



MicroScan

Dried Gram Negative Procedural Manual

1

Konventionelles Gramnegativ-Panel – Verfahrensanleitung

2

Manuel d'utilisation des plaques conventionnelles pour Gram négatifs

3

Manuale di procedura per i pannelli Gram negativi disidratati

4

Manual de procedimientos para gram negativos deshidratados

5

Manual de Procedimientos para Painéis de Gram-Negativos Liofilizados

6

01/2015

3251-2655A





MicroScan

Manuale di procedura per i Pannelli Gram negativi disidratati

ATTENZIONE: le modifiche al manuale delle procedure sono indicate da un'ombreggiatura.

Uso previsto

Per l'utilizzo con i pannelli Gram negativi disidratati MicroScan® MIC/Combo e i pannelli Gram negativi disidratati Breakpoint Combo.

I pannelli MicroScan® sono progettati per determinare la sensibilità agli antimicrobici e/o l'identificazione al livello di specie di bacilli gram-negativi aerobi e anaerobi facoltativi.

Riassunto e principi

I test di sensibilità agli antimicrobici sono riproduzioni in scala ridotta e in forma disidratata dei test di sensibilità in brodo-diluizione. Vari agenti antimicrobici vengono diluiti in brodo Mueller-Hinton supplementato con calcio e magnesio a concentrazioni che coprono l'intervallo di interesse clinico.^{17,24} I pannelli Breakpoint Combo utilizzano concentrazioni equivalenti ai breakpoint CLSI.^{17,24} Il brodo per Trimetoprim e Trimetoprim/Sulfametossazolo contiene timidina fosforilasi per ridurre i livelli di timidina nel mezzo. Una volta inoculati e reidratati con una sospensione standardizzata di organismo e incubati a 35 °C per un minimo di 16 ore, la concentrazione minima inibente (MIC), di un antimicrobico per il microrganismo in esame, viene determinata dalla concentrazione di antimicrobico più bassa che mostra inibizione della crescita.^{1-12, 15, 16, 19-24}

I test cromogeni e convenzionali modificati consentono l'identificazione di bacilli gram-negativi fermentanti e non fermentanti. L'identificazione si basa sull'individuazione delle variazioni di pH, l'utilizzo del substrato e la crescita in presenza di agenti antimicrobici dopo 16 – 42 ore di incubazione a 35 °C.^{13,14} I pannelli contenenti ceftazidime, aztreonam, cefotaxime, o ceftriaxone a 1 ug/ml o cefepodoxime a 1 o 4 ug/ml (a seconda del tipo di pannello) possono essere utilizzati per lo screening di ceppi di *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, o *K. pneumoniae* sospettati di produrre beta-lattamasi a spettro allargato (ESBL). Per lo screening dei ceppi di *Proteus mirabilis* produttori di ESBL, è possibile utilizzare solo ceftazidime, cefotaxime e cefepodoxime. Per confermare la presenza di ESBL è possibile utilizzare i pannelli contenenti ceftazidime con acido clavulanico e cefotaxime con acido clavulanico. Il test di conferma è positivo se si verifica un calo ≥ 3 diluizioni nei pozzetti con ceftazidime o cefotaxime combinati con acido clavulanico, rispetto alla MIC quando testati da soli.

Precauzioni

1. Solo per uso diagnostico *in vitro*.
2. Durante l'esecuzione di tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e attenersi a tutte le precauzioni contro i rischi microbiologici, ricordando sempre che i pannelli inoculati contengono organismi potenzialmente patogeni.
3. Il materiale contiene agenti infettivi e deve essere smaltito conformemente alle procedure previste per i rifiuti a rischio biologico.
4. I risultati di questo test devono essere sempre interpretati alla luce della anamnesi del paziente, della presentazione clinica e valutando contestualmente l'esito di altri accertamenti.

Conservazione

Conservare i pannelli gram-negativi disidratati a 2 – 25 °C.

Deterioramento del prodotto

L'esposizione prolungata a condizioni di conservazione diverse da quelle raccomandate può determinare una perdita di efficacia degli agenti antimicrobici o l'idrolisi dei substrati di identificazione. Non usare oltre la data di scadenza. Per ulteriore assistenza, contattare il proprio rappresentante o distributore Beckman Coulter.

Raccolta e preparazione dei campioni

I campioni devono essere raccolti, trasportati e collocati su terreni per l'isolamento primario in base alle procedure indicate nel *Manuale di microbiologia clinica*.¹

Procedura

Materiali forniti

Vedere l'etichetta della confezione per i contenuti specifici del pannello.

Materiale necessario ma non fornito

Standard di torbidità 0,5 McFarland
N, N-Dimetil-alfa-naftilamina 0,5%, 30 ml (B1010-45A)
o 250 ml (B1015-45)
Acido sulfanilico 0,8%, 30 ml (B1010-44A) o 250 ml (B1015-44)
Soluzione salina autoclavata 0,85%, 3 ml
Pipetta da 100 µl con puntali sterili monouso
Cloruro ferrico 10%, 30 ml (B1010-48A) o 250 ml (B1015-48)
Idrossido di potassio 40%, 30 ml (B1010-43A) o 250 ml (B1015-43)
Alfa-Naftolo 5%, 30 ml (B1010-42A)
Coperchi (B1010-56B)
Attrezzatura generale di laboratorio
Kit di inoculo D (B1013-4)
Acqua per inoculo, 3 ml (B1015-2)
Acqua per inoculo con PLURONIC®*, 25 ml (B1015-7)
Reagente di Kovac, 30 ml (B1010-41A) o 250 ml (B1015-41)
Visualizzatore per microdiluizioni
Olio minerale, 60 ml (B1010-40)
Olio minerale, 250 ml - solo per strumenti WalkAway®-S/
e WalkAway® plus e la funzione overlay di WalkAway®
(B1010-40A)
Reagente ossidasi
Sistema di inoculo Prompt™*** (B1026-10D)
Organismi di controllo qualità (vedere
Manuale di riferimento CQ Internazionale)
Kit contagocce reagente (B1013-12A)
RENOK® - Reidratatore/inoculatore (B1018-14) o equivalente
Strisce sigillanti (B1010-51)
Turbidimetro
Vortex
Carta per etichette codici a barre (B1018-129)
Coperchi WalkAway® (B1018-18)
* Tensioattivi PLURONIC®, un marchio registrato di BASF Corporation,
Parsippany, NJ USA
** 3M, St. Paul, MN USA

Descrizione della procedura

A. Preparazione dei pannelli

1. Estrarre dalla confezione i pannelli da utilizzare. Non utilizzare se sussistono dubbi sull'integrità della confezione (dissigliata, forata o strappata).
2. Aprire l'involucro e rimuovere il pannello. Se conservato in frigorifero, estrarre subito il pannello dall'involucro.
3. **Non utilizzare i pannelli in presenza delle seguenti condizioni:**
 - a. Essiccante non presente o danneggiato
 - b. Colore dei pozzetti alterato (es. DCB, vari antimicrobici)
4. Lasciare equilibrare i pannelli a temperatura ambiente prima della reidratazione. I pannelli possono essere impilati e coperti con un coperchio pulito. Tutti i pannelli estratti dalla confezione devono essere utilizzati il giorno stesso oppure devono essere eliminati.

B. Preparazione dell'inoculo

CLSI raccomanda di verificare periodicamente le densità degli inoculi mediante conta delle colonie. Per le raccomandazioni relative alla conta delle colonie, consultare il documento CLSI M07-A9. I risultati attesi per *E. coli* ATCC 25922 devono avvicinarsi a 5×10^5 CFU/ml per le concentrazioni finali del test.¹⁷ L'utente deve prestare particolare attenzione alla preparazione dell'inoculo in particolare con metodi manuali che sono dipendenti dalla tecnica, come il Sistema Prompt o l'inoculo preparato senza l'ausilio di un dispositivo fotometrico. Nota: I prodotti MicroScan non supportano le tecniche della fase stazionaria e logaritmica.

1. Tecnica dello standard di torbidità - Metodo principale per la preparazione dell'inoculo

La tecnica dello standard di torbidità è consigliata per l'inoculazione diretta di tutti i bacilli gram-negativi aerobi.

- Servendosi di un bastoncino, di un'ansa o di un tampone sterile, prelevare 4 – 5 colonie grandi o 5 – 10 colonie piccole ben isolate, morfologicamente simili, cresciute su una piastra di agar senza inibitori per 18 – 24 ore.
- Emulsionare in 3 ml di acqua per inoculo (acqua deionizzata sterilizzata in autoclave).
- Tappare bene e miscelare la sospensione su vortex per 2 – 3 secondi. La torbidità finale deve essere equivalente a quella di uno Standard di torbidità 0,5 McFarland. È possibile ottenere una torbidità equivalente utilizzando un turbidimetro MicroScan® con un intervallo di $0,08 \pm 0,02$.
- Pipettare 0,1 ml (100 µl) della sospensione standardizzata in 25 ml di acqua per inoculo con PLURONIC. Tappare bene. Capovolgere 8 – 10 volte per mescolare.

2. Sistema Prompt

È possibile utilizzare il sistema di inoculo Prompt per inoculare i bacilli gram-negativi. Per un utilizzo corretto, consultare il manuale d'uso del sistema di inoculo Prompt.

C. Test dell'ossidasi

Prima dell'inoculazione dei pannelli eseguire il test dell'ossidasi. Registrare i risultati nello spazio appropriato sul foglio di lavoro o come richiesto dalla strumentazione. Il reagente per ossidasi raccomandato è il tetrametil-p-fenilendiamina dicloridrato.

D. Reidratazione/inoculo dei pannelli

La reidratazione e l'inoculo vengono eseguiti utilizzando il sistema RENOK® con inoculatori-D. Consultare il manuale dell'operatore RENOK®. Se si utilizza un sistema alternativo, reidratare con $115 \mu\text{l} \pm 10 \mu\text{l}$ di acqua per inoculo (PLURONIC). La concentrazione finale nei pozzetti deve essere pari a $3 - 7 \times 10^5$ CFU/ml. Per garantire la vitalità e la purezza dell'organismo in esame, preparare una piastra di isolamento strisciando l'inoculo su una idonea piastra di agar e incubando alle giuste condizioni. Se sulla piastra di isolamento sono presenti due o più tipi di colonie, reisolare le colonie e sottoporre a nuovo test.

E. Copertura dei substrati con olio minerale

- Utilizzare un flacone contagocce per ricoprire i pozzetti GLU, URE, H₂S, LYS, ARG, ORN e DCB con 3 gocce di olio minerale. (i pozzetti in oggetto sono sottolineati sul pannello).
- Ricoprire interamente i terreni contenuti nei pozzetti con olio minerale, senza farlo fuoriuscire.

NOTA: Gli strumenti WalkAway® SI e WalkAway® plus (e lo strumento WalkAway® aggiornato con la funzione overlay olio automatizzata) aggiungono automaticamente olio ai pozzetti appropriati.

F. Striscia sigillante

Solo per gli organismi ossidasi positivi, posizionare una striscia sigillante sui pozzetti CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/B e DCB. Il foro di posizione da un quarto di pollice nel nastro deve essere allineato sul pozzetto DCB. Per i sistemi WalkAway®, viene utilizzato il coperchio in luogo della striscia sigillante.

G. Incubazione

- I pannelli possono essere incubati in un sistema WalkAway® o in un termostato seguendo le fasi indicate:
 - Per garantire una distribuzione termica uniforme durante l'incubazione, impilare i pannelli in gruppi di 3 – 5.
 - Posizionare un coperchio pulito sopra ciascun gruppo di pannelli per impedire l'evaporazione. I coperchi

possono essere riutilizzati. Non decontaminare i coperchi con alcool. Per pulirli è possibile utilizzare acqua e sapone. Risciacquare bene e lasciar asciugare all'aria.

- Incubare i pannelli per almeno 16 ore a 35 °C in un incubatore non a CO₂.

H. Lettura dei pannelli

I pannelli possono essere letti manualmente utilizzando il visualizzatore per microdiluzioni MicroScan® o sulla strumentazione MicroScan® (sistemi autoSCAN®-4 e WalkAway®). Per leggere i pannelli con la strumentazione MicroScan®, consultare il manuale dell'operatore LabPro.

- Dopo 16 – 20 ore di incubazione, rimuovere i pannelli dall'incubatore.
- Pulire la parte inferiore del pannello con un panno privo di lanugine per rimuovere eventuali detriti o condensa.
- Leggere i pannelli solo se il pozzetto di crescita è torbido. Non leggere gli antimicrobici se il pozzetto di controllo è torbido o se non è presente crescita nel pozzetto di crescita. La crescita nei pozzetti contenenti gli antimicrobici appare come torbidità, che può prendere l'aspetto di un velo bianco su tutto il pozzetto, un bottone bianco al centro del pozzetto o una crescita granulare fine in tutto il pozzetto. Una crescita inadeguata o assente viene definita da un lieve alone biancastro nel pozzetto o dal brodo trasparente.
- Se i risultati vengono letti visivamente, registrarli sul foglio di lavoro appropriato.
- Letture delle sensibilità agli antimicrobici
 - Leggere tutti gli antimicrobici e CET su sfondo nero (illuminazione indiretta).
 - Registrare i risultati MIC come indicato di seguito:
 - Dopo 16 – 20 ore di incubazione, registrare la MIC come la concentrazione di antimicrobico più bassa in grado di inibire la crescita.
 - Quando la crescita si verifica a tutte le concentrazioni di antimicrobico, il valore MIC viene registrato come maggiore (>) della concentrazione massima.
 - Quando non si verifica alcuna crescita a nessuna concentrazione di antimicrobico, il valore MIC viene registrato come inferiore o uguale (≤) alla concentrazione minima.
 - Un pozzetto trasparente in una serie di pozzetti con crescita (ad esempio crescita a 1, 2 e 8 µg/ml, ma non a 4 µg/ml) è detto pozzetto saltato e deve essere ignorato.
 - Una crescita puntiforme in pozzetti isolati indica contaminazione. È necessario ripetere il test.
 - È possibile osservare un "effetto di trascinamento" in alcune combinazioni farmaco/microorganismo quali *Proteus* con Cefuroxime (Crm) e Imipenem (Imp), *Serratia* con antimicrobici beta-lattamici (es. Imipenem (Imp) e Piperacillina/Tazobactam (P/T)) e *B. cepacia* e *B. pseudomallei* con Ceftazidime (Caz) e Piperacillina (Pi). È anche possibile osservare trascinamento con Trimetoprim/Sulfametossazolo (T/S) e Trimetoprim (T) utilizzando il sistema di reidratazione/inoculo RENOK® a causa della concentrazione dell'inoculo. Il punto finale deve essere letto come la concentrazione più bassa che, rispetto al pozzetto di crescita, abbia:
 - Circa l'80% di riduzione della crescita (T/S, T)
 - Un bottone bianco di diametro inferiore a 2 mm, oppure
 - Un bottone bianco semi-traslucido.¹
- Letture dei substrati di identificazione
 - Leggere tutti i substrati di identificazione con uno sfondo bianco tranne per CET e gli antimicrobici utilizzati per l'identificazione (Cl₄, Cf₆, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄) che devono essere letti su uno sfondo nero (illuminato indirettamente).
 - Glucosio fermentanti - Dopo 16 – 24 ore di incubazione, se GLU è colorato di un giallo carico, l'organismo

fermenta il glucosio e i 24 test glucosio fermentanti devono essere letti. Se la reazione del glucosio è arancione o rossa, l'organismo è glucosio non-fermentante. Alcune specie non-fermentanti possono produrre un colore dorato da considerare come negativo. Alcune specie non-fermentanti di *Pasteurella* non sono in grado di crescere nel pozzetto del glucosio se ricoperto con olio minerale, ma fermentano il saccarosio e/o il sorbitolo. Se il pozzetto GLU non mostra alcuna crescita e SUC o SOR sono positivi, trattare come glucosio fermentante.

c. Non fermentanti il glucosio - I non fermentanti il glucosio devono essere letti dopo 16 – 24 ore di incubazione se almeno **una** delle seguenti condizioni risulta positiva: (1) ARG e OF/G o ARG e CET, (2) LYS, o (3) ORN. Se tutte queste reazioni sono negative e in presenza di crescita nel pozzetto di crescita, registrare la MIC, CET e gli antimicrobici utilizzati per l'identificazione e reincubare per altre 24 ore prima di effettuare la lettura e l'identificazione finale.

d. Se, dopo reincubazione, l'organismo appare ancora non-reattivo, verificare l'eventuale avvenuta crescita dell'organismo nei carboidrati con rosso fenolo (particolarmente in condizioni di crescita scarsa o nulla nel controllo di crescita con brodo Mueller-Hinton). Se non è presente crescita nei carboidrati con rosso fenolo, andrebbe sospettato un organismo esigente quale un *Vibrio* alofili o una *Yersinia* che cresce meglio a 25 °C, oppure un membro di un gruppo *Pasteurella/Actinobacillus*. È necessario riprodurre una colorazione gram per confermare che è gram negativo. Nel caso si sospetti una patologia clinicamente significativa dovuta a un *Vibrio* alofili, ristare emulsionando alcune colonie in 3,0 ml di soluzione sterile salina allo 0,85% eseguendo inoltre i test supplementari, inclusa la crescita in soluzione salina, come raccomandato dal software. La torbidità finale deve essere equivalente a uno standard di torbidità 0,5

McFarland. Reidratare il pannello con 25 ml di acqua per inoculo con PLURONIC sterile utilizzando il sistema un metodo RENOK®. Mediante una pipetta di trasferimento sterile, aggiungere una goccia (45 – 50 µl) della sospensione in soluzione salina a ognuno dei pozzetti di identificazione tra cui i pozzetti di crescita, Cl₄ e Cl₆. Incubare i pannelli a 35 °C per 16 – 24 ore.

- e. Prima della lettura, aggiungere i seguenti reagenti:
- 1) Aggiungere 1 goccia di idrossido di potassio al 40% (KOH) e 1 goccia di Alfa-Naftolo al 5% nel pozzetto VP. Attendere almeno 20 minuti per lo sviluppo della reazione VP.
 - 2) Aggiungere 1 goccia di cloruro ferrico al 10% al pozzetto TDA. Il colore si svilupperà immediatamente.
 - 3) Aggiungere 3 gocce di reagente di Kovac MicroScan®* al pozzetto IND. Il colore si svilupperà immediatamente.
- * Il reagente di Kovac MicroScan® è una formula speciale progettata per l'uso con la strumentazione MicroScan®. Se i pannelli vengono letti visivamente è necessaria solo una goccia.
- 4) Per tutti i non-fermentanti del CQ e clinici, aggiungere 1 goccia di Acido sulfanilico all'0,8%, quindi 1 goccia di N,N-dimetil-alfa-naftilamina allo 0,5% al pozzetto NIT. Attendere almeno 5 minuti prima delle letture affinché la reazione NIT si sviluppi.
- f. Per ulteriori informazioni sull'interpretazione biochimica, consultare la sezione RISULTATI.

Controllo qualità

L'accettabilità dei mezzi di identificazione e degli agenti antimicrobici deve essere controllata sottoponendo a test organismi con intervalli MIC e reazioni note. Consultare le tabelle CQ di riferimento internazionali per gli organismi del controllo di qualità e per i risultati attesi.

Risultati

A. Risultati biochimici

1. Interpretazioni biochimiche

Pozzetto	Reagente	Positivo	Negativo
GLU		Solo giallo carico Alcuni non-fermentanti possono produrre un colore dorato da considerare come negativo.	Da arancione a rosso
SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL		Da giallo a Giallo/arancione	Da arancione a rosso
URE		Da magenta a rosa	Giallo, arancione o rosa chiaro
H ₂ S		Precipitato nero o bottone nero	Nessun annerimento
IND	Aggiungere 3 gocce (o una goccia se il pannello è letto a vista) di Reagente di Kovac MicroScan®. Il colore si sviluppa immediatamente.	Da rosa a rosso <i>Providencia</i> sp. può produrre un anello di colore rosa pallido da considerare come positivo.	Da giallo pallido ad arancione
Confrontare LYS, ARG e ORN con DCB. Il pozzetto DCB deve essere ricoperto con olio affinché i seguenti risultati siano considerati validi. Per i non fermentanti, un test positivo deve essere di un colore porpora decisamente più intenso rispetto al controllo di base. Se il controllo di base è porpora, il terreno contenuto è stato alcalinizzato e LYS, ARG e ORN devono essere tutti registrati come negativi. Le specie di <i>Achromobacter</i> e <i>Ochrobactrum anthropi</i> tendono a comportarsi in questo modo.			
LYS		Da porpora a grigio	Giallo
ARG		Non-fermentanti:	
ORN		Porpora	Da incolore a grigio
TDA	Aggiungere 1 goccia di Cloruro ferrico al 10%. Il colore si sviluppa immediatamente.	Ogni sfumatura di marrone	Da giallo ad arancione
ESC		Da marrone chiaro a nero	Da beige a incolore
VP	Aggiungere 1 goccia di KOH al 40% e 1 goccia di Alfa-Naftolo al 5%. Attendere almeno 20 minuti per lo sviluppo della reazione.	Rosso Alcuni non-fermentanti possono produrre un anello di colore rosa pallido dopo 18 ore di incubazione, da considerare come negativo.	Incolore
ONPG		Giallo Confrontare ogni pozzetto ONPG che appaia trasparente con il pozzetto di cetrimide. Se l'ONPG evidenzia una sfumatura gialla rispetto al pozzetto di cetrimide, registrare come positivo.	Incolore

CIT, MAL, TAR, ACE		Da blu a blu-verde Ogni sfumatura di blu è da considerare come positiva.	Da verde a giallo
CET		Crescita	Assenza di crescita
OF/G	NOTA: Confrontare con il controllo base OF. Se l'OF base è verde: Se l'OF base è blu o blu-verde:	Giallo Da giallo a verde	Da verde a blu Blu
NIT	Aggiungere 1 goccia di acido sulfanilico allo 0,8% quindi 1 goccia di N,N-Dimetil- alfa naftilamina allo 0,5%. Attendere almeno 5 minuti per lo sviluppo della reazione.	Rosso	Da incolore a rosa pallido
P ₄ , K ₄ , Cl ₄ , Fd ₆₄ , TO ₄ , Cf ₈		Crescita (Resistente)	Assenza di crescita (Sensibile)
LOC	Solo per il riconoscimento dei pannelli nei sistemi autoSCAN®-4 e WalkAway®.		

2. Identificazione del microrganismo

Il servizio di Ricerca del biotipo nel programma LabPro Information Manager e sul sito Web di Beckman Coulter permette l'identificazione degli organismi. Il programma identifica gli organismi e le relative probabilità, in ordine decrescente di probabilità, fino a un totale cumulativo del 99,9%. Se si ottiene un numero di biotipo corrispondente a "biotipo rarissimo", consultare il software LabPro (Utilità > Sistema> Ricerca biotipo), il servizio di ricerca biotipi sul sito Web Beckman Coulter o rivolgersi al distributore di zona.

B. Interpretazione dei risultati MIC

La sensibilità si determina confrontando il valore MIC per un dato organismo con il livello di antimicrobico raggiungibile nel sangue o nelle urine. Nelle tabelle che seguono sono riportati i criteri interpretativi dei documenti CLSI, EUCAST e del Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). Alcuni di questi differiscono dai breakpoint interpretativi del produttore elencati nel Physicians' Desk Reference.

Test Conferma ESBL ottimizzata

Agente antimicrobico	Sequenze di diluizione ESBL - Positive		Sequenze di diluizione ESBL - Negative		Sequenze di diluizione ESBL - Impossibili da interpretare
Caz	4 – > 16	16 – > 16	≤ 1	≤ 1, 4 – 8	> 16
Caz/CA	≤ 0,25/4	≤ 0,25/4 – 2/4	≤ 0,25/4	2/4	> 2/4
Cft	8 – > 32	32 – > 32	≤ 2	≤ 2, 8 – 16	> 32
Cft/CA	≤ 0,5/4	≤ 0,5/4 – 4/4	≤ 0,5/4	4/4	> 4/4

Agente antimicrobico	Esempio 1: Conferma Positiva	Esempio 2: Conferma Positiva	Esempio 3: Conferma Negativa	Esempio 4: Possibile ESBL, test di conferma non interpretabile. Il microrganismo ha MIC superiori alla più alta diluizione disponibile sul pannello.
Caz	8	16	4	> 16
Caz/CA	≤ 0,25/4	≤ 0,25/4	2/4	> 2/4
Cft	16	32	16	> 32
Cft/CA	4/4	≤ 0,5/4	4/4	> 4/4

C. Interpretazioni dei risultati ESBL

- Alcuni componenti della famiglia delle *Enterobacteriaceae*, in particolare *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis* producono beta-lattamasi che sono capaci di idrolizzare le cefalosporine a spettro esteso (per es. cefotaxime, ceftriaxone, ceftizoxime e ceftazidime) e l'aztreonam. Questi enzimi presentano spesso modelli di sensibilità inusuali per la classe di antibiotici beta-lattamici. Gli isolati clinici di *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae* e *Escherichia coli* con MIC ≥ 2 µg/ml per ceftazidime, aztreonam, cefotaxime, ceftriaxone, o con MIC ≥ 2 o ≥ 8 µg/ml (in base al tipo di pannello) per cefepodoxime devono indurre a sospettare una produzione di beta-lattamasi a spettro esteso. Per i ceppi *P. mirabilis*, è possibile utilizzare solo ceftazidime, cefotaxime e cefepodoxime per lo screening dell'ESBL. Un isolato clinico è considerato positivo al test di conferma ESBL se la MIC dell'antibiotico in combinazione con l'acido clavulanico ha un calo ≥ 3 diluizioni (vale a dire una diminuzione di 3 pozzetti) rispetto al valore MIC dell'antibiotico

testato da solo. Nell'analisi di cefotaxime e ceftazidime, con e senza acido clavulanico, un risultato positivo (cioè con un calo ≥ 3 diluizioni MIC) con una qualsiasi combinazione antibiotica viene considerato positivo per conferma fenotipica ESBL.²⁴

- Le versioni ≥ 1.1 di LabPro forniscono inoltre uno screening per ESBL personalizzabile. Questo screening utilizza le MIC degli antibiotici ceftazidime (Caz), aztreonam (Azt), cefotaxime (Cft), cefepodoxime (Cpd) e ceftriaxone (Cax). Per ulteriori dettagli, vedere la Guida per l'operatore di LabPro.
- I risultati in base ai quali gli isolati sono positivi allo screening ma negativi alla conferma possono essere dovuti alla presenza di altre beta-lattamasi quali *ampC*.
- Per tutti i ceppi produttori di ESBL confermati, l'interpretazione del test deve essere riportata come resistente a tutte le penicilline, alle cefalosporine e all'aztreonam.^{17,24,25}

Breakpoint interpretativi

Agenti antimicrobici	Abbr.	EUCAST ¹			CLSI ²			ALTRI ³		
		S	I	R	S	I	R	S	I	R
Amikacina	Ak									
Enterobacteriaceae		≤ 8	16	> 16	≤ 16	32	≥ 64	-	-	-
<i>Acinetobacter</i> spp. e <i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 8	16	> 16	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 16	32	≥ 64	-	-	-
Amoxicillina – Enterobacteriaceae	Amx	≤ 8	-	> 8	-	-	-	-	-	-
Amoxicillina/K Clavulanato – Enterobacteriaceae	Aug	≤ 8/4	-	> 8/4	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	-	-	-
Ampicillina	Am									
Enterobacteriaceae		≤ 8	-	> 8	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
<i>V. cholerae</i> (CLSI M45-A2)		-	-	-	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
Ampicillina/Sulbactam	A/S									
Enterobacteriaceae		≤ 8/4	-	> 8/4	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	-	-	-
<i>Acinetobacter</i> spp.		-	-	-	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	-	-	-
Aztreonam ⁷	Azt									
Enterobacteriaceae		≤ 1	2 – 4	> 4	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 1	2 – 16	> 16	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
Cefazolin (CLSI M100-S19) – Enterobacteriaceae	Cfz	-	-	-	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
Cefepime	Cpe									
Enterobacteriaceae		≤ 1	2 – 4	> 4	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 8	-	> 8	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
Cefixime – Enterobacteriaceae	Cfe	≤ 1	-	> 1	≤ 1	2	≥ 4	-	-	-
Cefoperazone/Sulbactam ⁴	C/S									
Enterobacteriaceae, <i>P. aeruginosa</i> e <i>Acinetobacter</i> spp.		-	-	-	-	-	-	≤ 16	32	≥ 64
Cefotaxime ⁷	Cft									
Enterobacteriaceae		≤ 1	2	> 2	≤ 1	2	≥ 4	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae diverse da <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 8	16 – 32	≥ 64	-	-	-
Cefotaxime/K Clavulanato ^{6,8}	Cft/CA	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cefotetan – Enterobacteriaceae	Ctn	-	-	-	≤ 16	32	≥ 64	-	-	-
Cefoxitin ⁵ – Enterobacteriaceae	Cfx	-	-	-	≤ 8	16	≥ 32	≤ 8	16 – 32	> 32
Cefpodoxime ⁷ – Enterobacteriaceae	Cpd	≤ 1	-	> 1	≤ 2	4	≥ 8	-	-	-
Cefsulodin ⁶	Cfs	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ceftazidime ⁷	Caz									
Enterobacteriaceae		≤ 1	2 – 4	> 4	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 8	-	> 8	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
<i>B. pseudomallei</i> (CLSI M45-A2)		-	-	-	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
Ceftazidime/K Clavulanato ^{6,8}	Caz/CA	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ceftizoxime (CLSI M100-S19)	Cz									
Enterobacteriaceae		-	-	-	≤ 8	32	≥ 64	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae diverse da <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 8	32	≥ 64	-	-	-
Ceftriaxone ⁷	Cax									
Enterobacteriaceae		≤ 1	2	> 2	≤ 1	2	≥ 4	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae diverse da <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 8	16 – 32	≥ 64	-	-	-
Cefuroxime axetil (orale) – Enterobacteriaceae	Crn	≤ 8	-	> 8	≤ 4	8 – 16	≥ 32	-	-	-
Cefuroxime sodio (parenterale) – Enterobacteriaceae	Crn	≤ 8	-	> 8	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
Cefalothina ^{5,10} – Enterobacteriaceae	Cf	-	-	-	≤ 8	16	≥ 32	≤ 8	16 – 32	> 32
Chloramphenicolo ⁹	C									
Enterobacteriaceae		≤ 8	-	> 8	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
<i>V. cholerae</i> e <i>Y. pestis</i> (CLSI M45-A2)		-	-	-	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae diverse da <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
Ciprofloxacina	Cp									
Enterobacteriaceae (CLSI M100-S21)		≤ 0,5	1	> 1	≤ 1	2	≥ 4	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 0,5	1	> 1	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i> (CLSI M100-S21)		-	-	-	≤ 1	2	≥ 4	-	-	-
<i>Y. pestis</i> (CLSI M100-S17)		-	-	-	≤ 1	2	≥ 4	-	-	-
Colistina	Cl									
Enterobacteriaceae		≤ 2	-	> 2	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 4	-	> 4	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 2	4	≥ 8	-	-	-
Doripenem	Dor									
Enterobacteriaceae		≤ 1	2 – 4	> 4	≤ 1	2	≥ 4	-	-	-
<i>Acinetobacter</i> spp. e <i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 1	2 – 4	> 4	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 2	4	≥ 8	-	-	-
Ertapenem – Enterobacteriaceae	Etp	≤ 0,5	1	> 1	≤ 0,5	1	≥ 2	-	-	-
ESBL-a ^{6,7} (cefpodoxime)	ESa	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ESBL-b ^{6,7} (ceftazidime)	ESb	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fosfomicina – Enterobacteriaceae	Fos	≤ 32	-	> 32	-	-	-	-	-	-
Gatifloxacina ⁴ – Enterobacteriaceae	Gat	-	-	-	-	-	-	≤ 2	4	≥ 8
Gemifloxacina – Enterobacteriaceae	Gem	-	-	-	≤ 0,25	0,5	≥ 1	-	-	-

Agenti antimicrobici	Abbr.	EUCAST ¹			CLSI ²			ALTRI ³		
		S	I	R	S	I	R	S	I	R
Gentamicina	Gm									
Enterobacteriaceae		≤ 2	4	> 4	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
<i>Acinetobacter</i> spp. e <i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 4	-	> 4	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
<i>Y. pestis</i> (CLSI M45-A2)		-	-	-	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
Imipenem	Imp									
Enterobacteriaceae		≤ 2	4-8	> 8	≤ 1	2	≥ 4	-	-	-
<i>Acinetobacter</i> spp.		-	-	> 8	-	-	≥ 16	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 4	8	> 8	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae diverse da <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 2	4	≥ 8	-	-	-
<i>B. pseudomallei</i> (CLSI M45-A2)		-	-	-	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
Levofloxacina	Lvx									
Enterobacteriaceae		≤ 1	2	> 2	≤ 2	4	≥ 8	-	-	-
<i>Acinetobacter</i> spp. e <i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 1	2	> 2	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 2	4	≥ 8	-	-	-
Mecillinam ¹⁰ – Enterobacteriaceae	Mec	≤ 8	-	> 8	-	-	-	-	-	-
Meropenem	Mer									
Enterobacteriaceae		≤ 2	4-8	> 8	≤ 1	2	≥ 4	-	-	-
<i>Acinetobacter</i> spp. e <i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 2	4-8	> 8	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae diverse da <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 2	4	≥ 8	-	-	-
Mezlocillina (CLSI M100-S21)	Mz									
Enterobacteriaceae		-	-	-	≤ 16	32-64	≥ 128	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae diverse da <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 16	32-64	≥ 128	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 64	-	≥ 128	-	-	-
Minociclina	Min									
Enterobacteriaceae		-	-	-	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae diverse da <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
Moxifloxacina ^{4,9} – Enterobacteriaceae	Mxf	≤ 0,5	1	> 1	-	-	-	≤ 2	4	≥ 8
Acido nalidixico ^{5,10} – Enterobacteriaceae	NA	-	-	-	≤ 16	-	≥ 32	≤ 8	16	> 16
Netilmicina	Nt									
Enterobacteriaceae		-	-	-	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 8	16	≥ 32	-	-	-
Nitrofurantoina ¹⁰ – Enterobacteriaceae	Fd	≤ 64	-	> 64	≤ 32	64	≥ 128	-	-	-
Norfloxacina ¹⁰	Nxn									
Enterobacteriaceae		≤ 0,5	1	> 1	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
Ofloxacina	Ofi									
Enterobacteriaceae		≤ 0,5	1	> 1	≤ 2	4	≥ 8	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 2	4	≥ 8	-	-	-
Piperacillina	Pi									
Enterobacteriaceae		≤ 8	16	> 16	≤ 16	32-64	≥ 128	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 16	-	> 16	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 16	32-64	≥ 128	-	-	-
Piperacillina/Tazobactam	P/T									
Enterobacteriaceae		≤ 8	16	> 16	≤ 16	32-64	≥ 128	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 16	-	> 16	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 16	32-64	≥ 128	-	-	-
Tetraciclina ⁵	Te									
Enterobacteriaceae		-	-	-	≤ 4	8	≥ 16	≤ 4	8	> 8
Non-Enterobacteriaceae diverse da <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 4	8	≥ 16	≤ 4	8	> 8
<i>B. pseudomallei</i> , <i>V. cholerae</i> e <i>Y. pestis</i> (CLSI M45-A2)		-	-	-	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
Ticarcillina (CLSI M100-S21)	Ti									
Enterobacteriaceae		≤ 8	16	> 16	≤ 16	32-64	≥ 128	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 16	-	> 16	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 16	32-64	≥ 128	-	-	-
Ticarcillina/Ac. Clavulanico	Tim									
Enterobacteriaceae		≤ 8	16	> 16	≤ 16	32-64	≥ 128	-	-	-
<i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 16	-	> 16	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae diverse da <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 16	32-64	≥ 128	-	-	-
Tigeciclina ⁴ – Enterobacteriaceae	Tgc	≤ 1	2	> 2	-	-	-	≤ 2	4	≥ 8
Tobramicina	Per									
Enterobacteriaceae		≤ 2	4	> 4	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
<i>Acinetobacter</i> spp. e <i>Pseudomonas</i> spp. ¹¹		≤ 4	-	> 4	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae e <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-
Trimetoprim ¹⁰ – Enterobacteriaceae	T	-	-	-	≤ 8	-	≥ 16	-	-	-
Trimetoprim/Sulfametossazolo	T/S									
Enterobacteriaceae		≤ 2/38	4/76	> 4/76	≤ 2/38	-	≥ 4/76	-	-	-
<i>Acinetobacter</i> spp. ¹¹		≤ 2/38	4/76	> 4/76	-	-	-	-	-	-
<i>S. maltophilia</i> ¹¹		≤ 4/76	-	> 4/76	-	-	-	-	-	-
Non-Enterobacteriaceae diverse da <i>P. aeruginosa</i>		-	-	-	≤ 2/38	-	≥ 4/76	-	-	-
<i>B. pseudomallei</i> , <i>V. cholerae</i> e <i>Y. pestis</i> (CLSI M45-A2)		-	-	-	≤ 2/38	-	≥ 4/76	-	-	-

1. Basato su EUCAST V3.1.²⁸

2. Basato sui breakpoint interpretativi come indicato nel documento CLSI M100-S22 o M45-A2.^{24,29} In questo pannello vi sono antimicrobici di cui non è sicura l'efficacia clinica verso gli organismi valutati. Per la registrazione dei risultati degli antimicrobici che hanno mostrato di essere attivi *in vitro* o in clinica contro gruppi di organismi, consultare il documento CLSI M100, tabelle 1 e 2 o il foglio illustrativo della confezione farmaceutica.

- ALTRA terapia: può essere basata su SFM, o Breakpoint dei produttori. Fare riferimento alle successive note per i dettagli.
- ALTRA terapia basata su breakpoint dei produttori.
- ALTRA terapia basata su breakpoint interpretativi come indicato dal rapporto 2012 del Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).²⁵
- Non esistono breakpoint per questo test.
- Gli isolati clinici di *K. oxytoca*, *K. pneumoniae* e *E. coli* con MIC ≥ 2 µg/ml per ceftazidime (o ESBL-b), aztreonam, cefotaxime, ceftriaxone, o con MIC ≥ 2 o ≥ 8 µg/ml (in base al tipo di pannello) per cefpodoxime (o ESBL-a) devono indurre a sospettare una produzione di beta-lattamasi a spettro esteso. Per i ceppi *P. mirabilis*, è possibile utilizzare solo ceftazidime, cefotaxime e cefpodoxime per lo screening dell'ESBL.¹⁷
- Gli isolati clinici di *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *E. coli* e *P. mirabilis* con una diminuzione della MIC ≥ 3 diluizioni (vale a dire una diminuzione di 3 pozzi) per l'antibiotico testato con acido clavulanico rispetto al valore MIC dello stesso antibiotico testato da solo, sono considerati positivi alla conferma fenotipica delle ESBL (CLSI).²⁴ Per ulteriori informazioni vedere Guida utente LabPro.
- Verrà referata solo la terapia sistemica.
- Verrà referata solo l'interpretazione urinaria.
- Le interpretazioni CLSI per *Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas* spp. sono incluse tra quelle per la famiglia non-Enterobacteriaceae.

Limiti della procedura

- Batteri esigenti - *Haemophilus* e altri batteri gram-negativi esigenti non crescono nel brodo Mueller-Hinton non supplementato con fattori di arricchimento per la crescita.
- Batteri anaerobi - Le procedure qui descritte sono adatte esclusivamente per i bacilli gram-negativi anaerobi facoltativi e aerobi.
- Quando si ottiene una bassa probabilità di identificazione (< 85%) possono essere necessari altri test per ottenere l'identificazione finale (consultare il programma di Ricerca del biotipo MicroScan® o il manuale di microbiologia).
- L'interpretazione dei risultati dei test richiede personale clinico addestrato che, se necessario, utilizzi il proprio giudizio, le proprie conoscenze e altri test di conferma prima di accettare l'identificazione di un microrganismo.
- I numeri di biotipo non devono essere utilizzati per l'identificazione del fenotipo di ceppi isolati da vari campioni dello stesso paziente.
- I risultati ottenuti con le combinazioni microrganismo/agente antimicrobico elencate sotto, hanno mostrato MIC discrepanti rispetto al metodo di riferimento overnight. Se l'agente antimicrobico è critico per la cura del paziente, deve essere utilizzato un procedimento alternativo.

Organismo	Farmaci per i quali, se critici per la salute del paziente, deve essere usato un metodo alternativo	Farmaci che non saranno riportati ¹
<i>Shigella</i> spp.	Ampicillina	
<i>Acinetobacter</i> spp.		Colistina Ciprofloxacina (Solo EUCAST) Imipenem ² Piperacillina/ Tazobactam Tigeciclina
<i>Aeromonas</i> spp.		Doripenem
<i>B. pseudomallei</i>		Amoxicillina/ K Clavulanato
Gruppo <i>C. freundii</i>		Ampicillina/ Subactam (Solo EUCAST)
<i>C. koseri</i>		Piperacillina (Solo EUCAST)
<i>E. aerogenes</i>		Ampicillina/ Subactam (Solo EUCAST)
<i>E. cloacae</i>		Ampicillina/ Subactam (Solo EUCAST) Colistina Cloramfenicolo (Solo EUCAST) Acido nalidixico
<i>Klebsiella</i> spp.		Mecillinam
<i>K. pneumoniae</i>		Acido nalidixico
<i>M. morgani</i>		Cefotaxime Cloramfenicolo (Solo EUCAST)

Organismo	Farmaci per i quali, se critici per la salute del paziente, deve essere usato un metodo alternativo	Farmaci che non saranno riportati ¹
Non-Enterobacteriaceae		Gatifloxacina Tigeciclina
Altri Non-Enterobacteriaceae (tranne <i>Pseudomonas</i> spp.)		Colistina Ticarcillina/ K Clavulanato (Solo EUCAST)
<i>P. shigelloides</i>		Doripenem
<i>P. mirabilis</i>		Cloramfenicolo (Solo EUCAST) Tigeciclina
<i>P. aeruginosa</i>		Gatifloxacina Moxifloxacina Ticarcillina/ K Clavulanato (Solo CLSI) Tigeciclina
<i>Salmonella</i> spp.		Colistina
<i>Serratia</i> spp.		Cefotaxime
<i>S. marcescens</i>		Cefpodoxime (Solo EUCAST) Cloramfenicolo (Solo EUCAST)
<i>S. maltophilia</i>		Cefoperazone/ Subactam Mezlocillin Piperacillina Piperacillina/ Tazobactam Ticarcillina Tigeciclina
<i>Vibrio</i> spp. (incluso <i>V. cholerae</i>)		Doripenem

- Se la stampa non è impedita da LabPro il risultato deve essere eliminato manualmente. Per istruzioni, consultare la Guida per l'operatore di LabPro per istruzioni.
- Non riportare un risultato di sensibilità o intermedio per Imipenem. I risultati resistenti possono essere segnalati.

- I risultati dei test comparativi tra pannelli Gram negativi disidratati MicroScan® e pannelli di riferimento overnight CLSI congelati non concordavano con gli intervalli di controllo di qualità CLSI accettabili per *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* 35218 e *P. aeruginosa* ATCC 27853 con alcuni agenti antimicrobici.
- Le prestazioni dei metodi alternativi sono state confrontate con i risultati ottenuti con i pannelli disidratati letti manualmente utilizzando il metodo di inoculo di torbidità standard.
- autoSCAN®-4 risultati ottenuti con *P. aeruginosa* isolati da pazienti con fibrosi cistica hanno mostrato MIC discrepanti rispetto al metodo di riferimento overnight. A causa del potenziale di crescita minimo con *P. aeruginosa* da pazienti con fibrosi cistica, i risultati delle MIC per questi isolati devono essere ottenuti leggendo i pannelli manualmente o con uno strumento WalkAway®.
- È possibile osservare MIC elevate con antibiotici beta-lattamici (es. aztreonam) inoculando eccessivamente i pannelli con microrganismi quali *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* spp., *Proteus* spp., *Morganella* spp. e *Providencia* spp. La concentrazione

dell'inoculo è fondamentale con questi antibiotici in quanto il loro meccanismo di azione blocca la sintesi della parete cellulare batterica. Prestare attenzione alla preparazione dell'inoculo, in particolare con i metodi manuali "tecnica-dipendenti" come il sistema Prompt preparato senza l'aiuto di un dispositivo fotometrico.

11. I responsabili della salute pubblica devono essere avvertiti riguardo tutti gli isolamenti presuntivi di *B. anthracis*, *Brucella* spp., *Y. pestis*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* o *F. tularensis*. La conferma dell'isolamento di tali batteri può richiedere analisi specializzate disponibili esclusivamente in laboratori di riferimento o di salute pubblica. Refertare solo ceftazidime, tetraciclina, Imipenem e Trimetoprim-Sulfametossazolo per *B. pseudomallei* e solo Gentamicina, Tetraciclina, Ciprofloxacina, Cloramfenicolo e Trimetoprim-Sulfametossazolo per *Y. pestis*.²⁴
12. La capacità dei pannelli gram negativi disidratati MicroScan® di rilevare la resistenza all'acido nalidixico in ceppi di *Salmonella* è sconosciuta poiché i ceppi resistenti non erano disponibili al momento del test comparativo. Utilizzare un metodo alternativo.
13. Alcuni ceppi mucoidi di organismi come *Klebsiella* spp. or *Pseudomonas* spp. potrebbero non aderire alla bacchetta Prompt quando si tenta di prelevare la colonia. Questo fenomeno sarà visivamente evidente. Per questi organismi utilizzare un metodo alternativo di preparazione dell'inoculo.
14. La capacità dei pannelli gram negativi disidratati MicroScan® di rilevare la resistenza a Tigeciclina e Colistina è sconosciuta poiché al momento del test comparativo non erano disponibili ceppi resistenti.
15. La MIC per *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, gruppi CDC EO-2, HB-5, EF-4A e EF-4B, *Eikenella corrodens*, specie *Kingella*, *Moraxella atlantae*, *Moraxella lacunata*, *Moraxella non-liquefaciens*, *Moraxella osloensis*, specie *Moraxella*/specie *Psychrobacter*, *Psychrobacter* (*M.*) *phenylpyruvicus*, *Oligella urethralis*, *Oligella ureolytica*, specie *Pasteurella*, *Mannheimia* (*P.*) *haemolytica*, specie *Myroides*, specie *Roseomonas*, *Neisseria elongata* e specie *Neisseria weaveri* è controindicata per l'uso e non deve essere segnalata

Risultati fuorvianti

La norma CLSI M07-A9 indica che possono verificarsi risultati pericolosamente fuorvianti quando vengono analizzati alcuni agenti antimicrobici rispetto a microrganismi specifici.

Queste combinazioni includono:

- a. Cefalosporine di prima e seconda generazione e aminoglicosidi rispetto a *Salmonella* e *Shigella* spp.
- b. Antimicrobici beta-lattamici per *Y. pestis*.

Il sistema LabPro refererà solo la MIC, e non l'interpretazione, quando si verificano le combinazioni antimicrobico/microrganismo elencate in precedenza.

Prestazioni del pannello

Le caratteristiche dei pannelli disidratati MicroScan® sono state stabilite con valutazioni in vari laboratori clinici. Lo screening di cefoxitina e oxacillina è stato valutato su un pannello disidratato MicroScan® utilizzando il metodo dello standard di torbidità e sono stati letti manualmente. Questi risultati sono stati confrontati con il metodo MIC in microdiluzione.

Riproducibilità

Sono stati eseguiti studi multicentrici di riproducibilità per confermare le prestazioni del prodotto in accordo con la metodica descritta nel manuale di procedura.

Dichiarazione di garanzia

Questi prodotti sono garantiti per funzionare, come descritto nella loro etichettatura e nella letteratura MicroScan se usati secondo le istruzioni. NON CI SONO GARANZIE OLTRE ALLA PRESENTE GARANZIA ESPLICITA E BECKMAN COULTER NON RICONOSCE LE GARANZIE DI COMMERCIALIZZABILITÀ O DI IDONEITÀ PER UNO SCOPO PARTICOLARE. L'unico obbligo di Beckman Coulter e il risarcimento esclusivo dell'acquirente in caso di violazione di questa garanzia sarà, a discrezione di Beckman Coulter, riparare o sostituire i prodotti. In nessun caso Beckman Coulter sarà responsabile per eventuali danni diretti, incidentali o consequenziali in relazione ai prodotti.