

Total ESBL + AmpC Confirm kit

Kit per identificazione delle beta-lattamasi

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: Il Kit è composto da sei cartucce di tavolette contenenti :

- Cefotaxime+Cloxacillina,
- Ceftazidime+Cloxacillina,
- Cefotaxime+Clavulanato e le due combinazioni triple:
- Cefotaxime+Cloxacillina+Clavulanato,
- Ceftazidime+Cloxacillina+Clavulanato.

Il vantaggio di questo kit è che può essere utilizzato per identificare le ESBL nelle enterobatteriaceae produttori AmpC inducibile (Enterobacter, Serratia, C.Freundii, Morganella ecc.) e le enterobatteriaceae senza o con poca attività cromosomica beta lattamasica (e.Coli, Klebsiella spp, P.mirabilis).

Il test va effettuato su terreno di Mueller Hinton semplice senza aggiunta di cloxacillina.

Contenuto e formulazione:

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

1. Cefotaxime + Cloxacillin, coded CTXCX
2. Cefotaxime + Clavulanate, coded CTX+C
3. Ceftazidime + Cloxacillin, coded CAZCX
4. Ceftazidime + Clavulanate, coded CAZ+C
5. Cefotaxime + Cloxacillin + Clavulanate, coded CTXCC
6. Ceftazidime + Cloxacillin + Clavulanate, coded CAZCC

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. Se si utilizza la cartuccia per un periodo superiore a 2 mesi, può essere conservata a 2-8 °C. Sigillare sempre le cartucce con il coperchio originale verde e non mettere mai il dispenser nel frigorifero. Quando vengono conservate a 2-8 °C le cartucce devono essere portate a T ambiente come descritto sopra prima dell'uso.

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. 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 inoculata, 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 Kit di Conferma sulla stessa piastra.
4. Incubare a 35 ± 1 °C per 18 ± 2 ore (overnight)
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).

Interpretazione dei risultati:

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

1. Confrontare la zona di inibizione della tavoletta di CTXCC con la zona di inibizione di Cefotaxime+Cloxacillina. Se la differenza tra le due è ≥ 5 mm l'organismo produce ESBL
2. Misurare la zona di inibizione attorno a CAZCC e confrontarla con la zona di inibizione di Ceftazidime+Cloxacillina. Se la differenza tra le due è ≥ 5 mm l'organismo produce ESBL
3. Confrontare la zona di inibizione della tavoletta di CTXCC con le zone di inibizione di Cefotaxime+Clavulanato. Se la differenza tra le due è ≥ 5 mm l'organismo è AmpC positivo.
4. Misurare la zona di inibizione attorno a CAZCC e confrontarla con la zona di inibizione di Ceftazidime+Clavulanato. Se la differenza tra le due è ≥ 5 mm l'organismo è AmpC positivo.
5. Confrontare la zona di inibizione della tavoletta di CTXCC con le zone di inibizione di Cefotaxime+Cloxacillina e Cefotaxime+Clavulanato. Se la zona intorno alla tavoletta tripla è ≥ 5 mm rispetto alle zone intorno ad entrambe le doppie combinazioni, l'organismo produce ESBL + AmpC.
6. Misurare la zona di inibizione attorno a CAZCC e confrontarla con le zone di inibizione di Ceftazidime+Cloxacillina e Ceftazidime+Clavulanato. Se la zona intorno alla tavoletta tripla è ≥ 5 mm rispetto alle zone intorno ad entrambe le doppie combinazioni, l'organismo produce ESBL + AmpC.

Controllo di Qualità:

Sebbene ROSCO Diagnostica A/S produca le tavolette a diffusione più stabili, è comunque necessario eseguire regolarmente i controlli di qualità. Procedere utilizzando almeno un organismo che produca una reazione positiva ed uno che produca una reazione negativa. Le zone di inibizione ottenute con le tavolette multiple utilizzando un organismo per il controllo negativo (es. *E. coli* ATCC 25922), dovrebbero avere un diametro massimo di 3 mm.

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

- Enterobacter cloacae NCTC 13406, AmpC positivo
- Klebs. pneumoniae ATCC 700603, ESBL positiva
- Enterobacter cloacae ATCC BAA-1143 AmpC positivo

**Tabella 1:
Enterobacteriaceae**

		Cefotaxime+Cloxacillina +Clavulanate CTXCC	Ceftazidime+Cloxacillina +Clavulanato CAZCC	AMP PTZ
ESBL	Cefotaxime+Cloxacillina	≥ 5 mm e/o	-	
	Ceftazidime+Cloxacillina		≥ 5 mm	
AmpC	Cefotaxime+Clavulanato	≥ 5 mm e/o	-	
	Ceftazidime+Clavulanato		≥ 5 mm	
ESBL+AmpC	Cefotaxime+Cloxacillina	≥ 5 mm e	-	
	Cefotaxime+Clavulanato	≥ 5 mm	-	
	Ceftazidime+Cloxacillina		≥ 5 mm e	
	Ceftazidime+Clavulanato		≥ 5 mm	
Complesso ESBL con fenotipo mutante	Cefotaxime+Cloxacillina	≥ 5 mm e/o		AMC Resistente
	Ceftazidime+Cloxacillina		≥ 5 mm	PTZ Resistente

AMC= Amoxicillina+Clavulanato

PTZ = Piperacillina+Tazobactor

P. aeruginosa e Acinetobacter

Per *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* spp. è importante solo la determinazione di ESBL poiché essi sono produttori naturali di AmpC o cefalosporinasi.

La determinazione di ESBL in *P. aeruginosa* e *Acinetobacter* può essere difficoltosa perché essi sono produttori di cefalosporinasi che mascherano l'effetto delle ESBL. L'uso di terreno contenente cloxacillina, che inibisce l'attività delle cefalosporinasi, permette di rilevare il sinergismo tra le cefalosporine di terza generazione e il clavulanato. Rosco Diagnostica ha prodotto le pastiglie contenenti cloxacillina che si possono utilizzare su normali terreni di MH agar.

		Cefotaxime+Cloxacillina + Clavulanato CTXCC	Ceftazidime+Cloxacillina + Clavulanato CAZCC
ESBL Incl. PER, VEB, GES, CTXM, SHV ecc..	Cefotaxime + Cloxacillin Ceftazidime + Cloxacillin	>= 5 mm and/or	>= 5 mm

Referenze

Le descrizioni dettagliate ROSCO per la identificazione dei meccanismi di resistenza: "ROSCO's User's Guide for Detection of Resistance Mechanisms" in lingua inglese e Le User's Guide sempre in lingua inglese possono essere richieste ai nostri uffici o direttamente a ROSCO Diagnostica A/S: E-mail: info@rosco.dk, Fax +45 43 52 73 74, oppure essere consultate e/o stampate dal sito www.rosco.dk.

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

Confezione:

2398019
Total ESBL + AmpC Confirm kit
50 test
CND: W01040805

CE