

**RELAZIONE FINALE TEST INTERLABORATORIO PER LA SENSIBILITA' AGLI ANTIBIOTICI 2012 PER GLI ISOLATI DI *ESCHERICHIA COLI* E *STAPHYLOCOCCUS SPP.***

**ORGANIZZATO DAL CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER L'ANTIBIOTICORESISTENZA.**

---

---

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUZIONE.....  | 1  |
| 2. MATERIALI E METODI.....  | 2  |
| 2.1 Partecipanti.....   | 2  |
| 2.2 Isolati Inviati.....  | 3  |
| 2.3 Esecuzione del Test ed Invio dei Risultati al Centro di Referenza ..... | 4  |
| 2.4 Metodi per l'analisi dei dati .....                                     | 5  |
| 3. RISULTATI.....   | 6  |
| 3.1 <i>Escherichia coli</i> .....   | 6  |
| 3.2 <i>Staphylococcus spp.</i> .....  | 8  |
| 4. DISCUSSIONE.....   | 10 |
| 5. CONCLUSIONI.....   | 11 |

---

---

## **1. INTRODUZIONE**

Il Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza e National Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance (CRN-AR) ha organizzato per l'anno 2012 un Test Interlaboratorio per i Saggi di Sensibilità agli Antibiotici su isolati dei seguenti agenti batterici patogeni animali: *Escherichia coli* e *Staphylococcus spp.*.

Lo scopo del Test è stato quello di monitorare la qualità dei dati prodotti dai laboratori IZS presenti sul territorio per quanto riguarda la sensibilità agli antibiotici e contestualmente di fornire, là dove necessario, un supporto pratico di tipo tecnico-scientifico. Come è noto, l'isolamento dell'agente eziologico e la valutazione della sensibilità agli antibiotici è sempre più importante nella corretta gestione della diagnosi e della terapia con chemioterapici, sia negli animali zootecnici che in quelli da compagnia.

L'orientamento corretto della terapia antibiotica a cura dei laboratori veterinari (specialmente se facenti parte del SSN, in Enti Sanitari di diritto pubblico come gli IZZSS), passa necessariamente per un'evidenza di validità delle prove e di una affidabilità e razionalità di quanto riportano nei loro rapporti di prova. La materia è sempre più attuale e delicata a causa dell'emergenza e della diffusione di resistenze e multiresistenze in agenti patogeni ed opportunisti degli animali, inclusi alcuni agenti zoonosici.

## 2. MATERIALI E METODI

### 2.1 Partecipanti

Nel mese di agosto del 2012 è stata inviata una comunicazione alle Direzioni di tutti gli IZZSS affinché indicassero le strutture di Diagnostica intenzionate a partecipare al Test Interlaboratorio per la Sensibilità agli Antibiotici. Dal 3 al 7 settembre il CRN-AR ha reso disponibile un opportuno Web Service, al seguente link <http://195.45.99.81/CircuitiInterlaboratorioCRAB/register>, cui i partecipanti al circuito potevano inviare la richiesta di registrazione. A tale richiesta seguiva una e-mail di conferma dell'avvenuta registrazione.

I partecipanti che hanno aderito sono risultati 15, di cui in elenco:

- Giancarlo Pistone Istituto Zooprofilattico Sperimentale P.L.V.A. Via Sandro Pertini, 11 12100 Cuneo
- Carla Grattarola Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle regioni Piemonte Liguria e Valle D'Aosta Via Bologna 148 10154 Torino
- Karin Trevisiol Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie Via Laura Conti, 4-39100 Bolzano
- Michela Corrò Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie Viale dell'Università, 10-35020 Legnaro (PD)
- Monia Cocchi Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie Via della Roggia , 100-33030 Basaldella di Campoformido Udine
- Carlo Rosignoli Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna Via Circonvallazione sud 21/A -46100 Mantova
- Marianna Merenda Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna Via dei Mercati, 13/A -43126 Parma
- Paola Papa Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle regioni Umbria e Marche Via Salvemini 1 06126 Perugia
- Marta Paniccià Istituto Zooprofilattico Umbria e Marche Laboratorio Diagnostica Integrata Sezione di Fermo c/da San Martino 6/A 63023 Fermo (FM)
- Piero Badagliacca Istituto Caporale Teramo Via Campo Boario, 1-64100 Teramo
- Anna Cerrone Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno Via Salute, 2-80055 Portici (NA)
- Giuseppe Lucifora Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno Via Crotone 88063 Lido Catanzaro (Catanzaro)
- Pasquale Troiano Istituto Zooprofilattico Sperimentale Puglia e Basilicata Via Manfredonia, 20-71121 Foggia
- Stefano Lollai Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna Via Duca degli Abruzzi, 8-07100 Sassari
- Maria Chiara Emanuele Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia Via G. Marinuzzi, 3-90144 Palermo

## 2.2 Isolati Inviati

Dal 17 al 21 settembre sono stati inviati gli isolati per l'esecuzione dei Test di cui:

- 7 isolati di *Escherichia coli*.
- 7 isolati di *Staphylococcus spp.*

Insieme agli isolati è stato inoltre fornito il Manuale Utente del Portale Circuiti Interlaboratorio CRN-AR, per l'invio dei risultati (Allegato 1).

Contestualmente, per coloro che ne hanno fatto richiesta, sono stati inviati gli isolati ATCC di riferimento e la Procedura Operativa Standard (POS) per i Test di Sensibilità agli Antibiotici.

Gli isolati sono stati inviati in tampone con terreno di trasporto a temperatura ambiente secondo norme UN3373, con l'indicazione di essere coltivati nel più breve tempo possibile. Le colture ottenute dovevano essere conservate a temperatura di  $-80^{\circ}\text{C}$  (o qualora impossibile, ad almeno  $-20^{\circ}\text{C}$ ) fino all'esecuzione dei test.

I test dovevano essere eseguiti entro il 30 novembre 2012, sul panel di molecole indicate del CRN-AR (Allegato 2).

### *Escherichia coli*

Sono stati inviati 7 isolati di *Escherichia coli* (emolitici e non emolitici) nominati da EC1\_1 a EC1\_7. Gli isolati dovevano essere saggiati con le molecole riportate nella tabella 1, secondo la procedura in uso presso il Laboratorio, o in alternativa secondo la procedura inviata dal CRN-AR. In tal caso, i risultati ottenuti dovevano essere interpretati e categorizzati secondo lo Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI), M31-A3 (CLSI M31-A3).

Qualora il laboratorio lo avesse ritenuto opportuno, gli isolati potevano essere saggiati anche con il Test di Conferma fenotipica per ESBL e il risultato ottenuto inviato insieme agli altri risultati.

|                                  | Resistente ( $\leq$ )            | Intermedio (=)                        | Sensibile ( $\geq$ )                |
|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| Ceftiofur/Cefotaxime/Cefpodoxime | <input type="text" value="≤17"/> | mm <input type="text" value="18-20"/> | mm <input type="text" value="≥21"/> |
| Amoxicillina+Ac. Clavulanico     | <input type="text" value="≤13"/> | mm <input type="text" value="14-17"/> | mm <input type="text" value="≥18"/> |
| Ampicillina                      | <input type="text" value="≤13"/> | mm <input type="text" value="14-16"/> | mm <input type="text" value="≥17"/> |
| Cefazolina                       | <input type="text" value="≤14"/> | mm <input type="text" value="15-17"/> | mm <input type="text" value="≥18"/> |
| Cloramfenicolo                   | <input type="text" value="≤12"/> | mm <input type="text" value="13-17"/> | mm <input type="text" value="≥18"/> |
| Enrofloxacin                     | <input type="text" value="≤16"/> | mm <input type="text" value="17-22"/> | mm <input type="text" value="≥23"/> |
| Gentamicina                      | <input type="text" value="≤12"/> | mm <input type="text" value="13-14"/> | mm <input type="text" value="≥15"/> |
| Kanamicina                       | <input type="text" value="≤13"/> | mm <input type="text" value="14-17"/> | mm <input type="text" value="≥18"/> |
| Sulfisoxazolo                    | <input type="text" value="≤12"/> | mm <input type="text" value="13-16"/> | mm <input type="text" value="≥17"/> |
| Trimethoprim+Sulfametox          | <input type="text" value="≤10"/> | mm <input type="text" value="11-15"/> | mm <input type="text" value="≥16"/> |
| Tetraciclina                     | <input type="text" value="≤14"/> | mm <input type="text" value="15-18"/> | mm <input type="text" value="≥19"/> |

Tabella 1. Criteri di Interpretazione per *Escherichia coli*

## Staphylococcus spp.

Sono stati inviati 7 isolati *Staphylococcus spp.* nominati da ST1\_1 a ST1\_7.

Gli isolati da ST1\_1 a ST1\_5 compreso erano della specie *Staphylococcus aureus*, gli isolati ST1\_6 e ST1\_7 erano *Staphylococcus coagulasi negativi*.

Gli isolati dovevano essere saggiati per le molecole riportate nella tabella 2 secondo la procedura in uso presso il Laboratorio, o in alternativa secondo la procedura inviata dal CRN-AR. In tal caso, i risultati ottenuti dovevano essere interpretati e categorizzati secondo lo Standard CLSI M31-A3.

Qualora il laboratorio lo avesse ritenuto opportuno, gli isolati potevano essere saggiati anche con il Test di Conferma per meticillino-resistenza, e il risultato ottenuto inviato insieme agli altri risultati.

|                                  | Resistente ( <= ) | Intermedio ( = ) | Sensibile ( >= ) |    |
|----------------------------------|-------------------|------------------|------------------|----|
| Ceftiofur/Cefotaxime/Cefpodoxime | <=17              | mm 18-20         | mm >=21          | mm |
| Amoxicillina+Ac. Clavulanico     | <=19              | mm -             | mm >=20          | mm |
| Ampicillina                      | <=28              | mm -             | mm >=29          | mm |
| Cefalotina                       | <=14              | mm 15-17         | mm >=18          | mm |
| Cloramfenicolo                   | <=12              | mm 13-17         | mm >=18          | mm |
| Clindamicina                     | <=12              | mm -             | mm >=13          | mm |
| Enrofloxacin                     | <=16              | mm 17-22         | mm >=23          | mm |
| Eritromicina                     | <=13              | mm 14-22         | mm >=23          | mm |
| Gentamicina                      | <=12              | mm 13-14         | mm >=15          | mm |
| Kanamicina                       | <=13              | mm 14-17         | mm >=18          | mm |
| Oxacillina                       | <=10              | mm 11-12         | mm >=13          | mm |
| Sulfisoxazolo                    | <=12              | mm 13-16         | mm >=17          | mm |
| Trimethoprim+Sulfametox          | <=10              | mm 11-15         | mm >=16          | mm |
| Tetraciclina                     | <=14              | mm 15-18         | mm >=19          | mm |

Tabella 2. Criteri di Interpretazione per *Staphylococcus aureus*

**NB:** Per *Staphylococcus coagulasi negativi* per oxacillina si considerano Resistenti se  $\leq 17$ , Sensibili se  $\geq 18$ .

### **2.3. Esecuzione dei Test, Interpretazione ed Invio dei Risultati al Centro di Referenza Nazionale**

Il CRN-AR raccomandava, per gli obiettivi del Test Interlaboratorio (valutazione dei test di sensibilità a scopo di diagnostica ed orientamento della terapia clinica), di eseguire le prove e di interpretarle secondo lo Standard CLSI M31-A3 “Performance Standard for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria isolated from Animals; Approved Standard – Third Edition”.

Su richiesta è stata inviata la POS per l’esecuzione del Test di Sensibilità agli Antibiotici secondo la metodica di Disk Diffusion (Standard CLSI M31-A3), a cura del CRN-AR.

Tuttavia, era consentito che i partecipanti eseguissero il test con la metodica ed il materiale normalmente impiegato nell'attività diagnostica di routine del laboratorio stesso, e li interpretassero secondo standard di breakpoint clinici in uso presso il laboratorio.

## 2.4 Metodi per l'analisi dei dati

Per la produzione del Report sull'analisi dei dati ad ogni partecipante è stato attribuito un numero identificativo univoco che consentiva di mantenerne anonima l'identità.

Per l'analisi dei risultati ottenuti, come Valore Atteso (Valore di Riferimento), è stato considerato quello stabilito del CRN-AR.

I dati sono stati analizzati sulla base del risultato categorizzato come: Sensibile (S), Intermedio (I) e Resistente (R).

### Definizioni

**Concordanza:** un risultato si considera concorde quando è lo stesso del Valore Atteso.

**Percentuale di Concordanza o Concordanza (%):** è il rapporto (%) tra il totale degli esiti concordi e il totale degli esiti ottenuti.

La discordanza (non concordanza) tra il risultato ottenuto e il Valore Atteso può generare uno dei seguenti Errori:

**Very Major Error:** il risultato ottenuto è Sensibile, ma il Valore Atteso è Resistente.

**Major Error:** il risultato ottenuto è Resistente, ma il Valore Atteso è Sensibile.

**Minor Error:** è la misclassificazione tra Sensibile e Intermedio, o tra Resistente ed Intermedio.

Per gli scopi dell'interpretazione dei dati ottenuti nel Circuito Interlaboratorio, si riportano di seguito le diverse definizioni di **Percentuale di Concordanza** applicate nell'elaborazione dei dati:

#### **Concordanza (%) per agente.**

E' il rapporto espresso in % tra la somma dei risultati concordi e la somma di tutti i risultati ottenuti per tutti gli antibiotici per tutti gli isolati del singolo gruppo di agenti (Concordanza % per *E. coli* e Concordanza % per *Staphylococcus spp.*).

#### **Concordanza (%) per antibiotico.**

E' il rapporto espresso in % tra la somma dei risultati concordi e la somma di tutti i risultati ottenuti per tutti i laboratori partecipanti per singolo isolato, per singolo antibiotico (risultati non mostrati).

#### **Concordanza (%) per isolato.**

E' il rapporto espresso in % tra la somma dei risultati concordi e la somma di tutti i risultati ottenuti per tutti gli antibiotici per tutti i laboratori partecipanti per singolo isolato.

#### **Concordanza (%) per partecipante per agente.**

E' il rapporto espresso in % tra la somma dei risultati concordi e la somma di tutti i risultati ottenuti per tutti gli antibiotici per singolo laboratorio partecipante per agente.

#### **Errori (%) per partecipante per agente.**

E' il rapporto espresso in % tra la somma degli Errori e la somma dei risultati ottenuti per tutti gli antibiotici per tutti gli isolati per singolo agente per singolo laboratorio partecipante.

#### **Accettabilità.**

Per questo Test Interlaboratorio si considera "accettabile" una Concordanza (%)  $\geq 90\%$ .

### 3. RISULTATI

#### 3.1 *Escherichia coli*

Tutti i partecipanti hanno eseguito i Test di sensibilità agli antibiotici sugli isolati di *Escherichia coli* con la metodica di Disk Diffusion e tutti i partecipanti tranne uno hanno eseguito il Test su tutti gli isolati con tutte le molecole indicate. Un partecipante ha eseguito i test su tutti gli isolati con tutte le molecole indicate tranne che utilizzando la combinazione di trimethoprim+sulfamidico.

I risultati elaborati vengono mostrati in due modi:

-Concordanza % per isolato (Tabella 3).

-Errori % per partecipante (Grafico 1).

|              | <b>N testati</b> | <b>% Concordanza</b> |
|--------------|------------------|----------------------|
| <b>EC1_1</b> | 164              | 90,24                |
| <b>EC1_2</b> | 164              | 92,07                |
| <b>EC1_3</b> | 164              | 93,29                |
| <b>EC1_4</b> | 164              | 89,63                |
| <b>EC1_5</b> | 164              | 92,68                |
| <b>EC1_6</b> | 164              | 93,90                |
| <b>EC1_7</b> | 164              | 90,85                |

Tabella 3. Concordanza % per isolato di *Escherichia coli*

In Tabella 3 vengono mostrati i risultati di Concordanza % per isolato di *Escherichia coli*, dove N rappresenta la somma dei risultati inseriti.

Di seguito si riportano i risultati nel dettaglio.

Per l'isolato EC1\_1, 9 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 100%, 4 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza >90% (10 su 11 risultati concordi), mentre 2 partecipanti hanno ottenuto una concordanza inferiore al 50%.

Per l'isolato EC1\_2, 8 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 100%, 4 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza >90%, mentre 3 partecipanti hanno ottenuto una concordanza compresa tra il 63,64% (7 su 11 risultati concordi) e l'81,82% (9 su 11 risultati concordi).

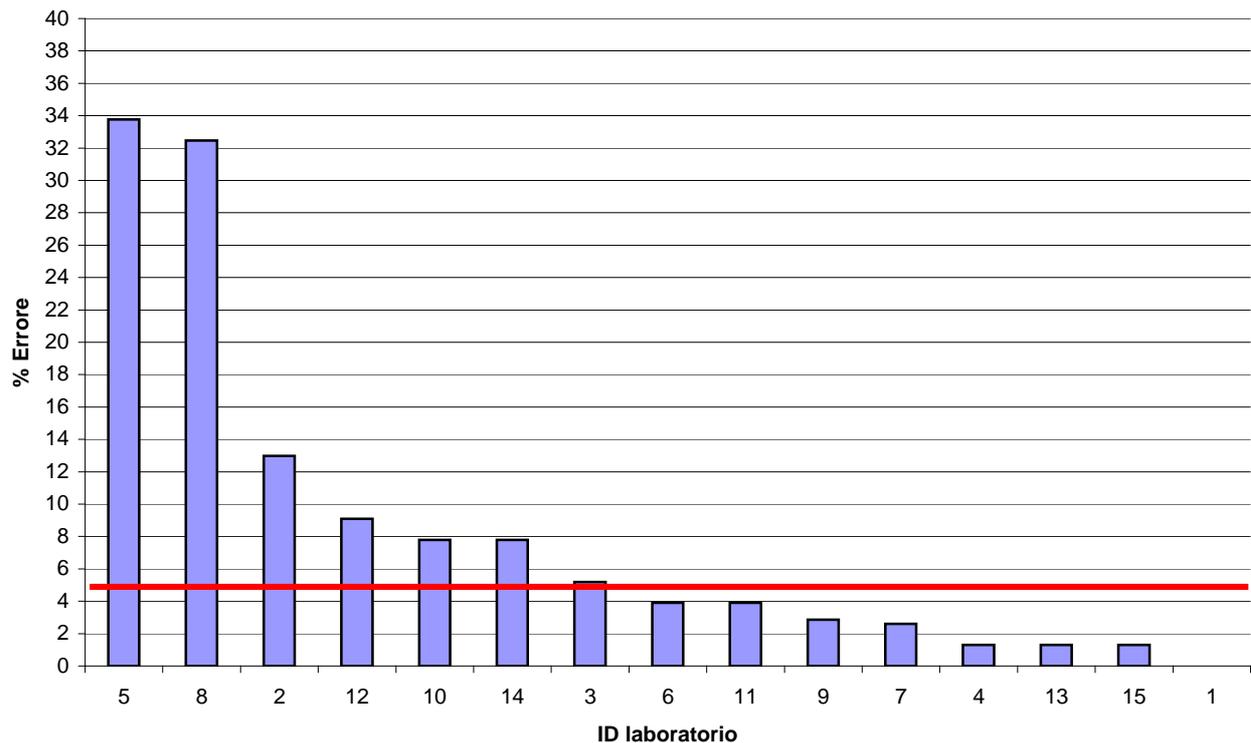
Per l'isolato EC1\_3, 7 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 100%, 5 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza >90%, mentre 3 partecipanti hanno ottenuto una concordanza compresa tra il 72,73% (8 su 11 isolati concordi) e l'81,82%.

Per l'isolato EC1\_4, 3 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 100%, 7 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza >90%, mentre 5 partecipanti hanno ottenuto una concordanza compresa tra il 72,73% e l'81,82%.

Per l'isolato EC1\_5, 7 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 100%, 6 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza >90%, mentre 2 partecipanti hanno ottenuto una concordanza rispettivamente del 63,64% e dell'81,82%.

Per l'isolato EC1\_6, 7 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 100%, 6 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza >90%, mentre 2 partecipanti hanno ottenuto una concordanza rispettivamente del 72,73% e dell'81,82%.

Per l'isolato EC1\_7, 11 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 100%, 1 partecipante su 15 ha ottenuto una concordanza >90%, 1 partecipante ha ottenuto una concordanza dell'81,82%. e 2 partecipanti hanno ottenuto una concordanza < al 50%.



La linea rossa indica il limite che stabilisce una % di errore  $\leq 5\%$

Grafico 1. Errori (%) per partecipante per *Escherichia coli*

Il Grafico 1 mostra il valore degli Errori (%) per partecipante per *Escherichia coli*.

I risultati ottenuti mostrano che 9 partecipanti su 15 (60%) hanno avuto una bassa % di Errori ( $\leq 5\%$ ), ed hanno ottenuto una concordanza (%) per partecipante per agente superiore o uguale al 95% (laboratori nr. 1, 15, 13, 4, 7, 9, 11, 6, 3); 3 partecipanti (laboratori nr. 14, 10, 12) hanno ottenuto una percentuale di Errori comunque inferiore al 10%, e solo 3 partecipanti su 15 (laboratori nr. 2, 8, 5) hanno ottenuto una % di Errori superiore al 10% (compresa tra il 13% ed il 33% circa).

Nota: Si è reso necessario un "errata corrige" per i risultati attesi degli isolati EC1\_1, EC1\_3 e EC1\_4, a causa di un disallineamento dei dati nella fase di trasferimento del portale sul server. L'analisi dei risultati ha tenuto conto delle modifiche apportate.

### 3.2 *Staphylococcus spp.*

Tutti i partecipanti hanno eseguito i Test di sensibilità agli antibiotici sugli isolati di *Staphylococcus spp.* con la metodica di Disk Diffusion; tutti i partecipanti tranne uno hanno eseguito il Test su tutti gli isolati con tutte le molecole indicate, mentre un partecipante ha eseguito i test su tutti gli isolati con tutte le molecole tranne che utilizzando la combinazione trimethoprim+sulfamidico.

I risultati elaborati vengono mostrati in due modi:

-Concordanza % per isolato (Tabella 4).

-Errori % per partecipante (Grafico 2).

|              | <b>N Risultati</b> | <b>% di Concordanza</b> |
|--------------|--------------------|-------------------------|
| <b>ST1_1</b> | 209                | 93,30                   |
| <b>ST1_2</b> | 209                | 92,34                   |
| <b>ST1_3</b> | 209                | 93,78                   |
| <b>ST1_4</b> | 209                | 90,43                   |
| <b>ST1_5</b> | 209                | 76,56                   |
| <b>ST1_6</b> | 209                | 95,69                   |
| <b>ST1_7</b> | 209                | 86,12                   |

Tabella 4. Concordanza % per isolato di *Staphylococcus spp.*

In Tabella 4 vengono mostrati i risultati di Concordanza % per tutti i partecipanti per ogni isolato di *Staphylococcus spp.*, dove N rappresenta la somma dei risultati inseriti.

Di seguito si riportano i risultati nel dettaglio.

Per l'isolato ST1\_1, 4 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 100%, 8 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 92,86% (13 su 14 risultati concordi), 2 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 85,71% (12 su 14 risultati concordi), 1 partecipante su 15 ha ottenuto una concordanza del 84,62% (11 su 13 risultati concordi).

Per l'isolato ST1\_2, 9 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 100%, 2 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 92,86%, 1 partecipante su 15 ha ottenuto una concordanza del 85,71%, 4 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza < 86%.

Per l'isolato ST1\_3, 10 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 100%, 1 partecipante su 15 ha ottenuto una concordanza del 92,86%, 4 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza < 86%.

Per l'isolato ST1\_4, 10 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 100%, 2 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 92,86%, 3 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza < 86%.

Per l'isolato ST1\_5, 1 partecipante su 15 ha ottenuto una concordanza del 100%, 1 partecipante su 15 ha ottenuto una concordanza del 92,86%, 13 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza < 86%.

Per l'isolato ST1\_6, 11 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 100%, 2 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 92,86%, 2 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza < 86%.

Per l'isolato ST1\_7, 1 partecipante su 15 ha ottenuto una concordanza del 100%, 4 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza del 92,86%, 10 partecipanti su 15 hanno ottenuto una concordanza < 86%.

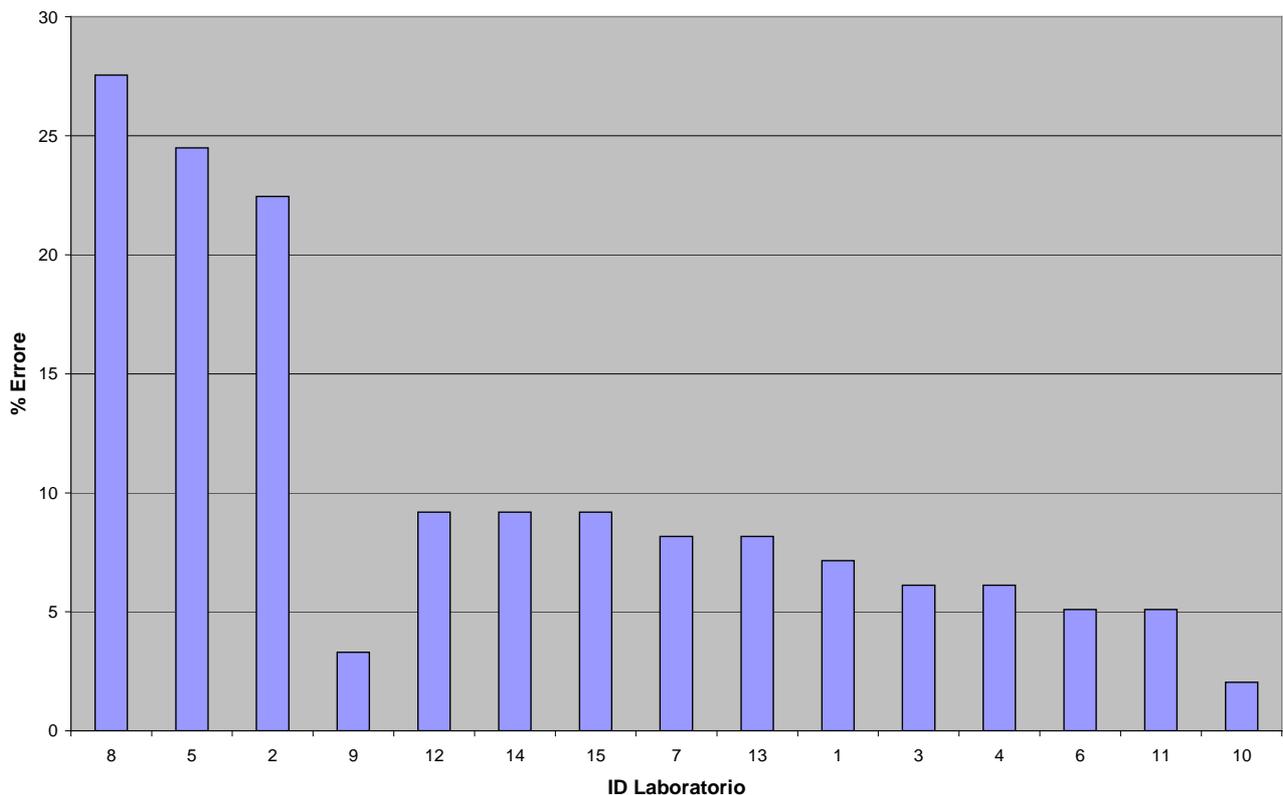


Grafico 2. Errori (%) per partecipante per *Staphylococcus spp.*

Il Grafico 1 mostra il valore degli Errori (%) per partecipante per *Staphylococcus spp.*.

I risultati ottenuti mostrano che 3 partecipanti su 15 (laboratori nr. 10, 11, 6) hanno avuto una bassa % di Errori ( $\leq 5\%$ ) ed hanno ottenuto una Concordanza (%) per laboratorio superiore o uguale al 95%, 9 partecipanti (laboratori nr. 4, 3, 1, 13, 7, 15, 14, 12, 9) hanno totalizzato una % di Errori inferiore al 10%, e solo 3 partecipanti su 15 (laboratori nr. 2, 5, 8) hanno avuto un livello di Errori superiore al 10% (valori compresi tra 72,45% e 77,55%).

#### 4. DISCUSSIONE

Un'analisi generale dei risultati evidenzia che il livello percentuale di Errori avuto per *E. coli* è inferiore rispetto a quello per *Staphylococcus spp.*, (Concordanza % per agente 91,55% vs 89,75%). Complessivamente per entrambi gli agenti batterici i valori sono risultati superiori o prossimi al 90%, limite che è stato considerato accettabile per gli scopi di questo circuito.

Dall'analisi dei dati per *E. coli* non è stato possibile ricondurre gli Errori a specifiche motivazioni correlate ad un particolare isolato o antibiotico, e gli stessi rientrano presumibilmente nell'ambito di problematiche tecniche del singolo laboratorio partecipante (dati non mostrati).

Dall'analisi dei dati per *Staphylococcus spp.*, due isolati hanno invece ottenuto una Concordanza (%) per isolato inferiore all'80%.

L'isolato siglato STAPH1\_5 ha ottenuto infatti un Concordanza (%) per antibiotico per la classe dei Beta-Lattamici  $\leq 53,3\%$ .

In particolare, nell'ambito del panel che doveva essere testato, per questa classe di antibiotici sono stati richiesti:

- ampicillina
- oxacillina
- amoxicillina/acido clavulanico
- cefalotina
- cefalosporina di terza generazione (ceftiofur, oppure cefpodoxime, o cefotaxime).

Tranne che per l'ampicillina, nel caso fosse stato ottenuto un risultato interpretabile come Resistente o Intermedio per una qualsiasi delle molecole testate, si poteva sospettare di essere in presenza di un MRS (Staphylococcus Meticillino Resistente).

Questo isolato era in effetti un MRS, ma dei 15 laboratori partecipanti, 9 hanno ottenuto un Very Major Error per Oxacillina. Tale esito ha determinato, di conseguenza, una misclassificazione degli esiti per tutti gli antibiotici beta-lattamici, che secondo lo Standard CLSI M31-A3 avrebbero dovuto essere interpretati tutti come Resistenti.

Dei 9 partecipanti sopra citati, 4 avevano ottenuto per almeno un'altra delle molecole sopra indicate valori di R o I, quindi pur non avendo rilevato una resistenza per Oxacillina, avrebbero potuto sospettare un MRS.

Gli altri partecipanti (6 su 15) hanno correttamente individuato la Resistenza alla oxacillina ma, ad eccezione di un laboratorio, tutti gli altri non hanno applicato quanto riportato nello standard CLSI (M31-A3 pag. 66).

Tale risultato pone l'accento sulla difficoltà di molti laboratori ad individuare e caratterizzare dal punto di vista del profilo di resistenza agenti zoonosici multiresistenti emergenti quali MRSA. Questo aspetto deve destare una certa preoccupazione all'interno dei laboratori, ed essere da stimolo per un miglioramento della capacità di esecuzione ed interpretazione dei test di sensibilità agli antibiotici, anche con il supporto del CRN-AR.

Per quanto riguarda il campione STAPH1\_7, pur avendo tutti i partecipanti correttamente classificato l'isolato come meticillino-resistente, ovvero Resistente all'oxacillina secondo lo Standard CLSI M31-A3, anche in questo caso, come per lo STAPH1\_5, non tutti hanno applicato quanto previsto dallo Standard stesso.

Per quanto riguarda gli antibiotici gentamicina e tetraciclina i risultati di Concordanza % per antibiotico sono stati rispettivamente del 60% e 53.3% e quindi al disotto dei livelli di accettabilità.

Dall'analisi dei dati per questi antibiotici, non è stato tuttavia possibile ricondurre gli Errori a specifiche motivazioni e gli stessi rientrano verosimilmente nell'ambito di problematiche tecniche del singolo laboratorio partecipante.

## 5 CONCLUSIONI

In questo primo Test Interlaboratorio per i Saggi di Sensibilità agli Antibiotici organizzato dal CRN-AR, la maggior parte dei partecipanti (12/15), per gli agenti proposti, ha raggiunto un livello accettabile di Concordanza % ( $\geq 90\%$ , così come definito nel paragrafo 2.4 Metodi per l'analisi dei dati), dimostrando nel complesso la buona capacità diagnostica dei laboratori IZS operanti sul territorio nazionale. Per quanto riguarda i risultati discordanti, in molti casi non è stato possibile ricondurre gli Errori commessi dai singoli partecipanti a specifiche motivazioni, e gli stessi rientrano verosimilmente nell'ambito di problematiche tecniche del laboratorio che ha effettuato le prove.

Un problema specifico comune a più laboratori è stato tuttavia riscontrato per quanto riguarda la capacità dei partecipanti di individuare e caratterizzare correttamente la resistenza ai Beta-Lattamici in MRSA, agenti zoonosici multiresistenti emergenti. Questo problema merita di essere sottolineato nel fornire il feedback ai laboratori partecipanti, sia per le possibili implicazioni nella routine diagnostica, relativamente alla salute degli animali, trattandosi di errori di refertazione che possono favorire un approccio terapeutico inefficace, sia per i possibili rischi di fallire l'individuazione di MRSA nella sorveglianza passiva di laboratorio, per scopi di prevenzione in Sanità Pubblica Veterinaria.

Il livello di concordanza ottenuto per singolo partecipante, ed in generale il risultato del circuito deve essere comunque da stimolo per un miglioramento continuo della capacità di esecuzione ed interpretazione dei test di sensibilità agli antibiotici, e qualora ritenuto necessario dal laboratorio, dovrebbe portare all'attuazione di un nuovo percorso di validazione del processo diagnostico, seguendo le indicazioni del CLSI M31-A3, avvalendosi del supporto del CRN-AR. In quest'ottica si incoraggiano i laboratori a contattare il CRN-AR per discutere i risultati per singolo laboratorio e a fornire suggerimenti e osservazioni per il miglioramento di futuri Test Interlaboratorio da proporre nei prossimi anni.

In conclusione, con la speranza di aver offerto uno strumento pratico ed utile agli obiettivi di Sanità Animale e di Sanità Pubblica Veterinaria perseguiti dagli IIZZSS, confidiamo di poter fornire tale opportunità anche nel prossimo futuro ed in maniera periodica a tutti i laboratori che vorranno partecipare.