

**Detection of hGISA, GISA, VRE, Daptomycin resistance**  
**Rilevazione dei ceppi hGISA, GISA, VRE e della resistenza alla Daptomicina**  
**2398017**

Solo per uso diagnostico in vitro

**Revisione:** DBV0036D del 26/02/2016

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

**Distributore:** Biolife Italiana

**Impiego Previsto:** Le tavolette vengono utilizzate per l'identificazione in vitro dei meccanismi di resistenza microbica con il metodo della diffusione su agar. Il fine è quello di confermare il meccanismo per mezzo del quale l'organismo ha sviluppato resistenza verso specifici agenti antimicrobici.

**Utilizzatori previsti:** Da utilizzarsi solamente da personale professionale e opportunamente addestrato a lavorare con agent microbici e con test di diffusione da dischetti .

**Principio del test:** Metodo della Pre-diffusione: il principio della prediffusione fu sviluppato dal microbiologo danese Frølund-Thomsen. L'idea è di dare agli antimicrobici ad alto peso molecolare un periodo più lungo pe diffondersi all'interno dell'agar prima che cominci la crescita batterica. Con il metodo della prediffusione si ottiene una maggiore differenza nella misura delle zone tra valori di MIC consecutivi: circa 5 mm rispetto a 1-1,5 mm con i normali metodi di diffusione. Questo permette una distinzione più sicura tra gli isolati sensibili e quelli a ridotta sensibilità o resistenti.

**Istruzioni dettagliate:** Le istruzioni dettagliate per l'uso di ROSCO per il rilevamento dei meccanismi di resistenza dovrebbero essere disponibili nei laboratori che lavorano con i prodotti diagnostici di ROSCO. L'ultima versione dell'istruzione per l'uso può essere consultata e / o stampata dal sito web di ROSCO [www.rosco.dk](http://www.rosco.dk)

La Guida per l'utente può essere ottenuta su richiesta gratuitamente dal proprio distributore locale o direttamente da ROSCO.

E-mail: [info@rosco.dk](mailto:info@rosco.dk)

Telefono: +45 43 99 33 77

**Contenuto e formulazione:**

3 cartucce, formulate per ottenere la massima stabilità, ciascuna contenente 50 tavolette:

1. Vancomicina 30 µg, cod. VAN30
2. Teicoplanina 30 µg, cod. TEI30
3. Daptomicina 30 µg, coded DAP30

**Conservazione/Utilizzazione:** Conservare a T. ambiente fino alla scadenza indicata sulla confezione.

**Precauzioni:**

Solamente per uso diagnostico *in vitro*. Adottare precauzioni di sicurezza e lavorare in condizioni di sterilità quando si maneggia materiale a potenziale rischio biologico. Da utilizzarsi solamente da personale professionale e opportunamente addestrato.

Sterilizzare tutti i rifiuti dopo l'utilizzo e prima dello smaltimento. 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. Porre una pastiglia di ciascun tipo: Vancomicina 30 ug, Teicoplanina 30 ug e Daptomicina 30ug su una piastra di Mueller Hinton agar non inoculata.
2. Dopo 2 ore di incubazione a 35/37 °C rimuovere la pastiglia picchiando la piastra sul bancone e identificare la piastra con un'abbreviazione dell'antibiotico da utilizzare (VAN,TEI,DAP).
3. Porre la piastra a T. ambiente per altre 18-22 ore.
4. Inoculare la piastra con il ceppo da testare, utilizzando un inoculo a concentrazione 0.5 di McFarland. Incubare overnight a 35 °C
5. Misurare e registrare il diametro delle zone di inibizione. Nessuna zona attorno alla tavoletta corrisponde ad una misura di 9 mm (diametro della tavoletta).

**NOTA:** la prediffusione può essere effettuata il giorno precedente al test per limitare il tempo e i risultati saranno disponibili in 24 ore. Le piastre prediffuse in esubero possono essere conservate a 2-8 gradi per 24 ore.

### Interpretazione dei risultati:

I risultati vengono interpretati confrontando le zone di inibizione delle diverse tavolette secondo i seguenti standards:

#### Stafilococchi

1. Se la zona intorno alla Teicoplanina è <20 mm **oppure** quella della Vancomicina è <20 mm l'isolato è un hGISA o un hVISA.
2. Se la zona intorno alla Teicoplanina è <20 mm **e** quella della Vancomicina è <20 mm l'isolato è un GISA
3. Se la zona intorno alla Daptomicina è  $\geq 22$  mm l'isolato è sensibile: MIC  $\leq 1$  ug/mL.  
Se la zona intorno alla Daptomicina è < 20 mm l'isolato è resistente: MIC  $\geq 2$  ug/mL.

#### Enterococchi

1. Se la zona intorno alla Teicoplanina è inesistente come pure quella intorno alla Vancomicina l'organismo è Van A
2. Se la zona intorno alla Vancomicina è < 16 mm ( confusa) e la zona intorno alla Teicoplanina è > 20 mm, l'organismo è Van B
3. Se la zona intorno alla Vancomicina è < 12 mm (spigolosa) e la zona intorno alla Teicoplanina è > 20 mm, l'organismo è Van C
4. Se la zona intorno alla Daptomicina è  $\geq 12$  mm l'isolato è sensibile: MIC  $\leq 4$  ug/mL.  
Se la zona intorno alla Daptomicina è inesistente, l'isolato è resistente.

Utilizzare la tavola 1 per aiutarsi nell'interpretazione.

#### Controllo di Qualità:

Sebbene ROSCO Diagnostica A/S produca le tavolette a diffusione più stabili, è comunque necessario eseguire regolarmente i controlli di qualità.

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

- Stafilococco Aureo ATCC 700698: hVISA e Daptomicina sensibile
- Stafilococco Aureo AST 403: GISA e Daptomicina sensibile
- Enterococco fecale ATCC 51299: Van B
- Stafilococco Aureo AST 408: GISA e Daptomicina resistente

Tabella 1		Vancomicina 30 ug	Teicoplanina 30 ug	Daptomicina 30 ug
hGISA		< 20 mm <b>oppure</b>	< 20 mm	
GISA		< 20 mm <b>e</b>	< 20 mm	<5 mm
VRE	Van A Van B Van C	Nessuna zona < 16 mm (confusa) < 12 mm (spigolosa)	Nessuna zona > 20 mm > 20 mm	
resistenza alla Daptomicina	Stafilococchi			< 20 mm
	Enterococchi			Nessuna zona

**Streptococchi**  $\geq 26$  mm ( S )  
< 22 mm ( R )

#### Bibliografia

- 1 Nielsen SV, Casals JB : Detection of decreased susceptibility to glycopeptides in S. aureus using tablet(disc) prediffusion.15th ECCMID, April 2005.
- 2 Koeth L et al: Multisite evaluation of the Daptomycin Neo-Sensitab prediffusion method against 20 S. aureus. ECCMID p-1065, Milano 2011.
- 3 Silveira A CO et al: Is prediffusion test an alternative to improve accuracy in screening hVISA strains and to detect susceptibility to glycopeptides/lipopeptides? Diagn Microbiol Infect Dis, accepted manuscript 2014.

**Confezione:** 2398017

**Detection of hGISA, GISA, VRE, Daptomycin resistance**

50 tests

**CND:** W01040805

