



XLVII  
CONGRESSO  
NAZIONALE  
AMCLI

10-13 Novembre 2018  
Palacongressi Rimini

## **IMPATTO DEI TEST DI SENSIBILITÀ SUI FLUSSI DI LAVORO E CONTROLLO DI QUALITÀ**

*Nuovi e vecchi antibiotici per nuovi e  
vecchi patogeni:  
spettro d'azione e criticità  
metodologiche dei test di sensibilità*

*Nicoletta Corbo  
U.O.C. Microbiologia e Virologia  
ASST di Lecco*

# Metodi automatici per la determinazione della MIC



VITEK 2 (bioMérieux)

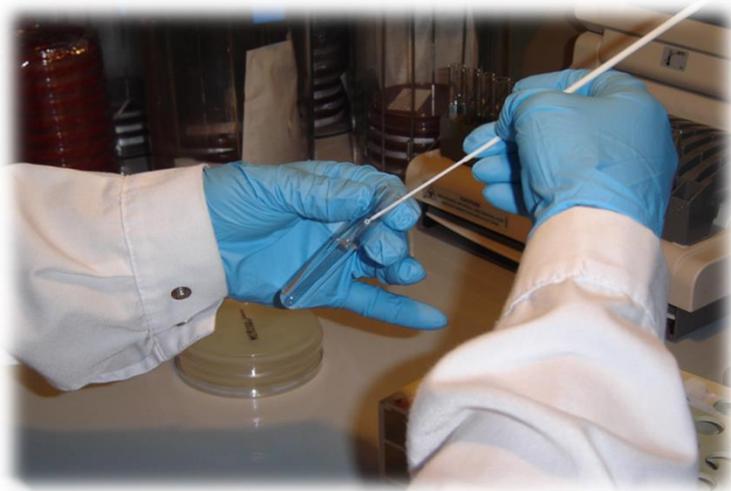


Phoenix (Becton Dickinson)



MicroScan WalkAway Plus (Beckman)

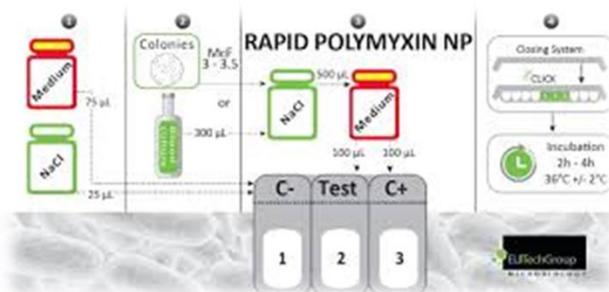
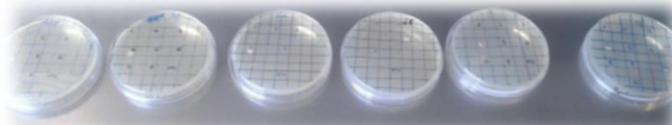
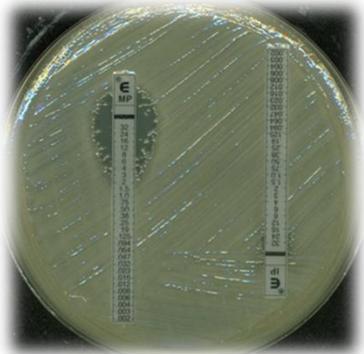
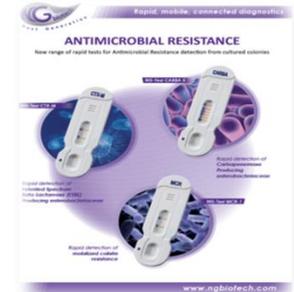
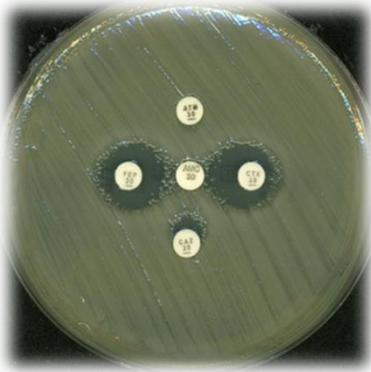




VITEK 2 (bioMérieux)



Rimini, 10 novembre 2018



Rimini, 10 novembre 2018

# GLICOPEPTIDI

```
graph LR; A[GLICOPEPTIDI] --- B[Vancomicina]; A --- C[Teicoplanina]
```

Vancomicina

Teicoplanina

<b>Informazioni sull'identificazione</b>	
<b>Microrganismo selezionato</b>	Enterococcus faecium
	Imnesso: 13-feb-2017 12:28 CET Da: Download
<b>Messaggi di analisi:</b>	

<b>Informazioni sull'antibiogramma</b>	<b>Card:</b> AST-P586	<b>Numero di lotto:</b> 3660095403	<b>Scade:</b> 1-mar-2018 12:00 CET		
	<b>Completato:</b> 14-feb-2017 01:03 CET	<b>Stato:</b> Finale	<b>Tempo di analisi:</b> 12,25 ore		
<b>Antimicrobico</b>	<b>MIC</b>	<b>Interpretazione</b>	<b>Antimicrobico</b>	<b>MIC</b>	<b>Interpretazione</b>
Benzilpenicillina			Eritromicina	>= 8	R
Ampicillina	>= 32	R	Clindamicina	4*	R
Ampicillina/sulbactam	16	R	Chinupristina/Dalfopristina	0,5	S
Cefuroxime	>= 64	R	Linezolid	>= 8	R
Cefuroxime Axetil			Teicoplanina	>= 32	R
Imipenem	>= 16	R	Vancomicina	>= 32	R
Gentamicina ad alto dosaggio (sinergia)	SYN-R	R	Tetraciclina		
Streptomina ad alto dosaggio (sinergia)	SYN-R	R	Tigeciclina	<= 0,12	S
Levofloxacina	>= 8	R	Nitrofurantoina	64	S
Moxifloxacina			Trimetoprim/Sulfametossazolo	>= 320	R

+= Antibiotici dedotti \*= Modificato AES \*\*= Modificato utente

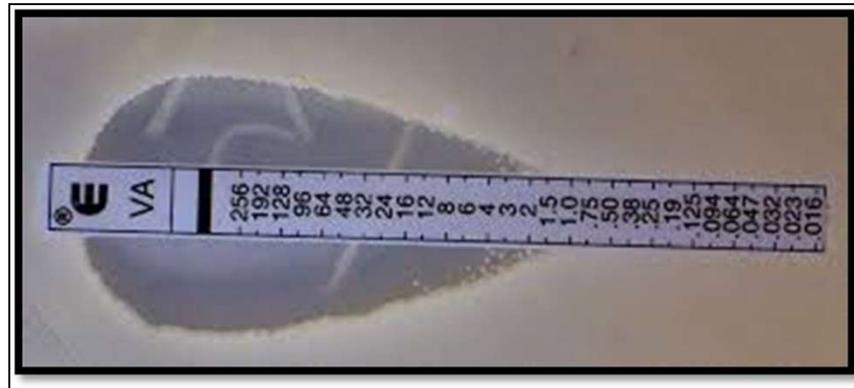
Per alcuni microrganismi quali:  
*Enterococcus faecium*,  
*Enterococcus faecalis*,  
la conferma - mediante  
determinazione del  
gradiente di concentrazione in  
agar (Etest) -  
della resistenza alla vancomicina e  
alla teicoplanina  
evidenziata dai sistemi automatici  
può essere utile per confermare la  
resistenza e  
orientare verso uno specifico  
meccanismo genetico (VanA, VanB)

Impatto dei test di sensibilità sui flussi di lavoro

## TEST FENOTIPICI: agar diffusione

Tempo di allestimento per E-Test: 15'

Tempo di incubazione: over-night



Refertazione definitiva dopo 24 h

## AST of bacteria

Organization

EUCAST News

Clinical breakpoints

Expert rules and intrinsic resistance

Resistance mechanisms

Guidance documents

Consultations - New!

MIC and zone distributions and ECOFFs

### EUCAST warnings concerning antimicrobial susceptibility testing products or procedures.

The EUCAST disk diffusion development is based on products from the EUCAST development laboratory (disks, media batches, gradient strips) and is the expected standard. When this is not the case, a warning on this page is issued.

We do not systematically test all products. If there is no problem with the product in question, no warning is issued.

Laboratories which experience problems with a particular product should contact the EUCAST Development Laboratory.

#### 4. Warning against the use of vancomycin Etest™ (bioMérieux) and MTS™ (Liofilchem) for vancomycin MIC determination in *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* with low-level vancomycin resistance.

**Warning issued 10 July, 2018.**

A study performed by the Norwegian reference laboratory in Tromsø, Norway, has found that currently available gradient tests from bioMérieux and Liofilchem underestimate vancomycin MIC in low level vancomycin resistant (*E. faecalis* and *E. faecium* positive for vanA/vanB and with broth microdilution MICs of 8 - 32 mg/L) and that this causes false susceptibility in these strains. The finding has been confirmed by the EUCAST Development Laboratory. Liofilchem and bioMérieux are currently investigating the problem. The M.I.C.E from Oxoid/ThermoFisher was not part of the investigation but has now been evaluated using the same strain collection and the same conditions. The same problem has been identified for M.I.C.E.

Until this has been resolved, EUCAST warns against the use of vancomycin gradient tests to confirm low level vanB mediated resistance in *E. faecalis* and *E. faecium*. This is until further notice best confirmed by the use of PCR or the determination of MIC using broth microdilution.

However, there is good reason to remind users of disks and gradient tests of the importance of extending incubation to 24h, as recommended in guidelines.

Warnings will be removed when the issues have been solved.

Rimini, 10 novembre 2018

Impatto dei test di sensibilità sui flussi di lavoro

## TEST FENOTIPICI: microdiluzione in bordo

Tempo di allestimento: 20'

Tempo di incubazione: over night

Microdiluzione in brodo



Refertazione definitiva dopo 24 h



**Impatto dei test di sensibilità sui flussi di lavoro**

## **TEST GENETICI: biologia molecolare**

**Tempo di allestimento: 10'**

**Tempo di processazione: 1h circa**



**Refertazione definitiva dopo 2 h**

Rimini, 10 novembre 2018



## Protocollo totalmente automatizzato

### PIATTAFORMA E TEST TOTALMENTE INTEGRATI

Inserire e spezzare lo swab  
nella Vial del Sample  
reagent



1

Vortexare e versare il  
contenuto della vial  
all'interno del foro nella



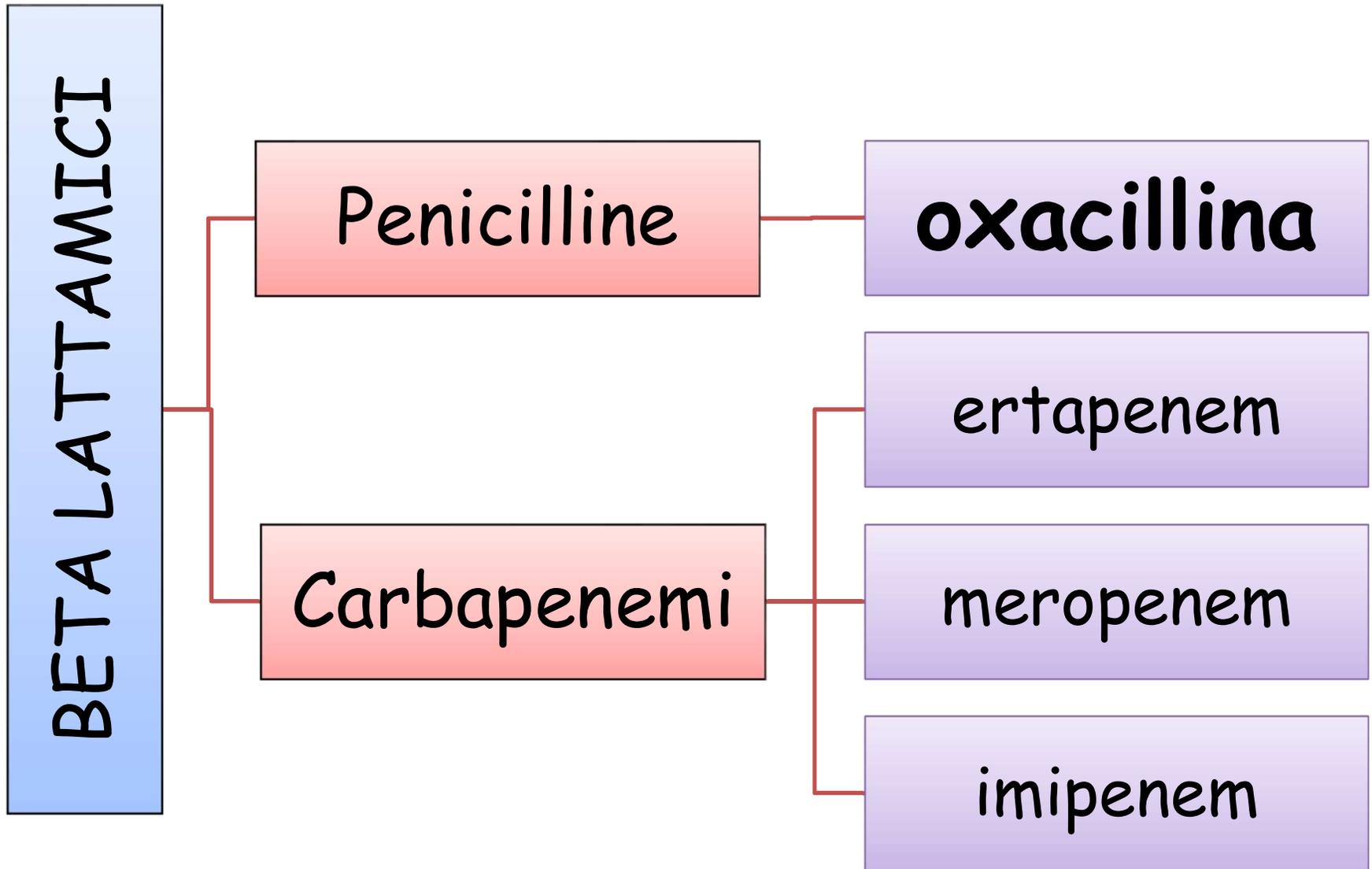
2

Inserire la cartuccia e far  
partire il test



3

Total Hands-On time <1 Minute

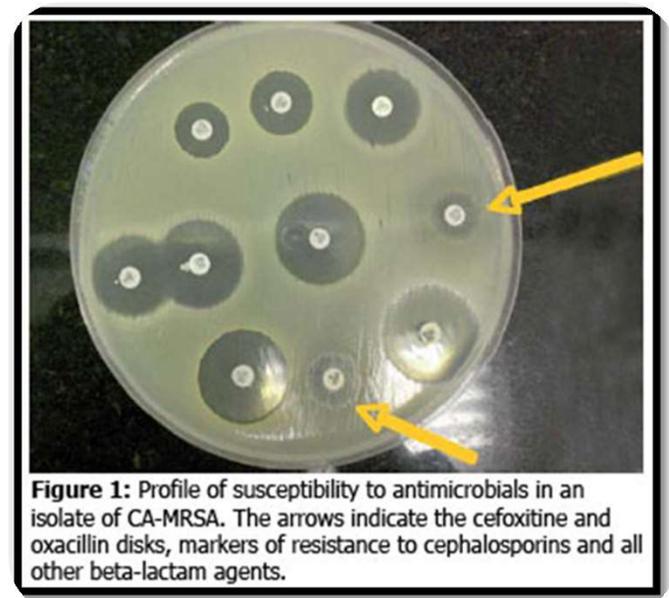
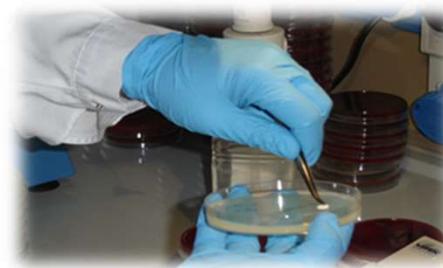


Nei casi di sospetto MRSA,  
in cui il sistema automatico  
interrompe  
il dosaggio della MIC dell'oxacillina,  
effettuare un test in agar diffusione  
secondo KB per testare l'eventuale  
resistenza alla CEFOXITINA  
è utile per stabilire con certezza  
la presenza di un MRSA

**Tempo di allestimento per KB: 15'**

**Tempo di incubazione: over-night**

**Refertazione definitiva dopo 24 h**



**Figure 1:** Profile of susceptibility to antimicrobials in an isolate of CA-MRSA. The arrows indicate the ceftazidime and oxacillin disks, markers of resistance to cephalosporins and all other beta-lactam agents.

**CONSULTARE COSTANTEMENTE LE LINEE GUIDA  
EUCAST**



**EUCAST**

EUROPEAN COMMITTEE  
ON ANTIMICROBIAL  
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

# EUCAST disk diffusion method for antimicrobial susceptibility testing

Version 5.0  
January 2015

Rimini, 10 novembre 2018

Impatto dei test di sensibilità sui flussi di lavoro

## TEST GENETICI: biologia molecolare

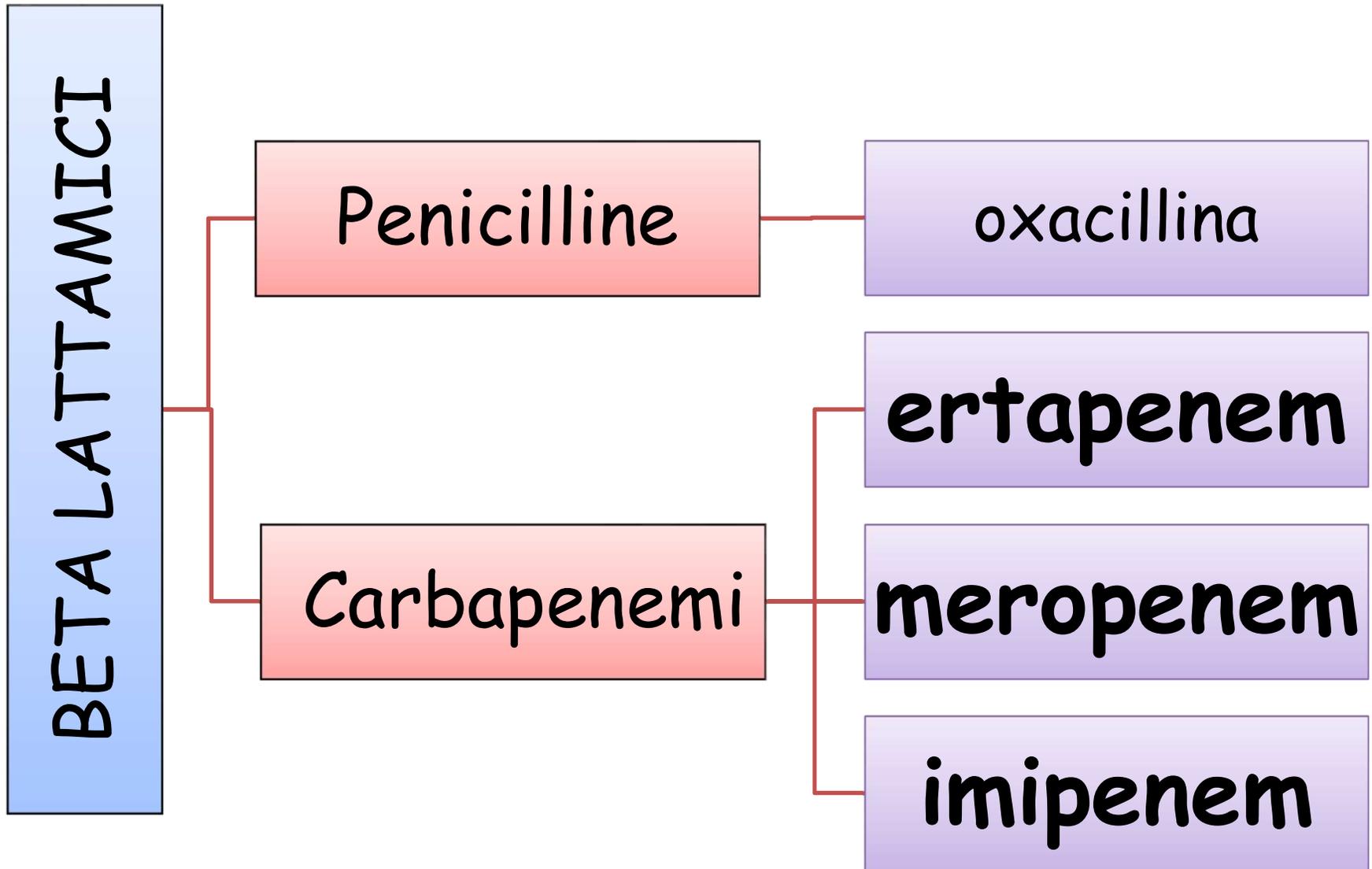
Tempo di allestimento: 10'

Tempo di processazione: 1h circa



Rimini, 10 novembre 2018

Refertazione definitiva dopo 2 h



Magellano: 3963338

Informazioni sull'identificazione	Tempo di analisi:	4,08 ore	Stato:	Finale
Organismo selezionato	99% Probabilità	Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae		
Messaggi di analisi ID	Bionumero:	6607734673560010		

Informazioni sull'antibiogramma		Tempo di analisi:		Stato:	
		9,23 ore		Finale	
Antimicrobico	MIC	Interpretazione	Antimicrobico	MIC	Interpretazione
Amoxicillina/acido clavulanico	> 16	R	Meropenem	> 8	R
Piperacillina/tazobactam	> 64	R	Amikacina	<= 2	S
Cefotaxime	8	R	Gentamicina	<= 1	S
Ceftazidime	> 32	R	Ciprofloxacina	<= 0,25	S
Cefepime	22	R	Tigeciclina	1	S
Ertapenem	> 4	R	Polistina	<= 0,5	S
Imipenem	> 8	R	Trimetoprim/Sulfametossolo	<= 20	S

+ = Antibiotici dedotti \* = Modificato AES \*\* = Modificato utente

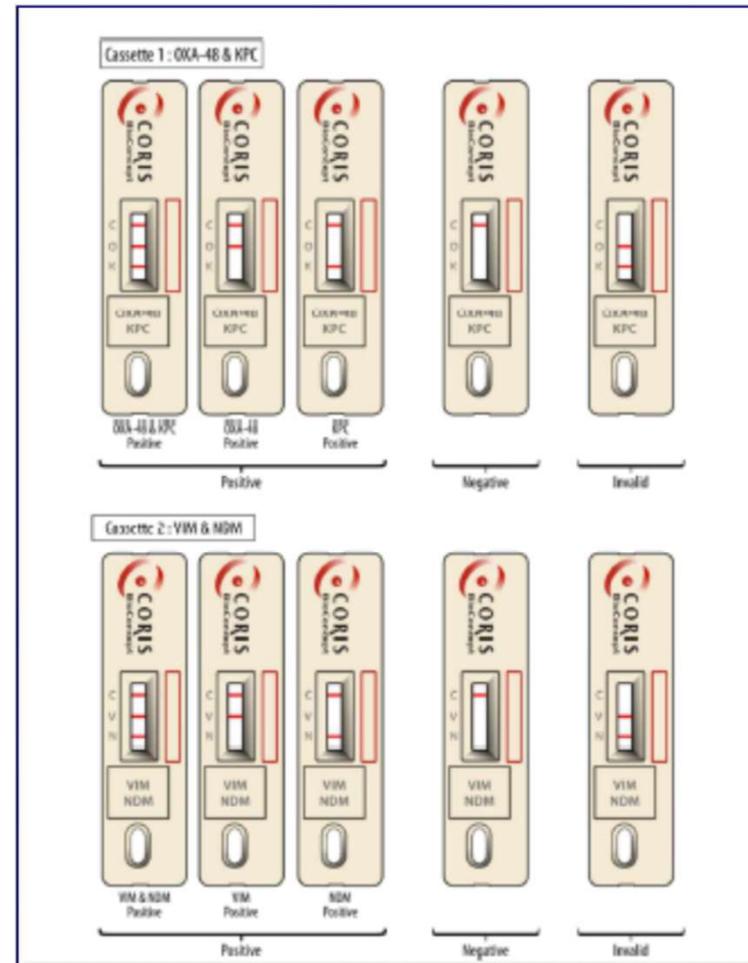
Conclusioni di AES		
Affidabilità:	Coerente	
I fenotipi presentano il flag per la revisione:	BETA-LATTAMICI	IMPERMEABILITÀ CARBA (+ESBL O +HL AmpC), CARBAPENEMASI (ESBL + O -)

Rimini, 10 novembre 2018

## TEST FENOTIPICI: immunocromatografici

Identificazione del  
determinante di resistenza

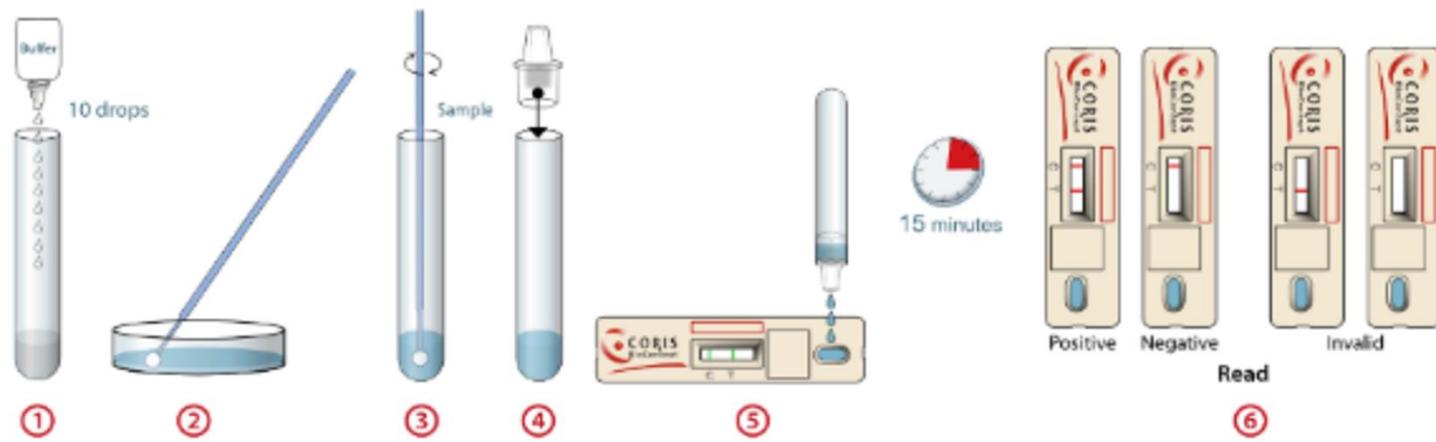
Rilevazione di KPC-NDM-OXA  
48-VIM



## Vantaggi dei kit

5 minuti di esercizio  
15 minuti di tempo di reazione  
Pronta e facile da usare

## Procedura



**Tempo di allestimento: 10'**

**Tempo di reazione: 15'**

**Tempo di refertazione: 30'**

## ANTIMICROBIAL RESISTANCE

New range of rapid tests for Antimicrobial Resistance detection from cultured colonies

**CTX-M**

NG-Test CTX-M



Rapid detection of  
Extended Spectrum  
Beta-Lactamase (ESBL)  
Producing enterobacteriaceae

NG-Test CARBA 5



Rapid detection of  
Carbapenemase  
Producing  
enterobacteriaceae

NG-Test MCR-1

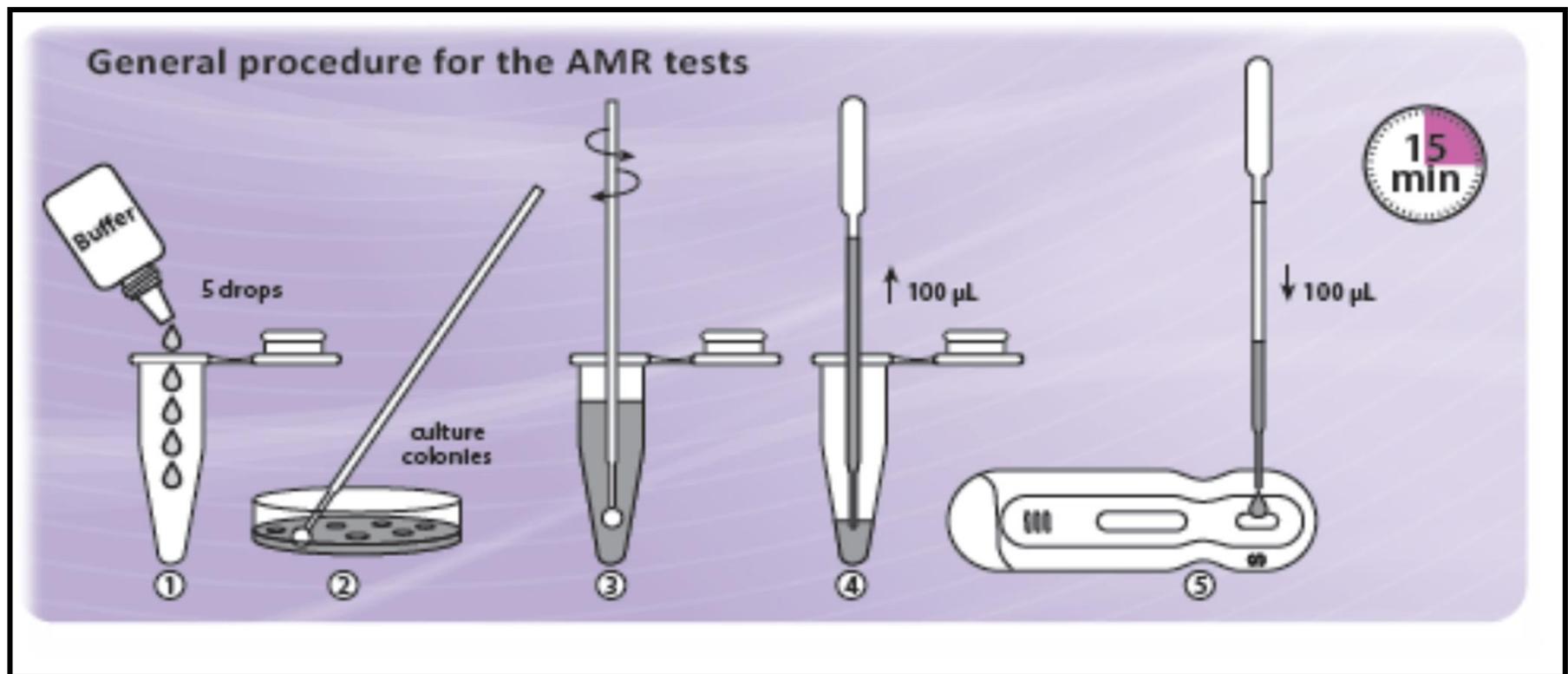


Rapid detection of  
mobilized colistin  
resistance

**CPE:**

- KPC
- VIM
- IMP
- NDM
- OXA-48

**MCR-1**



Tempo di allestimento: 10'

Tempo di reazione: 15'

Tempo di refertazione: 30'

# Impatto dei test di sensibilità sui flussi di lavoro

## TEST GENETICI: biologia molecolare

Tempo di allestimento: 10'

Tempo di processazione: 1h circa



Jun 16, 2014

[« Previous Release](#) | [Next Release »](#)  

### Cepheid Announces European Release of Xpert Carba-R, a Molecular Test for Rapid and Accurate Detection of Carbapenemase-producing Gram-negative Bacteria

On-demand molecular test detects and differentiates the genes encoding the most prevalent carbapenemases: **KPC, NDM, VIM, OXA-48 and IMP-1**

Refertazione definitiva dopo 2h

Rimini, 10 novembre 2018

## ***Klebsiella pneumoniae-KPC***

<b>Antibiotic</b>	<b>MIC mg/L(S/I/R)</b>
<b>Pip/Tazo</b>	<b>&gt;128 (R)</b>
<b>Ceftriaxone</b>	<b>&gt;64 (R)</b>
<b>Ceftazidime</b>	<b>&gt;64 (R)</b>
<b>Cefepime</b>	<b>&gt;64 (R)</b>
<b>Ertapenem</b>	<b>&gt;4 (R)</b>
<b>Imipenem</b>	<b>&gt;8 (R)</b>
<b>Meropenem</b>	<b>&gt;8 (R)</b>
<b>Amikacin</b>	<b>&gt;64 (R)</b>
<b>Gentamicin</b>	<b>≤1(S)</b>
<b>Ciprofloxacin</b>	<b>&gt;4 (R)</b>
<b>Tigecycline</b>	<b>≤0.5 (S)</b>
<b>Colistin</b>	<b>≤0.5 (S)</b>

## Enterobacteriaceae (new taxonomy: Enterobacterales\*)

EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 8.1, valid from 2018-05-15

Miscellaneous agents	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Chloramphenicol	8	8	30	17	17
Colistin <sup>1</sup>	2	2		Note <sup>A</sup>	Note <sup>A</sup>
Daptomycin	-	-		-	-
Fosfomicin iv	32 <sup>2</sup>	32 <sup>2</sup>	200 <sup>B</sup>	24 <sup>C,D</sup>	24 <sup>C,D</sup>
Fosfomicin oral (uncomplicated UTI only)	32 <sup>2</sup>	32 <sup>2</sup>	200 <sup>B</sup>	24 <sup>C,D</sup>	24 <sup>C,D</sup>
Fusidic acid	-	-		-	-
Metronidazole	-	-		-	-
Nitrofurantoin (uncomplicated UTI only), <i>E. coli</i>	64	64	100	11	11

1. La determinazione della MIC della colistina dovrebbe essere eseguita mediante microdiluizione in brodo.

A. Usa un metodo per la MIC (solo microdiluizione in brodo).

Impatto dei test di sensibilità sui flussi di lavoro

**TEST FENOTIPICI: microdiluzione in bordo**

Tempo di allestimento : 20'

Tempo di incubazione: over night

Microdiluzione in brodo



Refertazione definitiva dopo 24 h



Rimini, 10 novembre 2018

OXAZOLIDINONI

Linezolid

<b>Informazioni sull'identificazione</b>					
Microorganismo selezionato			Enterococcus faecium		
			Imnesso: 13-feb-2017 12:28 CET Da: Download		
Messaggi di analisi:					
<b>Informazioni sull'antibiogramma</b>		Card:	AST-P586	Numero di lotto:	3660095403
		Scade:	1-mar-2018 12:00 CET	Stato:	Finale
		Completato:	14-feb-2017 01:03 CET	Tempo di analisi:	12,25 ore
<b>Antimicrobico</b>	<b>MIC</b>	<b>Interpretazione</b>	<b>Antimicrobico</b>	<b>MIC</b>	<b>Interpretazione</b>
Benzilpenicillina			Eritromicina	>= 8	R
Ampicillina	>= 32	R	Clindamicina	4*	R
Ampicillina/sulbactam	16	R	Chinupristina/Dalfopristina	0,5	S
Cefuroxime	>= 64	R	Linezolid	>= 8	R
Cefuroxime Axetil			Teicoplanina	>= 32	R
Imipenem	>= 16	R	Vancomicina	>= 32	R
Gentamicina ad alto dosaggio (sinergia)	SYN-R	R	Tetraciclina		
Streptomicina ad alto dosaggio (sinergia)	SYN-R	R	Tigeciclina	<= 0,12	S
Levofloxacina	>= 8	R	Nitrofurantoina	64	S
Moxifloxacina			Trimetoprim/Sulfametossazolo	>= 320	R
+= Antibiotici dedotti * = Modificato AES ** = Modificato utente					

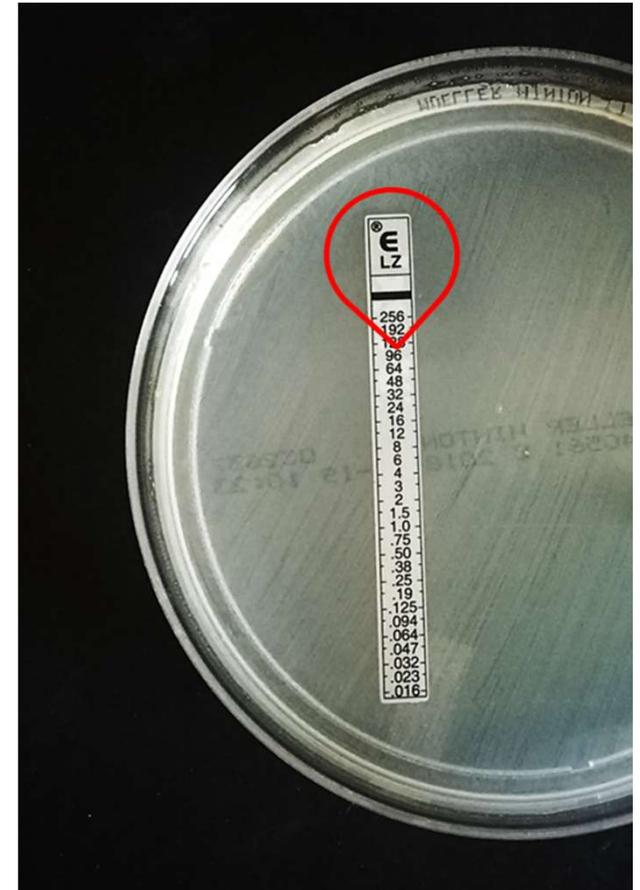
Rimini, 10 novembre 2018

Impatto dei test di sensibilità sui flussi di lavoro

## TEST FENOTIPICI: agar diffusione

Tempo di allestimento per E-Test: 15'

Tempo di incubazione: over-night



Refertazione definitiva dopo 24 h

Rimini, 10 novembre 2018

**MOLECOLE LAST  
RESOURCE**

**Colistina**

**Tigeciclina**

**Fosfomicina**

**GLOBAL PRIORITY LIST OF ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA  
TO GUIDE RESEARCH, DISCOVERY, AND DEVELOPMENT OF  
NEW ANTIBIOTICS**

**WHO PRIORITY PATHOGENS LIST  
FOR R&D OF NEW ANTIBIOTICS**

**Priority 1: CRITICAL**

*Acinetobacter baumannii*, carbapenem-resistant

*Pseudomonas aeruginosa*, carbapenem-resistant

*Enterobacteriaceae*, carbapenem-resistant, 3<sup>rd</sup> generation  
cephalosporin-resistant



World Health  
Organization

## Enterobacteriaceae (new taxonomy: Enterobacterales\*)

EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 8.1, valid from 2018-05-15

Miscellaneous agents	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Chloramphenicol	8	8	30	17	17
Colistin <sup>1</sup>	2	2		Note <sup>A</sup>	Note <sup>A</sup>
Daptomycin	-	-		-	-
Fosfomicin iv	32 <sup>2</sup>	32 <sup>2</sup>	200 <sup>B</sup>	24 <sup>C,D</sup>	24 <sup>C,D</sup>
Fosfomicin oral (uncomplicated UTI only)	32 <sup>2</sup>	32 <sup>2</sup>	200 <sup>B</sup>	24 <sup>C,D</sup>	24 <sup>C,D</sup>
Fusidic acid	-	-		-	-
Metronidazole	-	-		-	-
Nitrofurantoin (uncomplicated UTI only), <i>E. coli</i>	64	64	100	11	11

1. La determinazione della MIC della colistina dovrebbe essere eseguita mediante microdiluizione in brodo.

A. Usa un metodo per la MIC (solo microdiluizione in brodo).

False non-susceptible results of tigecycline susceptibility testing against *Enterobacteriaceae* by an automated system: a multicentre study

Evgeny A. Idelevich,<sup>1</sup> Marina Büsing,<sup>1</sup> Alexander Mischnik,<sup>2†</sup> Martin Kaase,<sup>3</sup> Isabelle Bekeredjian-Ding<sup>4‡</sup> and Karsten Becker<sup>1</sup>

Lo studio ha dimostrato una alta percentuale di risultati falsamente non-sensibili per la tigeciclina con il Vitek2. Gli isolati non-sensibili alla tigeciclina dovrebbero essere ritestati con una metodica di microdiluzione in brodo.

Our study has demonstrated a high rate of false non-susceptible Vitek 2 tigecycline categorization for *Enterobacteriaceae*, which is in line with other recent reports (Huang *et al.*, 2012; Zarkotou *et al.*, 2012; Marchaim *et al.*, 2014). Because of the false results, patients infected with multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* might be deprived of one of few remaining therapeutic options. Clinical laboratories should be aware of this failure, and isolates reported as non-susceptible by Vitek 2 should be re-tested by other method in particular when tigecycline represents a treatment option. Verification of such Vitek 2 results is recommended with BMD. The use of freshly ( $\leq 12$  h) prepared broth is required for tigecycline

000281 © 2016 The Authors

*Journal of Medical Microbiology* 65

Rimini, 10 novembre 2018

## Appendice 2.a. Resistenze per materiali

### *Emocolture 2016*

I isolato 2016		paz. testati	paz. R	% R	paz. IR	
Microrganismo	Antibiotico					
<i>Klebsiella pneumoniae</i> n. pazienti 1.204	amoxicillina-acido clavulanico	1.202	613	51,0	617	51,3
	piperacillina-tazobactam	1.182	482	40,8	597	50,5
	cefalosporine III generazione	1.203	576	47,9	600	49,9
	fluorochinoloni	1.204	560	46,5	598	49,7
	gentamicina	1.203	271	22,5	411	34,2
	amikacina	1.204	198	16,4	292	24,3
	imipenem/meropenem	1.066	250	23,5	255	23,9
	ertapenem	700	179	25,6	187	26,7
	colistina	845	49	5,8	49	5,8
	tigeciclina §	394	31	7,9	63	16,0

§ La percentuale di isolati resistenti o con sensibilità intermedia alla tigeciclina potrebbe essere sovrastimata a causa della metodica analitica utilizzata.

# Impatto dei test di sensibilità sui flussi di lavoro

## TEST FENOTIPICI: microdiluzione in brodo

Tempo di allestimento : 20'

Tempo di incubazione: over night

Microdiluzione in brodo



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	MERO 0.12	MERO 0.25	MERO 0.5	MERO 1	MERO 2	MERO 4	MERO 8	MERO 16	AMI 4	AMI 8	AMI 16	AMI 32
B	GEN 0.5	GEN 1	GEN 2	GEN 4	GEN 8	AZT 0.5	AZT 1	AZT 2	AZT 4	AZT 8	AZT 16	AZT 32
C	CIP 0.06	CIP 0.12	CIP 0.25	CIP 0.5	CIP 1	CIP 2	P/T4 1/4	P/T4 2/4	P/T4 4/4	P/T4 8/4	P/T4 16/4	P/T4 32/4
D	AUGC 4/2	AUGC 8/2	AUGC 16/2	AUGC 32/2	AUGC 64/2	C/T 0.5/4	C/T 1/4	C/T 2/4	C/T 4/4	C/T 8/4	C/T 16/4	C/T 32/4
E	COL 0.25	COL 0.5	COL 1	COL 2	COL 4	COL 8	FOT 0.5	FOT 1	FOT 2	FOT 4	FOT 8	TOB 1
F	TGC 0.25	TGC 0.5	TGC 1	TGC 2	TGC 4	SXT 1/19	SXT 2/38	SXT 4/76	SXT 8/152	TOB 2	TOB 4	TOB 8
G	TAZ 0.5	TAZ 1	TAZ 2	TAZ 4	TAZ 8	TAZ 16	CZA 0.5/4	CZA 1/4	CZA 2/4	CZA 4/4	CZA 8/4	NEG 16/4
H	IMI 0.5	IMI 1	IMI 2	IMI 4	IMI 8	IMI 16	ETP 0.12	ETP 0.25	ETP 0.5	ETP 1	ETP 2	POS

Pannello Gram-negativi MDR



Refertazione definitiva dopo 24 h

Rimini, 10 novembre 2018

# VITEK®2 64 WELLS CARD & VITEK®2 OPUS CARD COMPARISON



## VITEK®2 AST cards



64 wells → ~ 18-22 drugs/card

## VITEK®2 OPUS AST cards



104 wells → ~ 28-34 drugs/card

104 wells → ~ 28-34 drugs/card



MOLECOLE LAST  
RESOURCE

Colistina

Tigeciclina

Fosfomicina

## Enterobacteriaceae (new taxonomy: Enterobacterales\*)

EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 8.1, valid from 2018-05-15

Miscellaneous agents	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Chloramphenicol	8	8	30	17	17
Colistin <sup>1</sup>	2	2		Note <sup>A</sup>	Note <sup>A</sup>
Daptomycin	-	-		-	-
Fosfomicin iv	32 <sup>2</sup>	32 <sup>2</sup>	200 <sup>B</sup>	24 <sup>C,D</sup>	24 <sup>C,D</sup>

2. L'agar-diluizione è il metodo di riferimento per la fosfomicina. La MIC deve essere valutata in presenza di glucoso-6-fosfato (25 mg/L). Per i sistemi commerciali vanno seguite le istruzioni del produttore.

B. I dischi di fosfomicina contengono 50 µg di glucoso-6-fosfato.

C. Gli aloni di inibizione si applicano solo ad *E. coli* (per gli altri enterobatteri va utilizzato un metodo per la MIC).

D. Le colonie isolate all'interno dell'alone di inibizione non vanno considerate.

## Discrepancies in fosfomycin susceptibility testing of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* with various commercial methods

Giulio Camarlinghi<sup>a</sup>, Eva Maria Parisio<sup>a</sup>, Alberto Antonelli<sup>b</sup>, Maria Nardone<sup>a</sup>, Marco Coppi<sup>b</sup>, Tommaso Giani<sup>b</sup>, Romano Mattei<sup>a</sup>, Gian Maria Rossolini<sup>b,c,\*</sup>

Fosfomycin susceptibility testing with Sensititre, Vitek2, Etest, Mic Strip Test and disk diffusion methodologies was compared versus reference agar dilution method (AD) with 78 clinical isolates of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. All methodologies showed a Categorical Agreement and Essential Agreement of  $\leq 69\%$  and  $\leq 72\%$ , respectively, revealing a very low concordance with AD.

Tutte le metodologie testate (Sensititre, Vitek 2, Etest, MIC Strip Test, diffusione da disco) mostravano una bassa concordanza rispetto al metodo di riferimento (agar- diluizione).

In particolare, Sensititre ed Etest avevano alte percentuali di VME e presumibilmente tendono a sottostimare i valori.

Vitek 2, il MIC Strip Test e la diffusione da disco avevano alte percentuali di ME e quindi tendono a sovrastimare i valori di MIC.

## Susceptibility of ESBL *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* to fosfomicin in the Netherlands and comparison of several testing methods including Etest, MIC test strip, Vitek2, Phoenix and disc diffusion

Wouter van den Bijlaardt <sup>1,2\*</sup>, Maarten J. Schijffelen<sup>3</sup>, Ron W. Bosboom<sup>4</sup>, James Cohen Stuart<sup>5</sup>, Bram Diederer<sup>6</sup>, Greetje Kampinga<sup>7</sup>, Thuy-Nga Le<sup>8</sup>, Ilse Overdeest<sup>9</sup>, Frans Stals<sup>10</sup>, Paul Voorn<sup>11</sup>, Karola Waar<sup>12</sup>, Johan W. Mouton<sup>2</sup> and Anouk E. Muller<sup>2,13</sup>

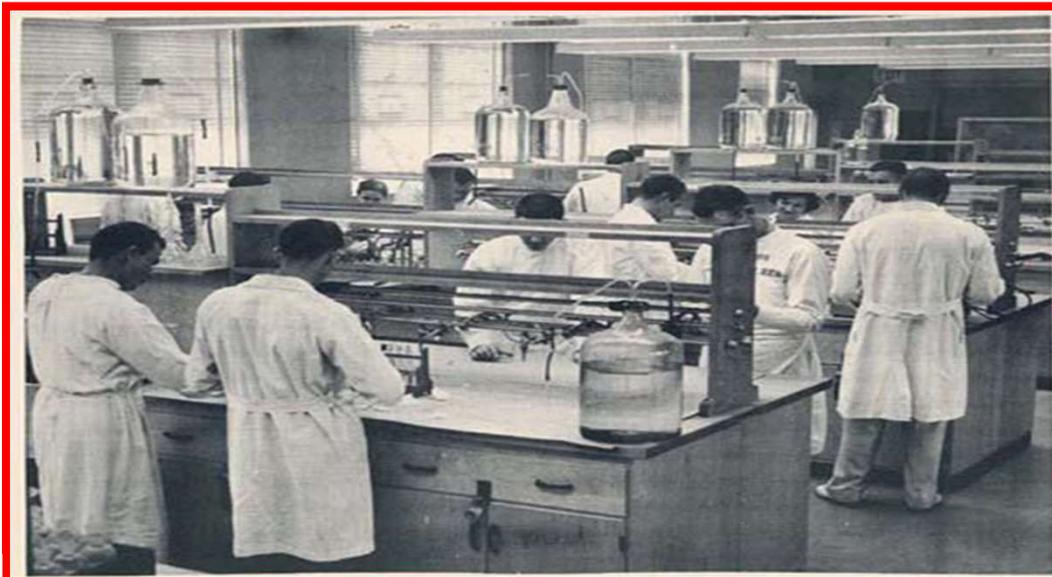
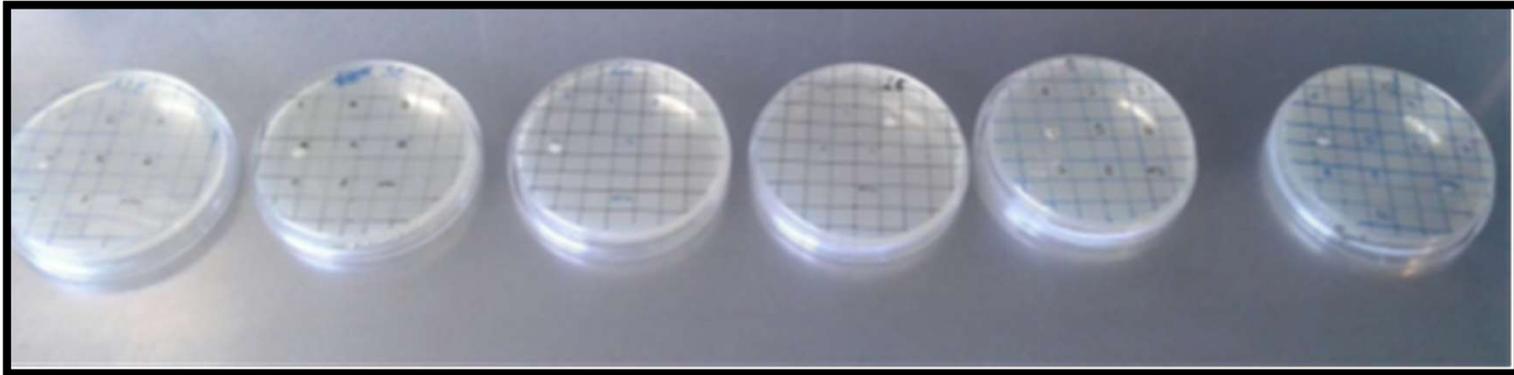
**Results:** In total, 775 *E. coli* and 201 *K. pneumoniae* isolates were tested by agar dilution. The ECOFF was 2 mg/L for *E. coli* and 64 mg/L for *K. pneumoniae*. Susceptibility rates based on the EUCAST breakpoint of  $\leq 32$  mg/L were 95.9% for *E. coli* and 87.6% for *K. pneumoniae*. Despite high categorical agreement rates for all methods, notably in *E. coli*, none of the alternative antimicrobial susceptibility testing methods performed satisfactorily. Due to poor detection of resistant isolates, very high error rates of 23.3% (Etest), 18.5% (MTS), 18.8% (Vitek2), 12.5% (Phoenix) and 12.9% (disc diffusion) for *E. coli* and 22.7% (Etest and MTS), 16.0% (Vitek2) and 12% (Phoenix) for *K. pneumoniae* were found. None of the methods adequately differentiated between WT and non-WT populations.

Nessuna delle metodologie testate (Vitek 2, Phoenix, Etest, MIC Strip Test, diffusione da disco) rappresenta una opzione utilizzabile come alternativa all'agar-diluizione per la determinazione della MIC della fosfomicina nella routine di laboratorio.

Impatto dei test di sensibilità sui flussi di lavoro

## TEST FENOTIPICI: agar diluizione

Fosfomicina



Rimini, 10 novembre 2018

Informazioni sull'antibiogramma		Tempo di analisi: 11,52 ore		Stato: Finale	
Antimicrobico	MIC	Interpretazione	Antimicrobico	MIC	Interpretazione
Amoxicillina/acido clavulanico	8	S	Amikacina	<= 2	S
Piperacillina/tazobactam	<= 4	S	Gentamicina	<= 1	S
Cefotaxime	<= 1	S	Ciprofloxacina	0,25	S
Ceftazidime	<= 1	S	Tigeciclina	<= 0,5	S
Cefepime	<= 1	S	Fosfomicina	128	R
Ertapenem	<= 0,5	S	Trimetoprim/Sulfametossazolo	<= 20	S
Imipenem	<= 0,25	S			
Meropenem	<= 0,25	S			

+= Antibiotici dedotti \* = Modificato AES \*\* = Modificato utente

Conclusioni di AES	
Affidabilità:	Coerente

Mypersonaltrainer



Informazioni sull'antibiogramma		Tempo di analisi: 9,48 ore		Stato: Finale	
Antimicrobico	MIC	Interpretazione	Antimicrobico	MIC	Interpretazione
Amoxicillina/acido clavulanico	4	S	Meropenem	<= 0,25	S
Piperacillina/tazobactam	<= 4	S	Amikacina	<= 2	S
Cefotaxime	<= 1	S	Gentamicina	<= 1	S
Ceftazidime	<= 1	S	Ciprofloxacina	<= 0,25	S
Cefepime	<= 1	S	Tigeciclina	<= 0,5	S
Ertapenem	<= 0,5	S	Trimetoprim/Sulfametossazolo	<= 20	S
Imipenem	<= 0,25	S			

+= Antibiotici dedotti \* = Modificato AES \*\* = Modificato utente

Conclusioni di AES	
Affidabilità:	Coerente

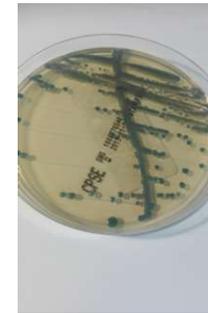
Rimini, 10 novembre 2018

## 1° CASO

CAMPIONE BIOLOGICO: **Urine**

DATI CLINICI: **Pz. 86 anni Temperatura >38°C**

ESAMI DI LABORATORIO: **Urinocoltura positiva per *Klebsiella pneumoniae***



## ID e ABG con VITEK 2

A screenshot of the VITEK 2 software interface displaying antibiotic susceptibility results. A red arrow points to the table. The table lists various antibiotics, their MIC values, and their interpretation (R for resistant, S for susceptible).

Antibiotico	MIC	Interpr...	Antibiotico	MIC	Interpr...	Antibiotico	MIC	Interpr...
ESBL	NEG	-	Ertapenem	>4	R	Tigeciclina	2	S
Amoxicillina/acido clavulanico	>16	R	Meropenem	>8	R	Fosfomicina	>128	R
Piperacillina/tazobactam	>64	R	Amikacina	32	R	Nitrofurantoina		
Cefotaxime	>32	R	Gentamicina	>8	R	Colistina	≤0,5	S
Ceftazidime	>32	R	Ciprofloxacina	>2	R	Trimetoprim/Sulfametossazolo	80	S

# Validation of Sensititre Dry-Form Broth Microdilution Panels for Susceptibility Testing of Ceftazidime-Avibactam, a Broad-Spectrum- $\beta$ -Lactamase Inhibitor Combination

Ronald N. Jones,<sup>a</sup> Nicole M. Holliday,<sup>b</sup> Kevin M. Krause<sup>c</sup>

Ceftazidime-avibactam is a broad-spectrum- $\beta$ -lactamase inhibitor combination in late-stage clinical development for the treatment of serious infections. In preparation for clinical microbiology laboratory use, a validation experiment was initiated to evaluate a commercial broth microdilution product (Sensititre dried MIC susceptibility system) compared to reference panels using 525 recent clinical isolates. Among 11 pathogen groups, all had Sensititre MIC/reference MIC ratios predominantly at 1 (47.5% to 97.5%), and automated and manual endpoint results did not differ. *Enterobacteriaceae* MIC comparisons showed a modest skewing of Sensititre MIC results toward an elevated MIC (33.9%), but the essential agreement was 98.9% with 100.0% reproducibility. In conclusion, Sensititre panels produced accurate ceftazidime-avibactam MIC results, allowing quality MIC guidance for therapy following regulatory approvals.

I pannelli Sensititre producevano accurati risultati di MIC per il ceftazidime-avibactam: **essential agreement per gli enterobatteri pari al 98.9%** con il 100 % di riproducibilità.

August 2015 Volume 59 Number 8

Antimicrobial Agents and Chemotherapy

Rimini, 10 novembre 2018

# Verification of Ceftazidime-Avibactam and Ceftolozane-Tazobactam Susceptibility Testing Methods against Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*

Ryan K. Shields,<sup>a,b</sup> Cornelius J. Clancy,<sup>a,b,c</sup> A. William Pasculle,<sup>a,d</sup> Ellen G. Press,<sup>a</sup>  Ghady Haidar,<sup>a</sup> Binghua Hao,<sup>b</sup> Liang Chen,<sup>e</sup> Barry N. Kreiswirth,<sup>e</sup> M. Hong Nguyen<sup>a,b</sup>

**TABLE 2** Essential and categorical agreement between BMD and Etest or disk diffusion for testing susceptibility to ceftazidime-avibactam and ceftolozane-tazobactam<sup>a</sup>

Drug, pathogen (no. of isolates)	BMD			Etest			Disk diffusion	
	Median MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>b</sup>	Range of MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>b</sup>	No. (%) of resistant isolates	No. (%) of isolates with EA	No. (%) of isolates with CA	No. of errors	No. (%) of isolate with CA	No. of errors

La determinazione della sensibilità a ceftazidime-avibactam e ceftolozano-tazobactam eseguita con **Etest correlava strettamente con i risultati ottenuti con la microdiluizione in brodo** (overall essential agreement pari rispettivamente a 89% e 79%). La diffusione da disco tendeva a sovrastimare la resistenza a ceftazidime-avibactam.

Journal of Clinical Microbiology

February 2018 Volume 56 Issue 2 e01093-17

Rimini, 10 novembre 2018

# Performance of the Etest for Susceptibility Testing of *Enterobacterales* (*Enterobacteriaceae*) and *Pseudomonas aeruginosa* toward Ceftazidime-Avibactam

Michael Kresken,<sup>a,b</sup> Barbara Körber-Irrgang<sup>a</sup>

**TABLE 3** Evaluation of agreement and errors between results of the Etest and BMD

Organism(s)	No. of strains tested	CA <sup>a</sup>		ME <sup>b</sup>		VME <sup>c</sup>		Overall EA <sup>d</sup>		EA of evaluable results <sup>e</sup>	
		No. <sup>f</sup>	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
<i>Enterobacterales</i>	140	140	100.0	0	0.0	0	0.0	139	99.3	130	100.0
<i>P. aeruginosa</i>	60	59	98.3	0	0.0	1	4.5	59	98.3	48	100.0
Total	200	199	99.5	0	0.0	1	0.5	198	99.0	178	100.0

Risultati anche migliori rispetto ai precedenti sono stati pubblicati del tutto recentemente per l'Etest, che appare una opzione utilizzabile per la determinazione della MIC per ceftazidime-avibactam.

Journal of Clinical Microbiology

September 2018 Volume 56 Issue 9 e00528-18

Rimini, 10 novembre 2018

**Vantaggi dei kit**  
 5 minuti di esercizio  
 15 minuti di tempo di reazione  
 Pronta e facile da usare

**Procedura**

**Pannello Gram-negativi MDR**



Antibiotico	RSI	MIC	
Amikacina	R	32	<input checked="" type="checkbox"/>
Amoxicillina/A.CLAV.	R	>16	<input checked="" type="checkbox"/>
Cefotaxime	R	>32	<input checked="" type="checkbox"/>
Ceftazidime	R	>32	<input checked="" type="checkbox"/>
Ciprofloxacina	R	>2	<input checked="" type="checkbox"/>
Colistina	S	<=0.5	<input checked="" type="checkbox"/>
Ertapenem	R	>4	<input checked="" type="checkbox"/>
Fosfomicina	R	>128	<input checked="" type="checkbox"/>
Gentamicina	R	>8	<input checked="" type="checkbox"/>
Meropenem	R	>8	<input checked="" type="checkbox"/>
Piperacillina/tazobactam	R	>64	<input checked="" type="checkbox"/>
Tigeciclina	S	0.5	<input checked="" type="checkbox"/>
Trimetoprim/Sulfam.	S	<=20	<input checked="" type="checkbox"/>
Ceftolozano/Tazobactam	R	>32	<input checked="" type="checkbox"/>
Ceftazidime/Avibactam	S	2	<input checked="" type="checkbox"/>



## 2° CASO

**CAMPIONE BIOLOGICO: Sanguine**



**DATI CLINICI: Pz. 68 anni ricoverato in area critica  
Temperatura >38°C**

**ESAMI DI LABORATORIO: Rilevata positività Emocoltura da  
VIRTUO alle ore 15**



Id con FILM ARRAY



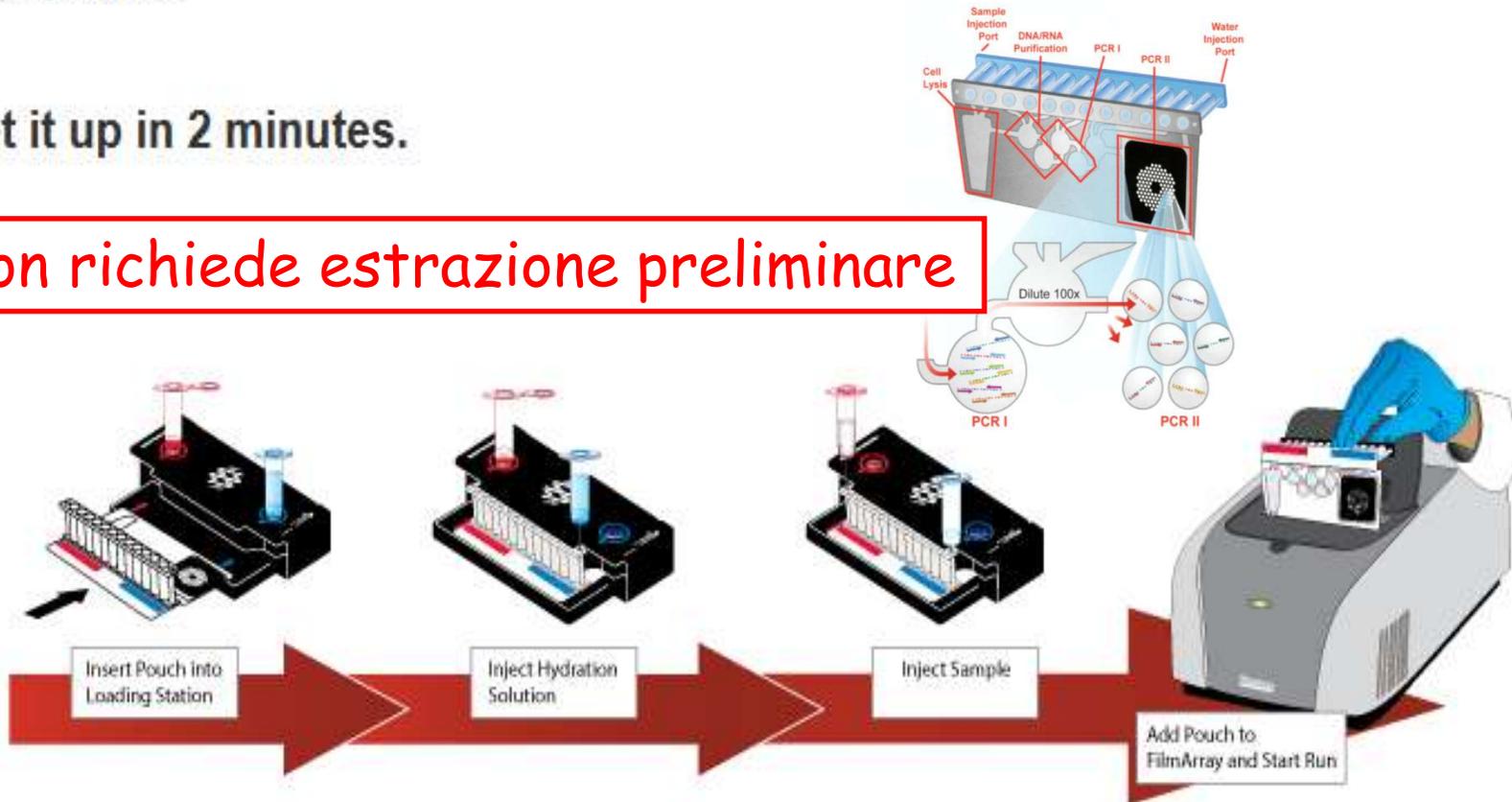
# The FilmArray: User-Friendly Multiplex PCR

Simple meets Easy meets Fast.

The FilmArray integrates sample preparation, amplification, detection, and analysis all into one complete process that delivers results in about an hour. Training is minimal and you only need 2 minutes of hands-on time with no precise pipetting required.

Set it up in 2 minutes.

Non richiede estrazione preliminare



# FilmArray Blood Culture Identification Panel

1 Test. 27 Targets. All in about an hour.



**Gram +  
Bacteria**

*Enterococcus*  
*Listeria monocytogenes*

*Staphylococcus*  
*Staphylococcus aureus*

*Streptococcus*  
*Streptococcus agalactiae*  
*Streptococcus pyogenes*  
*Streptococcus pneumoniae*



**Gram –  
Bacteria**

*Acinetobacter baumannii*  
*Haemophilus influenzae*  
*Neisseria meningitidis*  
*Pseudomonas aeruginosa*

*Enterobacteriaceae*  
*Enterobacter cloacae* complex  
*Escherichia coli*  
*Klebsiella oxytoca*  
*Klebsiella pneumoniae*  
*Proteus*  
*Serratia marcescens*



**Yeast**

*Candida albicans*  
*Candida glabrata*  
*Candida krusei*  
*Candida parapsilosis*  
*Candida tropicalis*



**Antibiotic  
Resistance**

*mecA* - methicillin resistant  
*vanA/B* - vancomycin resistant  
KPC - carbapenem resistant

**Risultato in circa 1 ora**

Batteri Gram+	Batteri Gram-
<p><i>Enterococcus</i>  <i>Listeria monocytogenes</i>  <i>Staphylococcus</i>  <i>Staphylococcus aureus</i>  <i>Streptococcus</i>  <i>Streptococcus agalactiae</i>  <i>Streptococcus pyogenes</i>  <i>Streptococcus pneumoniae</i></p>	<p><i>Acinetobacter baumannii</i><i>Haemophilus influenzae</i>  <i>Neisseria meningitidis</i>  <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  Enterobacteriaceae  <i>Enterobacter cloacae complex</i>  <i>Escherichia coli</i>  <i>Klebsiella oxytoca</i> ←  <i>Klebsiella pneumoniae</i> ←  <i>Proteus</i>  <i>Serratia marcescens</i></p>
Lieviti	Resistenza agli antibiotici
<p><i>Candida albicans</i>  <i>Candida glabrata</i>  <i>Candida krusei</i>  <i>Candida parapsilosis</i>  <i>Candida tropicalis</i></p>	<p>mecA - resistenza alla meticillina  vanA/B - resistenza alla vancomicina  KPC - resistenza ai carbapenemi ←</p>



C	G	8/2	16/2	32/2	4	8	8	16	4	8	1
1	2	4	8	16	32	0.5	1	2	4	8	16
0.5/4	1/4	2/4	4/4	0.12	0.5	1	LOC	8	16	8/4	16/4
1	2	4	8	16	32	8	16	1	2	2	4
0.25/4	0.5/4	1/4	2/4	4/4	1/4	2/4	4/4	2/4	4/4	8/4	8
8	16	2	4	2	4	0.06	0.25	0.5	1	0.5	1
0.12	1	2	4	8	16	32	64	0.5	1	2	4
1	2	4	8	1	2	4	16	32	64	2/38	4/76



Settembre 2018

Gentile cliente MicroScan,

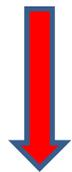
Beckman Coulter S.r.l. è lieta di annunciare l'imminente lancio di un nuovo pannello e del nuovo software LabPro v4.43/4.44 panel Update 07 Multiregional.

Ceftazidime/avibactam  
 Ceftolozano/tazobactam  
 Colistina  
 Fosfomicina  
 Meropenem da 0,12 fino a 32 mg/L  
 Ciprofloxacina 0,06 mg/L per  
 Salmonella  
 Amoxicillina/clavulanico con  
 concentrazione fissa di clavulanico 2  
 mg/L

Abbr	Antimicrobial Agents	Dilutions	MIC	Interpretation	QC
Ak	Amikacin	8-16			
Aug-E	Amoxicillin/K Clavulanate - E	8/2-32/2			
Am	Ampicillin	4-8			
Azt	Aztreonam	1-4			
Cft	Ceftazidime	16			
Cpe	Cefepime	0.5-8			
Cfe	Cefixime	1			
Cft	Cefotaxime	1-32			
Cft/CA	Cefotaxime/K Clavulanate	0.5/4-4/4			
Cfx	Cefoxitin	8-16			
Caz	Ceftazidime	1-32			
CZA	Ceftazidime/Avibactam	2/4-8/4			
Caz/CA	Ceftazidime/K Clavulanate	0.25/4-4/4			
C/T	Ceftolozane/Tazobactam	1/4-4/4			
Crn	Cefuroxime	4-8			
Cp	Ciprofloxacin	0.06,0.25-1			
Cl	Colistin	2-4			
Etp	Ertapenem	0.12,0.5-1			
Fos	Fosfomicin	16-64			
Gm	Gentamicin	2-4			
Imp	Imipenem	1-8			
Lvx	Levofloxacin	0.5-1			
Mec	Mecillinam	8			
Mer	Meropenem	0.12,1-32			
Fd	Nitrofurantoin	64			
Nxn	Norfloxacin	0.5-1			
Pi	Piperacilin	8-16			
P/T	Piperacilin/Tazobactam	8/4-16/4			
Ti	Ticarcilin	8-16			
Tgc	Tigecycline	1-2			
To	Tobramycin	2-4			
T	Trimethoprim	2-4			
T/S	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	2/38-4/76			

Rimini, 10 novembre 2018

# TEST FENOTIPICI: microdiluizione in bordo



Standardizzazione del processo

## SISTEMA DI INOCULO/REIDRATAZIONE RENOK



> Vaschette e coperchi di trasferimento monouso



> La reidratazione di un pannello MicroScan è questione di secondi

© 2015 Beckman Coulter. All rights reserved.

Move healthcare forward.



## METODO PROMPT™

- Prompt™: preparazione dell'inoculo per i pannelli Overnight in un singolo passaggio
  - Elimina la fase di diluizione dello standard McFarland
- L'inoculo Prompt™ è stabile per 4 ore
  - Lo standard 0,5 McFarland è considerato stabile per 30 minuti
- L'inoculo Prompt™ richiede pochissime colonie
  - Minor probabilità di flore miste



54

© 2016 Beckman Coulter. All rights reserved.

Move healthcare forward.



Impatto dei test di sensibilità sui flussi di lavoro

Tempo di allestimento: 10'

Tempo di incubazione: over-night

Refertazione definitiva dopo 24 h

Rimini, 10 novembre 2018



Rimini, 10 novembre 2018

# ELITE InGenius

Fully Automated Sample-to-Result Solution

Consolidate Complex Molecular Diagnostics Testing Needs in One Simple-to-Use and Flexible Solution



## Healthcare Associated Infection

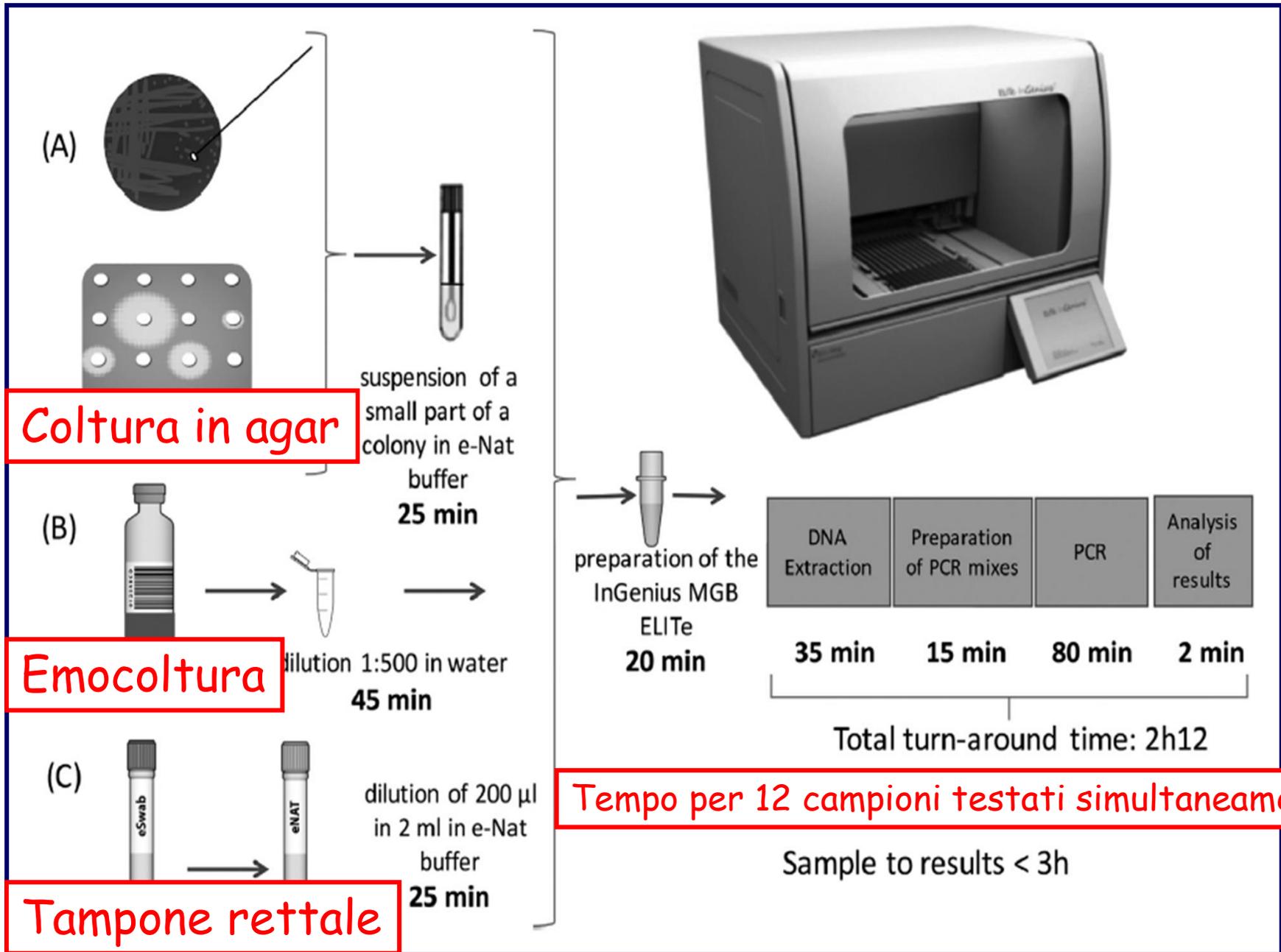
①⑥ **MRSA/SA**  
— *S. aureus*,  
— *mecA/mecC*

①⑦ **C. difficile**  
— Toxin A,  
— Toxin B  
*Available*

①⑧ **CRE panel**  
— KPC,  
— IMP, VIM, NDM,  
— OXA  
*Available*

①⑨ **ESBL**  
— CTX-M-1,15  
— CTX-M-9,14





**Tempo per 12 campioni testati simultaneamente**



Sistema Socio Sanitario



Regione  
Lombardia

ASST Lecco

*Grazie per l'attenzione !*