

## **ESBL + AmpC Screening kit**

### **Kit per identificazione delle Beta-lattamasi**

**Impiego Previsto:** Le tavolette vengono utilizzate *in vitro* per identificare i meccanismi di resistenza microbica con il metodo dell'agar diffusione utilizzando dischetti o tavolette. Il fine è quello di confermare il meccanismo per mezzo del quale l'organismo ha sviluppato resistenza verso specifici agenti antimicrobici.

**Principio del test:** questo test combinato è stato preparato per lo screening di routine dei produttori di ESBL e/o AmpC . Il Kit è composto da quattro cartucce di tavolette: una cartuccia di tavolette contenenti Cefotaxime da solo e tre cartucce di tavolette con Cefotaxime combinato con Clavulanato (inibitore delle ESBL) e/o Cloxacillina (inibitore di AmpC) e Cefotaxime combinato sia con Clavulanato che Cloxacillina. Nel caso si ritenga che un organismo possieda attività ESBL e/o AmpC , ciò può essere dimostrato da una differenza tra la zona di inibizione della cefalosporina da sola e quella determinata dalla combinazione con gli inibitori. La scelta della cefalosporina è stata fatta per ottenere la maggior sensibilità e specificità con un singolo agente. La sensibilità e specificità più elevate si ottengono includendo i risultati per tutte le cefalosporine di terza generazione. Per tutti gli isolamenti con ridotta sensibilità alle cefalosporine, o all' Aztreonam si dovrebbe pensare a possibili produttori di ESBL. Per effettuare un test di conferma per ESBL, ROSCO consiglia l'utilizzo di un combination disk con Cefotaxime, Cefepime and Ceftazidime con e senza clavulanato. Un incremento della zona maggiore o uguale a 5 mm Nel caso di combinazione Ceftazidime + Clavulanate, Cefotaxime + Clavulanate o Cefepime + Clavulanate rispetto a Cefotaxime, Ceftazidime o Cefepime,rispettivamente conferma la presenza di ESBL.

Per il test di conferma AmpC ROSCO consiglia l'utilizzo di AmpC Confirm Kit/Pack.

#### **Contenuto e formulazione:**

4 cartucce, formulate con la massima stabilità, ciascuna contenente 50 tavolette:

1. Cefotaxime 30 µg, codifica CTX30
2. Cefotaxime 30 µg + Clavulanato, codifica CTX+C
3. Cefotaxime 30 µg + Cloxacillina,codifica CTXCX
4. Cefotaxime 30 µg + Clavulanato + Cloxacillina, codifica CTXCC

**Conservazione/Utilizzazione:** conservare a 2-8°C nella confezione originale o nelle cartucce non aperte fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Lasciare le cartucce a temperatura ambiente per 30-60 minuti prima di rimuovere il coperchio. Dopo che la cartuccia è stata aperta e posta nel dispensatore, può essere tenuta a temperatura ambiente sino a 2 mesi.

#### **Precauzioni:**

Solamente per uso diagnostico *in vitro*. Adottare precauzioni di sicurezza e utilizzare tecniche asettiche quando si lavora con materiale a potenziale rischio biologico. Da utilizzarsi solamente da personale professionale e opportunamente addestrato. Sterilizzare tutti i rifiuti dopo l'utilizzo. Fare riferimento alla Scheda di Sicurezza del Prodotto.

#### **Materiali richiesti, ma non forniti:**

Attrezzature microbiologiche standard come anse sterili, terreni di coltura, incubatori ecc. e reagenti biochimici.

#### **Procedura:**

1. Utilizzando una coltura pura e fresca preparare una sospensione dell'organismo da esaminare equivalente allo standard di McFarland 0,5
2. Utilizzando un tampone sterile o una spatola di Drigalski distribuire la sospensione in modo uniforme su tutta la superficie di una piastra di Mueller Hinton susceptibility agar.
3. Utilizzando una pinzetta o un dispensatore, deporre una tavoletta per tipo sulla superficie della piastra inocolata, assicurandosi che ci sia spazio sufficiente tra le singole tavolette per permettere l'adeguata misurazione delle zone di inibizione. Si può utilizzare più di un ConfirmID sulla stessa piastra.
4. Incubare a  $35\pm 1$  °C per  $18\pm 2$  ore (overnight)
5. Misurare e registrare il diametro della zona di inibizione. Nessuna zona attorno alla tavoletta corrisponde ad una zona di inibizione di 9 mm.

**Interpretazione dei risultati:**

I risultati vengono interpretati confrontando le zone di inibizione delle diverse tavolette.

1. Confrontare la zona di inibizione della tavoletta di Cefotaxime 30 µg con ciascuna zona di inibizione delle tavolette con le combinazioni di Cefotaxime 30 µg + inibitore(i).

Se tutte le zone sono entro 3mm una dall'altra, l'organismo non esprime attività ESBL o AmpC .

2. Misurare le zone di inibizione attorno a Cefotaxime 30 µg(CTX30) e Cefotaxime 30 µg + Cloxacillina(CTXCX) e confrontarle con Cefotaxime 30 µg + Clavulanato(CTX+C) e Cefotaxime 30 µg + Clavulanato + Cloxacillina (CTXCC), rispettivamente.

Se entrambi CTX+C – CTX30 e CTXCC – CTXCX sono  $\geq 5$ mm e entrambi i valori al punto 3) sono  $< 5$  mm, l'organismo dimostra solamente attività ESBL.

3. Misurare le zone di inibizione attorno a Cefotaxime 30 µg + Clavulanato (CTX+C) e Cefotaxime 30 µg(CTX30) e confrontarle con Cefotaxime 30 µg + Clavulanato + Cloxacillina(CTXCC) e Cefotaxime 30 µg + Cloxacillin(CTXCX), rispettivamente.

Se entrambi CTXCC – CTX+C e CTXCX – CTX30 sono  $\geq 5$ mm ed i valori al punto 2) sono  $< 5$ mm, l'organismo dimostra solamente attività AmpC.

4. Misurare le zone di inibizione attorno a Cefotaxime 30 µg(CTX30) e Cefotaxime 30 µg + Cloxacillin (CTXCX) e confrontarle con Cefotaxime 30 µg + Clavulanato(CTX+C) e Cefotaxime 30 µg + Clavulanate + Cloxacillin(CTXCC), rispettivamente.

Se CTXCC – CTXCX  $\geq 5$ mm (ESBL) e CTX+C – CTX30  $< 5$ mm (AmpC), l'organismo dimostra sia attività ESBL che AmpC.

Si noti che il clavulanato ha 2 differenti funzioni:

1. inibisce le ESBL
2. induce l' AmpC. Questo spiega perchè CTX+C-CTX30  $< 5$ mm, se l'isolato possiede AmpC
5. Utilizzare la tabella1 come aiuto nell'interpretazione.

**Procedura per la lettura dei risultati:**

**Passaggio 1** : se B-A e/o D-C  $\geq 5$  mm: ESBL positivo.

Altrimenti ESBL negativo.

**Passaggio 2A** : in caso di isolato ESBL positivo:

se D-B  $\geq 5$  mm e/o B-A  $< 5$  mm: AmpC positivo.

Conseguentemente l'isolato è ESBL + AmpC positivo

**Passaggio 2B** : in caso di isolato ESBL negativo:

se C-A e/o D-B  $\geq 5$  mm: AmpC positivo.

Conseguentemente l'isolato è ESBL negativo e AmpC positivo

Altrimenti è negativo sia per ESBL che AmpC

Un programma di calcolo è disponibile.

**Controllo di Qualità:**

Sebbene ROSCO Diagnostica A/S produca i dischetti (tavolette) più stabili, è comunque importante eseguire regolarmente i controlli di qualità. Procedere utilizzando almeno un organismo che evidenzi una reazione positiva ed uno con reazione negativa. Le zone di inibizione ottenute con i dischetti con le combinazioni, a confronto con quelli contenenti le cefalosporine da sole, utilizzando un organismo per il controllo negativo (es. *E. coli* ATCC 25922), dovrebbero mostrare differenze al massimo di 3 mm. Differenze maggiori indicano che il prodotto ha perso attività e non deve essere utilizzato.

I seguenti ceppi possono essere utilizzati per il C.Q. positivo:

*Enterobacter cloacae* NCTC 13406, Amp C positivo

*Enterobacter cloacae* ATCC BAA – 1143, Amp C positivo

*Klebs. pneumoniae* ATCC 700603 ESBL positivo

<b>Tabella 1</b>		<b>Cefotaxime CTX30 A</b>	<b>Cefotaxime + Clavulanate CTX+C B</b>	<b>Cefotaxime + Cloxacillina CTXCX C</b>
<b>ESBL</b>	CTX+C or B CTXCC D	≥ 5 mm -	- <5 mm	- ≥ 5 mm
<b>AmpC</b>	CTXCX or C CTXCC D	≥ 5 mm -	- ≥ 5 mm	- <5 mm
<b>ESBL + AmpC</b>	CTX+C or B CTXCC D	<5 mm (AmpC) -	- ≥ 5 mm (AmpC)	- ≥ 5 mm (ESBL)

Assenza di ESBL e AmpC: tutte le zone entro 3mm l'una dall'altra. CTXCC = Cefotaxime + Clavulanato + Cloxacillina

Nota : "-" significa che la differenza è irrilevante per la rilevazione del meccanismo (cioè la differenza tra CTXCC in confronto a CTX30 è irrilevante per la rilevazione di ESBL).

**Referenze:** [www.rosco.dk](http://www.rosco.dk)

La User's Guide in lingua inglese può essere richiesta ai nostri uffici o a ROSCO Diagnostica A/S:  
E-mail: [info@rosco.dk](mailto:info@rosco.dk) or

**Produttore:** ROSCO Diagnostica A/S, Taastrupgaardsvej 30, DK-2630 Taastrup, Denmark.

**Confezione**

**2398008 ESBL + AmpC Screening kit** 50 test

**CND:** W01040805

