesta mediante MIC

P. aeruginosa può sviluppare resistenza in caso di terapia protratta a qualsiasi antibiotico. Il test eseguito su ceppi isolati 3-4 giorni dopo l'inizio della terapia può essere utile per rilevare un aumento di resistenza.

Controlli di qualità eseguiti periodicamente con i ceppi: *E. coli* ATCC25922, and ATCC 35218 per la combinazione tra un β-lattamico e l'inibitore suicida, *P. aeruginosa* ATCC 27853

Antibiogramma ceppo: *Acinetobacter spp*

Antibiotici saggiati	Antibiotici con attività equivalente in vitro	Categoria	Valori dell'alone (in mm)	Valori soglia (in mm)			Valori della MIC (in µg/ml)	Valori soglia (in µg/ml)	
				R	I	S		R	S
		R/I/S							
carbenicillina	ticarcillina			≤13	14-16	≥17		≥512	≤128
Amoxicillina-clavulanato	Ampicillina-sulbactam			≤17	-	≥18		≥128	≤64
cefotaxime	Ceftizoxime, ceftriaxone			≤14	15-22	≥23		≥64	≤8
ceftazidime	Cefoperazone Cefsulodin			≤14	15-18	≥18		≥32	≤8
cefepime				≤14	15-18	≥18		≥32	≤8
aztreonam				≤15	16-21	≥22		≥32	≤8
imipenem	meropenem			≤13	14-15	≥16		≥16	≤4
gentamicina	Tobramicina, netilmicina			≤12	13-14	≥15		≥8	≤4
amikacina				≤14	15-16	≥17		≥32	≤16
doxiciclina	minociclina			≤14	15-18	≥19		≥16	≤4
norfloxacina	Enoxacina, ofloxacina			≤12	13-16	≥17		≥16	≤4
ciprofloxacina	levofloxacina			≤15	16-20	≥21		≥4	≤1
Trimetop/sulfamet.				≤10	11-13	≥14		≥8	≤2

NOTE

S, sensibile; I, intermedio; R, resistente

Resistenze intrinseche: penicillina G, piperacillina, cefalotina, cefoxitin, cefaloridina, cefotetan, cefmetazolo, glicopeptidi, acido fusidico, macrolidi, ketolidi, clindamicina, linezolid, streptogramine (quinupristina/dalfopristina), mupirocina

Controlli di qualità eseguiti periodicamente con i ceppi: *E. coli* ATCC25922, and ATCC 35218 per la combinazione tra un β-lattamico e l'inibitore suicida, *P. aeruginosa* ATCC 27853

Antibiogramma ceppo: *Burkholderia cepacia*

Antibiotici saggiati	Antibiotici con attività equivalente in vitro	Categoria	Valori dell'alone (in mm)	Valori soglia (in mm)			Valori della MIC (in µg/ml)	
				R	I	S	R	S
		R/I/S						
carbenicillina	ticarcillina			≤13	14-16	≥17	≥512	≤128
piperacillina				≤17	-	≥18	≥128	≤64
Piperacillina/tazobactam	Ticarcillina-clavulanato			≤17	-	≥18	≥128	≤64
ceftazidime	Cefoperazone Cefsulodin			≤14	15-18	≥19	≥32	≤8
cefepime				≤14	15-18	≥19	≥32	≤8
aztreonam				≤15	16-21	≥22	≥32	≤8
imipenem	meropenem			≤13	14-15	≥16	≥16	≤4
doxiciclina	minociclina			≤14	15-18	≥19	≥16	≤4
cloramfenicolo				≤12	13-15	≥18	≥32	≤8
ciprofloxacina	levofloxacina			≤15	16-20	≥21	≥4	≤1
Trimetop/sulfamet.				≤10	11-13	≥14	≥8	≤2

NOTE

S, sensibile; I, intermedio; R, resistente

Resistenze intrinseche: penicillina G, ampicillina, amoxicillina, amoxicillina-clavulanato, ampicillina-sulbactam, cefalosporine di I e II generazione, glicopeptidi, acido fusidico, macrolidi, ketolidi, clindamicina, linezolid, streptogramine (quinupristina/dalfopristina), mupirocina, aminoglicosidi, acido nalidixico, nitrofurantoina.

Sconsigliata la monoterapia per infezioni diverse da quelle alle vie urinarie.

Controlli di qualità eseguiti periodicamente con i ceppi: *E. coli* ATCC25922, and ATCC 35218 per la combinazione tra un β-lattamico e l'inibitore suicida, *P. aeruginosa* ATCC 27853

Antibiogramma ceppo: *Stenotrophomonas maltophilia*

Antibiotici saggiati	Antibiotici con attività equivalente in vitro	Categoria	Valori dell'alone (in mm)	Valori soglia (in mm)			Valori della MIC (in µg/ml)	
				R	I	S	R	S
		R/I/S						
carbenicillina	Ticarcillina			≤13	14-16	≥17	≥512	≤128
piperacillina				≤17	-	≥18	≥128	≤64
Piperacillina/tazobactam	Ticarcillina-clavulanato			≤17	-	≥18	≥128	≤64
ceftazidime	Cefoperazone Cefsulodin			≤14	15-18	≥19	≥32	≤8
cefepime				≤14	15-18	≥19	≥32	≤8
doxiciclina	Minociclina			≤14	15-18	≥19	≥16	≤4
ciprofloxacina	Levofloxacina			≤15	16-20	≥21	≥4	≤1
clora				≤12	13-15	≥18	≥32	≤8
Trimetop/sulfamet.				≤10	11-13	≥14	≥8	≤2

NOTE

S, sensibile; I, intermedio; R, resistente

Resistenze intrinseche: penicillina G, ampicillina, amoxicillina, amoxicillina-clavulanato, ampicillina-sulbactam, cefalosporine di I e II generazione, glicopeptidi, acido fusidico, macrolidi, ketolidi, clindamicina, linezolid, streptogramine (quinupristina/dalfopristina), mupirocina, aminoglicosidi, acido nalidixico, nitrofurantoina.

Sconsigliata la monoterapia per infezioni diverse da quelle alle vie urinarie.

Controlli di qualità eseguiti periodicamente con i ceppi: *E. coli* ATCC25922, and ATCC 35218 per la combinazione tra un β-lattamico e l'inibitore suicida, *P. aeruginosa* ATCC 27853

Antibiogramma ceppo: *Enterococcus faecalis*

Antibiotici saggiati	Antibiotici con attività equivalente in vitro	Categoria	Valori dell'alone (mm)	Valori soglia (mm)			Valori della MIC (µg/ml)	Valori soglia (µg/ml)	
				R	I	S		R	S
		R/I/S							
Penicillina G				≤ 14	-	≥ 15		≥ 16	≤ 8
Ampicillina	Amoxicillina, piperacillina, mezlocillina			≤ 16		≥ 17		≥ 16	≤ 8
Vancomicina	Teicoplanina			≤ 14	15-16	≥ 17		≥ 32	≤ 4
Linezolid				≤ 20	21-22	≥ 23		≥ 8	≤ 2
Rifampicina				≤ 16	17-19	≥ 20		≥ 4	≤ 1
Ciprofloxacina	Ofloxacina			≤ 15	16-20	≥ 21		≥ 4	≤ 1
Norfloxacina	Enoxacina			≤ 12	13-16	≥ 17		≥ 16	≤ 4
Levofloxacina				≤ 13	14-16	≥ 17		≥ 8	≤ 2
Doxiciclina	Minociclina			≤ 12	13-15	≥ 16		≥ 16	≤ 4
Eritromicina	Claritromicina, Azitromicina			≤ 13	14-22	≥ 23		≥ 8	≤ 0.5
Fosfomicina				≤ 12	13-15	≥ 16		≥ 256	≤ 64
Nitrofurantoina				≤ 14	15-16	≥ 17		≥ 128	≤ 32
Quinupristina/dalfopristina				≤ 15	16-18	≥ 19		≥ 4	≤ 1
Gentamicina-sin				6	7-9	≥ 10		≥ 500	≤ 500
Streptomycin-sin				6	7-9	≥ 10		-	-

NOTE

S, sensibile; I, intermedio; R, resistente

Resistenze intrinseche: cefalosporine, penicillina G, carbenicillina, ticarcillina, monobattamici, lincosamidi, trimetoprim-sulfametossazolo; hanno una resistenza intrinseca a basso livello a molti aminoglicosidi, acido nalidixico, mupirocina.

Ceppi intermedi o resistenti alla tetraciclina possono essere sensibili a doxiciclina o minociclina o ad entrambe;

Controlli di qualità eseguiti periodicamente con i ceppi: *Enterococcus faecalis* ATCC29212 (MIC) o *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (KB).

Antibiogramma ceppo: *Staphylococcus spp.*

Antibiotici saggiati	Antibiotici con attività equivalente in vitro	Categoria	Valori dell'alone (mm)	Valori soglia (mm)			Valori della MIC (µg/ml)	Valori soglia (µg/ml)	
				R	I	S		R	S
		R/I/S							
Penicillina				≤ 28	-	≥ 29		β-lattamasi	≤ 0.1
Amoxicillina/clavulanato	Ampicillina/sulbactam, Piperacillina/tazobactam			≤ 19	-	≥ 20		≥ 8/4	≤ 4/2
Cefoxitin*				≤ 19	-	≥ 20		≥ 4	≤ 2
cefoxitin **				≤ 24	-	≥ 25		≥ 0.5	≤ 0.25
Cefalotina				≤ 14	15-17	≥ 18		≥ 32	≤ 8
cefamandolo				≤ 14	15-17	≥ 18		≥ 32	≤ 8
cefdinir				≤ 16	17-19	≥ 20		≥ 4	≤ 1
Imipenem				≤ 13	14-15	≥ 16		≥ 16	≤ 4
Vancomicina	Teicoplanina			-	-	≥ 15			≤ 4
Linezolid				-	-	≥ 21		-	≤ 4
Rifampicina				≤ 16	17-19	≥ 20		≥ 4	≤ 1
Ciprofloxacina	Ofloxacina, Levofloxacina			≤ 15	16-20	≥ 21		≥ 4	≤ 1
Eritromicina	Claritromicina, Azitromicina			≤ 13	14-22	≥ 23		≥ 8	≤ 0.5
Clindamicina				≤ 14	15-20	≥ 21		≥ 4	≤ 0.5
Nitrofurantoina				≤ 14	15-16	≥ 17		≥ 128	≤ 32
Chinupristina/dalfopristina				≤ 15	16-18	≥ 19		≥ 4	≤ 1
Gentamicina				≤ 12	13-14	≥ 15		≥ 8	≤ 4
Trimetoprim-sulfametossazolo				≤ 10	11-15	≥ 16		≥ 8/152	≤ 2/38
Tetraciclina	Doxiciclina, minociclina			≤ 14	15-18	≥ 19		≥ 16	≤ 4

NOTE:

S, sensibile; I, intermedio; R, resistente

* *Staphylococcus aureus* e *S.lugdunensis*

** Stafilococchi coagulasi negativi escluso *S. lugdunensis*

Resistenze intrinseche: monobattamici, temocillina, colistina, acido nalidixico.

Resistenze indice: oxacillino-resistenza, resistenza a tutti i β-lattamici. Penicillina, oxacillino sensibili, sono anche resistenti ad ampicillina, amoxicillina, carbenicillina, azlocillina, mezlocillina, ticarcillina e piperacillina. Questi ceppi sono sensibili alle combinazioni di penicilline/inibitori delle beta-lattamasi, alle cefalosporine e ai carbapenemici; Fluoroquinoloni: possono sviluppare resistenza in caso di terapia protratta. Il test eseguito su ceppi isolati 3-4 giorni dopo l'inizio della terapia può essere utile per rilevare un aumento di resistenza; Rifampicina: non deve essere usata da sola ma in associazione

Biofilm produttore si no

Controlli di qualità eseguiti periodicamente con i ceppi: *E. coli* ATCC 35218 per la combinazione tra un β-lattamico e l'inibitore suicida, *Staphylococcus aureus* ATCC29213 (MIC) o ATCC25923(KB).

BIBLIOGRAFIA

1. Bannerman TL. *Staphylococcus*, *Micrococcus* and other catalase positive cocci that grow aerobically. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of Clinical Microbiology 2003. 8th ed. P. 384-404 Washington, DC: American Society for Microbiology Press.
2. Chopra I, O'Neill AJ, Miller K. The role of mutators in the emergence of antibiotic-resistant bacteria. Drug Resist Updat 2003; 6: 137-45.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (ex NCCLS). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standard Institute, Fifteenth informational supplement: M100-S15 Vol. 25. Wayne, PA. 2005.
4. Cockerill FR, Smith TF. Response of the Clinical Microbiology laboratory to emerging (new) and reemerging infectious diseases. J Clin Microbiol 2004; 42: 2359-65.
5. Davies J. Inactivation of antibiotics and dissemination of resistance genes. Science 1994; 264: 375-82.
6. Diekema DJ, et al. Antimicrobial resistance trends and outbreak frequency in United States hospitals. Clin Infect Dis 2004; 38: 78-85.
7. Farmer JJ. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. P. 636-653. Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 2003.
8. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. Nat Rev Microbiol 2004; 2: 95-108.
9. Kiska DL, Gilligan PH. *Pseudomonas*. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of clinical microbiology. 7th ed. P. 517-526 Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 2003.
10. Laible G, Spratt BG, Hakenbeck R. Interspecies recombinational events during the evolution of altered PBP 2X genes in penicillin-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Mol Microbiol 1991; 5: 1993-2002.
11. Levy SB, Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: cause, challenges and responses. Nature Med 2004; 10: S122-S129.
12. Livermore D. Can better prescribing turn the tide of resistance? Nature Rev Microb 2004; 2: 73-8.
13. Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. J Antimicrob Chemother 2001; 48 (Suppl. S1): 87-102.
14. McGowan JE, Tenover FC. Confronting bacterial resistance in healthcare settings: a crucial role for microbiologists. Nat Rev Microbiol 2004; 2: 251-8.
15. Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. The challenge of emerging and re-emerging infectious disease. 2004, Nature vol. 430.
16. O'Brien TF. Emergence, spread and environmental effect of antimicrobial resistance: how use of an antimicrobial anywhere can increase resistance to any antimicrobial anywhere else. Clin Infect Dis 2002; 34 (Suppl 3): s78-84.
17. Pillay D & Zambon M Antiviral drug resistance. British Med Jour 1998; 317: 660-2.
18. Projan S. Why is big pharma getting out of antibacterial drug discovery? Curr Opin Microbiol 2003; 6: 427-30.
19. Rice LB, Sahn D, Bonomo RA. Mechanisms of resistance to antibacterial agents. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 2003; 1074-101.
20. Salipante SJ, Barlow M, Hall BG. Gene Hunter, a transposon tool for identification and isolation of cryptic antibiotic resistance genes. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 3840-5.
21. Spratt BG. Resistance to antibiotic mediated by target alterations. Science 1994; 264: 388-93.
22. Summers AO. Generally overlooked fundamentals of bacterial genetics and ecology. Clin Infect Dis 2002; 34: S85-S92.
23. Teixeira LM, Facklam RR. Enterococcus. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen J.H., Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 2003; 422-33.
24. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, Liassine N, Bes M, Greenland T, Reverdy ME, Etienne J. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. Emerg Infect Dis 2003; 9: 978-84.
25. Walsh C. Antibiotics: actions, origins, resistance. American Society for Microbiology. Press, Washington 2003; 89-156.
26. Wise R. The relentless rise of resistance? J Antimicrob Chemother 2004; 54: 306-10.

Eugenio A. Debbia

Sezione di Microbiologia C.A. Romanzi,
DISCAT
Università di Genova,
Largo Rosanna Benzi 10, 16132 Genova
Tel: 010-3537655; Fax: 010-3537698
Cell.: 338 8805256
E-mail: eugenio.debbia@unige.it