

## RAPID POLYMYXIN NP

Rilevare la sensibilità e resistenza  
enterobatteri a polimixina (colonia e emocoltura)  
**10 tests (REF 23000)**

Per uso diagnostico in vitro, solo per uso professionale

CPB 0405\_IT\_2018-02



### 1 - SCOPO

Il test Rapid Polymyxin NP permette di rilevare la sensibilità e la resistenza degli enterobatteri verso le polimixine (polimixina E o colistina e polimixina B) a partire da una coltura batterica su agar o una emocoltura positiva.

### 2 - INTERESSE

Lo sviluppo di batteri multiresistenti (denominati anche "BMR") a molteplici famiglie di antibiotici rappresenta una sfida per la sanità pubblica in quanto riduce drasticamente le opzioni terapeutiche e aumenta il tasso di mortalità nei reparti di terapia intensiva. Tra i BMR, gli enterobatteri (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* o altre specie) rappresentano la fonte principale di infezioni da BMR Gram-negativi. Essi sono responsabili della maggior parte delle infezioni comunitarie (urinarie, polmonari, intra-addominali, ematiche) e nosocomiali. Inoltre la loro resistenza acquisita alle  $\beta$ -lattamine (penicilline, cefalosporine, monobactam) e allo spettro esteso degli aminoglicosidi e chinoloni è sempre più osservato in tutto il mondo. Questo sviluppo di BMR ha ravvivato l'interesse verso una vecchia classe di antibiotici, le polimixine (polimixina E o colistina e polimixina B), che sono generalmente considerate molecole da usare come ultima risorsa.

Tuttavia l'uso crescente della colistina sta conducendo all'emergenza e alla moltiplicazione di nuovi ceppi di enterobatteri multiresistenti alla colistina e ai carbapenemi e costituisce una nuova minaccia per il mantenimento di un arsenale terapeutico efficace.

Il controllo delle mancate risposte terapeutiche e dei rischi d'infezione in contesti clinici richiedono, perciò, una valutazione rapida dei profili di sensibilità e di resistenza alla colistina dei ceppi batterici.

I metodi attualmente disponibili per la determinazione di questa sensibilità o resistenza alla colistina non sono adeguati alle esigenze cliniche e ospedaliere. Sono giudicati poco pratici, lunghi (24 ore, CMI in mezzo liquido) o mancano di affidabilità, come nel caso dei metodi di diffusione su gel di agar.

Il test Rapid Polymyxin NP permette di definire la resistenza degli enterobatteri alla colistina in meno di 3 ore e in modo sensibile e specifico. Questo test rapido è semplice da utilizzare, facile da interpretare e adatto a tutti i laboratori di analisi. Esso sfrutta un metodo liquido di rilevazione della serie di resistenze fenotipiche che permette l'attuazione immediata di una terapia antibiotica adeguata o l'identificazione dei soggetti portatori di ceppi resistenti alla colistina, in modo da limitare i rischi di diffusione epidemica.

### 3 - PRINCIPIO

Il test Rapid Polymyxin NP si basa sul principio descritto da Nordmann, Jayol e Poirel (1-2-3). Questo metodo in mezzo liquido si basa sulla rilevazione colorimetrica della metabolizzazione rapida del glucosio, legata alla crescita batterica, in presenza di una concentrazione definita di colistina. L'acidificazione del mezzo di coltura dovuta a questa crescita è visualizzata dal viraggio del colore dell'indicatore di pH (rosso fenolo) dall'arancione al giallo.

### 4 - REATTIVI

Descrizione	Quantità
<b>RP NaCl:</b> flacone da 3 ml di mezzo liquido contenente 0,85 g/l di NaCl per la preparazione dell'inoculo	12
<b>RP Medium :</b> flacone da 1,5 ml di mezzo di coltura per enterobatteri a base di brodo Mueller-Hinton (25 g/l) addizionato di cationi, glucosio (10 g/l) e rosso fenolo (50 mg/l) come indicatore di pH	10
<b>Gallerie colistina RP:</b> galleria contenente un pozzetto di controllo negativo C-, un pozzetto di test contenente della colistina alla concentrazione di 2 µg/ml e un pozzo di controllo della crescita batterica C+. Galleria condizionata in bustina di alluminio con essiccatore integrato	10
<b>RP TC (Turbidity Control) :</b> flacone da 3 ml di soluzione di solfato di bario come spia della torbidità	1
<b>Closing System:</b> coperchio di protezione della galleria insemminato in plastica trasparente	10

### 5 - PRECAUZIONI

I reagenti di questo cofanetto sono destinati alla diagnostica in vitro e devono essere manipolati esclusivamente da personale qualificato. I prelievi, le colture batteriche e i reagenti insemminati sono potenzialmente infettivi e devono essere manipolati secondo le precauzioni d'uso, rispettando le regole igieniche e il regolamento vigente nei paesi di utilizzo per questo tipo di prodotto. Si raccomanda l'adozione di una postazione di sicurezza microbiologica (PSM). Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza. I reagenti devono essere conservati a temperature comprese tra +2 e +8 °C.

Non utilizzare i reagenti danneggiati o non correttamente conservati. Non utilizzare i flaconi di RP MEDIUM che presentano segni di perdita. I risultati ottenuti con il test Rapid Polymyxin NP traducono la sensibilità o la resistenza alla colistina dei ceppi di enterobatteri presenti nel campione, ma non possono essere usati solamente per una diagnosi clinica. Quest'ultima deve essere effettuata dal medico sulla base dei risultati biologici e dei segni clinici.

### 6 - RACCOLTA DEI CAMPIONI

I microrganismi da testare devono essere stati isolati, preferibilmente su mezzi di coltura non acidi tipo Luria Bertani, Mueller Hinton, agar Columbia con il 5% sangue di montone, agar cioccolato PolyVitec, agar eosina blu di metilene o gel di agar cromogenici. Da questo elenco di mezzi sono esclusi, ad esempio, i gel di agar tipo Drigalski. Il test deve essere effettuato a partire da colonie ottenute recentemente (da 15 a 24 ore di incubazione). Gli enterobatteri da campioni di sangue possono essere testati direttamente a partire da emocolture monomicrobiche incubate in condizioni aerobiche o anaerobiche.

### 7 - PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEI REAGENTI

Tutti i reagenti forniti sono pronti per l'uso. I kit e i reagenti conservati a 2 - 8 °C nella loro confezione originale restano stabili fino alla data di scadenza indicata sul cofanetto.

I reagenti RP Medium e RP NaCl sono monouso.

Se il reagente RP TC viene utilizzato per la calibrazione di inoculi da colonie isolate, deve essere conservato fino a quando viene utilizzato l'ultimo reagente RP Medium del kit

Il reagente RP TC deve essere stoccato a 2 - 8 °C e al riparo dalla luce

### 8 - REAGENTI E MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

Recipienti per i rifiuti contaminati

Densimetro

Pipette e coni

Riscaldatore speciale da +36 °C +/-2 °C

### 9 - MODALITÀ DI FUNZIONAMENTO

#### 9.1 - TEST DA COLONIE ISOLATE SU SUPPORTI GELOSI

Il fenotipo del batterio GRAM-negativo deve essere verificato mediante un test di colorazione di GRAM.

Il test deve essere effettuato esclusivamente a partire dalle colonie identificate e composte da enterobatteri, ad esclusione di *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*.

Portare i reagenti a temperatura ambiente in 10 minuti. Pre-incubare l'RP Medium per 10 minuti a 37 °C.

Rimuovere l'adesivo che ricopre la parte inferiore della galleria (pozzetti 1, 2 e 3).

• **Preparazione del controllo negativo:**

- Distribuire nel pozzetto C- n° 1:

- 75 µl di RP Medium non insemminato

- 25 µl di RP NaCl non insemminato

• **Preparazione della sospensione batterica nel flacone dell'RP NaCl:**

Raschiare 3-4 colonie isolate identiche mediante un'ansa da 10 µl o una pipetta Pasteur tappata.

Scaricarle in un flacone di RP NaCl e omogeneizzare bene.

• **Standardizzazione dell'inoculo:**

Si raccomanda di standardizzare l'inoculo mediante un densimetro. Tuttavia, è messo a disposizione un flacone di RP TC a condizione che siano rispettate le buone prassi d'utilizzo (vedere paragrafo flacone RP TC).

- **Mediante un densimetro**

Verificare, mediante un densimetro, che la torbidità del mezzo sia compresa fra 3 e 3,5 Mac Farland (Mc F). Se necessario procedere come indicato in precedenza per aggiustare la torbidità. È opportuno tenere conto del valore più basso ottenuto facendo girare il flacone nell'apparecchio.

Se il valore Mc F è inferiore a 3 (inoculo insufficiente), insemminare di nuovo il flacone fino a ottenere un valore Mc F tra 3 e 3,5. Se il valore Mc F è superiore a 3,5 (inoculo troppo ricco), diluire con un nuovo flacone di RP NaCl fino a ottenere l'opacità corretta. A tale scopo nel cofanetto sono inclusi 2 flaconi di RP NaCl supplementari che devono essere gettati via dopo l'utilizzo.

In caso d'incompatibilità tra il flacone RP NaCl e il densimetro si raccomanda di:

- travasare il contenuto in una provetta compatibile con l'apparecchio,

- ottenere un valore di 0 Mc F,

- infine aggiustare le colonie fino a ottenere un Mc F di 3-3,5.

- **Rispetto al flacone di RP TC**

Questo metodo di lettura visiva può essere soggettivo e richiede una buona pratica di laboratorio per assicurare di ottenere un valore Mc F 3-3,5 affidabile nel flacone di RP NaCl inoculato.

Per garantire l'ottenimento della densità ottica attesa dal flacone RP NaCl inoculato rispetto alla torbidità del RP TC fornito, è necessario convalidare il metodo di realizzazione della torbidità dell'inoculo.

**Metodologia**

Regolare l'opacità del mezzo insemminato in base a quella del controllo di torbidità RP TC facendo riferimento ai trattini neri sull'etichetta del flacone. Se necessario per regolare la torbidità, operare come indicato in precedenza

## Preparazione dell'inoculo nell'RP Medium e distribuzione nella galleria:

- Trasferire 500 µl di RP NaCl inseminato nel flacone RP MEDIUM.  
- Omogeneizzare bene e distribuire l'RP Medium inseminato:  
- 100 µl nel pozzetto di test n°2 (contenente la colistina)  
- 100 µl nel pozzetto n°3 di controllo della crescita batterica C+ (senza colistina)  
Ricoprire la galleria agganciando il coperchio "closing system".  
Identificare la galleria con i riferimenti dei campioni testati  
Incubare la galleria a 36 +/- 2 °C per 2-3 ore.  
Una prima osservazione può essere effettuata dopo 2 ore d'incubazione (vedere la condizione di lettura e d'interpretazione del risultato finale nel paragrafo 10 – "Lettura e interpretazione").

## 9.2 - TEST DAL FRATTO DELL'EMOCULTURA POSITIVA

Il test deve essere effettuato solo a partire da una emocoltura monomicrobica positiva contenente un enterobatterio (escludendo in particolare *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*) identificato da MALDI TOF.

Portare i reagenti a temperatura ambiente (+18 +25 °C) per 10 minuti.  
Pre-incubare il terreno RP per 10 minuti a 37 °C.  
Rimuovere l'adesivo che copre la parte inferiore della galleria (pozzetti 1,2 e 3).

### Preparazione del controllo negativo:

Distribuisce bene C-1:

- 75 µL di RP medio senza semi
- 25 µL di RP NaCl non inoculato

### Preparazione della sospensione batterica nella bottiglia di NaCl RP:

Trasferire 300 µL di coltura ematica monomicrobica positiva in RP NaCl flacon

Mescolare bene

### Preparazione dell'inoculo nel mezzo RP e distribuzione nella galleria:

Trasferire 500 µL di RP NaCl inoculato nella fiala Media RP  
Omogeneizzare ed erogare accuratamente il terreno inoculato RP:  
- 100 µL nel pozzetto Test 2 (compresa la colistina)  
- 100 µL in pozzetto 3 di controllo della crescita batterica C + (senza colistina)  
Coprire la galleria inserendo la cover del "sistema di chiusura". Identificare la galleria con il campione testato.  
Incubare il tunnel a +36 +/- 2 °C per 2 o 4 ore. Una prima osservazione può essere fatta dopo 2 ore di incubazione (vedere la condizione di interpretazione del risultato finale paragrafo 10 - Lettura e interpretazione).

## 10 - LETTURA E INTERPRETAZIONE

La lettura dei risultati si basa sull'identificazione e la comparazione del colore del pozzetto del test con il colore dei pozzetti C+ e C-.

**Controllo di lettura negativo (pozzetto negativo C- n°1):**  
Il pozzetto di controllo negativo n°1 (C-) presenta il colore iniziale (arancione) del mezzo. La valutazione del cambiamento di colore del pozzetto del test avviene rispetto a questo controllo.

Il pozzetto C- non è valido se presenta una colorazione gialla. In questo caso il risultato non è interpretabile e il test deve essere ripetuto.

### Convalida (pozzetto di controllo positivo C+ n°3):

Verificare che il mezzo corrispondente al controllo della crescita batterica (C+) abbia virato al giallo.

### Letture e interpretazione del pozzetto del test n°2:

Un cambiamento di colore del mezzo, inizialmente arancione, verso il giallo/arancione o il giallo indica la capacità del ceppo di svilupparsi con una concentrazione di colistina di 2 µg/ml.

Al contrario, l'assenza di cambiamento cromatico del mezzo indica che lo sviluppo del ceppo è stato inibito dalla concentrazione di 2 µg/ml di colistina.

### Inoculo generato dalle colonie isolate

Effettuare una prima osservazione dopo 2 ore d'incubazione.

Se il pozzetto di controllo positivo C+ (pozzetto n°3 per il controllo della crescita batterica) presenta un viraggio al giallo sarà possibile eseguire una lettura del pozzetto del test (pozzetto n°2):

1/ Se il pozzetto TEST è giallo (o giallo/arancione e di colorazione più chiara del pozzetto di controllo negativo C- (pozzetto n°1)), allora il ceppo sarà resistente alla colistina.

2/ Se il pozzetto TEST è arancione (colorazione di intensità uguale al pozzetto C- n°1) sarà necessario incubare di nuovo la galleria per 1 ora allo scopo di eseguire una nuova lettura.

Il risultato definitivo si ottiene dopo 3 ore d'incubazione.

### Inoculo da emocolture positive

Fai una prima osservazione dopo 2 ore di incubazione.

Se il pozzetto di controllo positivo C + (bene # 3, controllo della crescita batterica) mostra una virata gialla, quindi eseguire una lettura del test del pozzetto (pozzetto n. 2):

1 / Se il pozzetto TEST è giallo (o giallo / arancione) e di colore più chiaro rispetto al pozzetto C negativo (pozzetto n. 1), allora il ceppo è resistente alla colistina

2 / se il pozzetto TEST è arancione (di intensità di colore arancione uguale al pozzetto C- n° 1), quindi ri-incubare la galleria per 2 ore per eseguire una nuova lettura. Il risultato finale è fatto a 4 ore di incubazione.

Attualmente non è disponibile alcuna concentrazione critica per gli enterobatteri secondo le linee guida CLSI (3-4). I ceppi sono perciò qualificati come sensibili o resistenti alla colistina in base ai criteri d'interpretazione sostenuti dalle linee guida EUCAST (5):

- un ceppo di enterobatteri con una CMI di colistina ≤2 µg/ml è definito sensibile (crescita batterica inibita, colorazione arancione del mezzo).
- un ceppo di enterobatteri con una CMI di colistina >2 µg/ml è classificato resistente (crescita batterica non inibita, colorazione gialla/arancione o gialla del mezzo).

## 11 - CONTROLLO DELLA QUALITÀ

Un controllo del test può essere effettuato con dei ceppi da collezione:

- *Escherichia coli* ATCC 25922, ceppo **sensibile** alla colistina dopo 2 ore d'incubazione (**pozzetto C- arancione, pozzetto TEST arancione, pozzetto C + giallo**)
- *Proteus mirabilis* ATCC 25933, ceppo **resistente** alla colistina dopo 2 ore d'incubazione (**pozzetto C- arancione, pozzetto TEST giallo, pozzetto C + giallone**).
- *Escherichia coli* NCTC 13846 (mcr1 positivo), ceppo **resistente** alla colistina dopo 2 ore di incubazione (pozzetto C-arancione, **pozzetto TEST giallo, pozzetto C + giallo**).

## 12 - CAUSE D'ERRORE - CASI PARTICOLARI

L'inseminazione dei pozzetti deve avvenire entro 60 minuti dopo la realizzazione della sospensione batterica alla torbidità di Mc F 3-3,5 nel reagente RP NaCl.

Il viraggio del colore del controllo positivo (pozzetto n°3) della galleria prima delle 2 ore d'incubazione non significa che i risultati dei pozzetti siano interpretabili.

Una lettura prematura, prima delle 2 ore d'incubazione raccomandate, può comportare un risultato erroneo: una falsa sensibilità alla colistina per un ceppo resistente.

Se il controllo positivo della galleria non presenta il viraggio cromatico previsto (giallo) non sarà possibile interpretare alcun pozzetto. Sarà necessario eseguire un nuovo test.

È obbligatorio non superare i tempi di incubazione per la lettura dei risultati finali: rispettivamente **3 ore per i test realizzati dall'inoculo ottenuto da colonie isolate e 4 ore per quelli ottenuti da emocolture positive**.

## Per le emocolture, è obbligatorio rispettare il tempo di incubazione raccomandato tra le 2 e le 4 ore.

La presenza simultanea di un ceppo sensibile e di uno resistente della stessa specie di enterobatteri nel brodo di emocoltura non maschera la rilevazione del ceppo resistente.

La presenza di un ceppo di enterobatteri sensibile alla colistina può mascherare la rilevazione della resistenza di un'altra specie di enterobatteri naturalmente resistente e presente simultaneamente nel brodo di emocoltura.

I campioni di sangue devono essere testati a partire da emocolture monomicrobiche.

## 13 - LIMITI DEL METODO

Le colonie batteriche da testare non devono essere state isolate su gel di agar il cui principio è la rilevazione dell'acidificazione del mezzo (per es.: Drigalski, bromocresol purple (BCP) e MacConkey) che non è adatta alla realizzazione del test RAPID POLYMYXIN NP. È indispensabile eseguire preliminarmente una subcoltura su un mezzo adeguato (vedere il paragrafo 6 – Raccolta dei campioni).

In caso di inoculazione da emocolture positive, la sedimentazione di emazie sul fondo dei pozzetti non interferisce con la lettura e l'interpretazione del viraggio di colore.

Per il test da colonie isolate, il rispetto di un'inseminazione del test da un inoculo standardizzato tra 3 e 3,5 Mc F garantisce le prestazioni del test.

Il limite di rilevazione (o sensibilità analitica) è pari a 10<sup>7</sup> CFU/mL; esso corrisponde alla carica batterica minima richiesta per rilevare ceppi resistenti alla colistina in un campione di sangue. Una densità batterica inferiore a 10<sup>7</sup> CFU/mL nel brodo ematico può presentare risultati falsi negativi.

## 14 - PRESTAZIONI

### 14.1 - PRESTAZIONI DEL TEST DA COLONIE ISOLATE

La valutazione delle prestazioni del test RAPID POLYMYXIN NP è stata effettuata dall'Unità per le Resistenze Emergenti agli Antibiotici (Facoltà di Scienze dell'Università di Friburgo, Svizzera) rispetto al metodo di determinazione della concentrazione minima inibente (CMI) in mezzo liquido (microdiluzione in brodo Mueller-Hinton con addizione di cationi, usato come descritto nelle linee guida Clinical Laboratory Standard Institute (3,4) del succitato metodo di riferimento.

I batteri dello studio provengono da diversi prelievi clinici e di origine internazionale e sono suddivisi secondo le seguenti specie:

Specie	Numero di testate	Specie	Numero di testate	Specie	Numero di testate
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	113	<i>Enterobacter absuriae</i>	2	<i>Proteus stuartii</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	40	<i>Morganella morganii</i>	2	<i>Proteus vulgaris</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	16	<i>Proteus mirabilis</i>	2	<i>Salmonella concord</i>	1
<i>Citrobacter freundii</i>	8	<i>Proteus rettgeri</i>	2	<i>Salmonella isangi</i>	1
<i>Citrobacter koseri</i>	8	<i>Salmonella enterica</i>	2		
<i>Enterobacter aerogenes</i>	8	<i>Serratia marcescens</i>	2		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	8	<i>Salmonella sp.</i>	2		

Tra le specie più rappresentative di enterobatteri sono stati selezionati 219 ceppi di enterobatteri comprendenti 78 specie sensibili e 141 ceppi resistenti alla colistina.

Tra i ceppi resistenti sono stati osservati diversi meccanismi molecolari nei confronti delle polimixine (cromosomici, plasmidici, intrinseci o non determinati).

La CMI dei ceppi e il loro meccanismo di resistenza sono suddivisibili nel modo seguente:

CMI (µg/mL)	0,125	0,25	0,5	<1	1	2	4	8	16	>16	32	64	128	>128
Numero di ceppi	9	1	1	60	3	4	8	18	19	10	21	33	20	12

Meccanismo di resistenza			Numero di ceppi
<b>Resistenza intrinseca (naturale)</b>			10
<b>Resistenza acquisita</b>	cromosomici	heteroresistenza	2
		mutazione gene MgrB	70
		mutazione gene PhoP ou Q	2
	mutazione gene PmrA ou B	10	
plasmidici	mutazione gene mcr -1	30	
<b>Meccanismo sconosciuto</b>			17

I ceppi batterici sono stati nuovamente isolati su gel di agar (Luria Bertani, Mueller Hinton, Columbia 5% sangue) per 18-24 ore per testare il RAPID POLYMYXIN NP parallelamente alla determinazione della CMI secondo la tecnica in microdiluzione liquida del CLSI.

Il test RAPID POLYMYXIN NP è stato interpretato dopo 2 e 3 ore d'incubazione.

La percentuale di concordanza clinica del test RAPID POLYMYXIN NP è del 97,7% rispetto al metodo della CMI in mezzo liquido. La sensibilità del test è pari al 99,3% e la specificità è pari al 94,9%.

Si notano 4 discordanze maggiori (CMI compresa tra 1 e 2 µg/ml) e una discordanza molto maggiore (ceppo *Klebsiella pneumoniae* di CMI 8 µg/ml il cui meccanismo di resistenza è ignoto). La percentuale di concordanza clinica a 1 diluizione è del 99,1%. Persistono 1 discordanza maggiore e 1 discordanza molto maggiore.

Per quanto riguarda il tempo d'incubazione, tutti i ceppi hanno dato un risultato interpretabile dopo 2 ore. Inoltre il profilo dei ceppi sensibili è stabile anche dopo 3 ore d'incubazione.

#### 14.2 - PRESTAZIONI DEL TEST DA EMOCOLTURA POSITIVA

Prestazioni complessive ottenute combinando i due tipi di protocolli di emocoltura:

Prestazioni	Emocolture cliniche	Emocoltura arricchito*	Globale
<b>Sensibilità</b>	66,7%	98%	<b>96,3%</b>
<b>Specificità</b>	100%	100%	<b>100%</b>

\* arricchito: emocolture integrate con ceppi di enterobatteri sensibili o resistenti alla colistina

• **Esecuzione di test effettuati sulla base di emocolture cliniche positive**

27 colture cliniche positive contenute in fiale di colture aerobiche e anaerobiche (BD BACTEC™ Plus Aerobic / F e Plus Anaerobic / F) da campioni di pazienti non duplicati, sono state rilevate da Becton Dickinson FX automatizzate e analizzate dal CHUV Lausanne, Svizzera, Pr. G. Greub.

La distribuzione delle specie testate è di 19 *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae*, 2 *Klebsiella oxytoca*, 2 *Enterobacter aerogenes*, 1 *Proteus mirabilis* e 1 *Serratia marcescens*.

Due ceppi di resistenza naturale alla colistina (*Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*) hanno dato risultati positivi concordati entro 4 ore di incubazione per ogni condizione di coltura aerobica e anaerobica.

Un ceppo di *Klebsiella pneumoniae* resistente alla colistina (MIC = 8 mg / L) non è stato rilevato (risultato falso negativo) entro 4 ore dall'incubazione del test.

Per le emocolture cliniche, la sensibilità del test è del 66,7% e la specificità del 100%.

La densità batterica di tutti i brodi di coltura ematica testati in questo studio era  $\geq 10^7$  CFU / mL ad eccezione di 2 matracchi anaerobici a  $10^6$  UFC / mL.

#### • Prestazioni dei test effettuati dalle emocolture delle colture:

Al fine di testare ceppi più resistenti, il CHUV ha eseguito un protocollo di emocoltura arricchito.

Dei 72 ceppi testati, 51 ceppi resistenti contenevano diversi genotipi di resistenza alla colistina e 21 ceppi erano possibili. Per ogni ceppo sono stati testati i palloni aerobi e anaerobici.

Dei 51 ceppi resistenti, è stata osservata una singola discordanza con ceppo di *E. coli* MCR-1 (risultato falso negativo).

Per le emocolture arricchite, la sensibilità del test è del 98% e la specificità è del 100%.

#### 15 - ELIMINAZIONE DEI RIFIUTI

I rifiuti devono essere eliminati nel rispetto delle regole igieniche e della normativa vigente a livello locale per questo tipo di reagenti.

#### 16 - BIBLIOGRAFIA

1 - Nordmann P, Jayol A, Poirel L. 2016. Rapid detection of polymyxin resistance in Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis* 22:1038-1043

2 - Nordmann P, Jayol A, Poirel LI, EP15305409.3: «Test for determining susceptibility to resistance to polymyxins in Enterobacteriaceae», 20th March 2015

3 - Jayol A, Dubois V, Poirel L, Nordmann P. 2016 Rapid detection of polymyxin-resistant Enterobacteriaceae from blood cultures. *J Clin Microbiol* 54:2273-2277.

4 - Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution of antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. 10th ed. Document M07-A10. Wayne (PA): The Institute; January 2015.

5 - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th edition. Document M100-28. Wayne (PA): The Institute; 2018.

6 - Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2017. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, V1.0 mars 2017.

Les modifications par rapport à la version précédente sont surlignées en gris

**ELITech MICROBIO**

Parc d'activités du Plateau  
19, allée d'Athènes

83870 SIGNES - FRANCE

Tél. : 33 (0)4 94 88 55 00

Fax. : 33 (0)4 94 32 82 61

<http://www.elitechgroup.com>

Les modifications par rapport à la version précédente sont surlignées en gris

