

# Rapid ESBL Screen Kit

## Kit per la rilevazione di meccanismi di resistenza

### 2398022

Solo per uso diagnostico in vitro

**Revisione:** DBV0041E del 24/01/2017

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

**Distributore:** Biolife Italiana

**Impiego Previsto:** Le compresse vengono utilizzate per lo screening *in vitro* dei batteri produttori di ESBL. Il metodo è applicabile alle Enterobacteriaceae.

#### Principio del test:

I batteri potenzialmente produttori di ESBL vengono solitamente valutati per mezzo dei test di sensibilità alle cefalosporine (Ceftazidime, Cefotaxime, Cefpodoxime). Una riduzione della zona di inibizione intorno a queste cefalosporine indica la probabile produzione di ESBL. Un metodo rapido è costituito dalla identificazione dell'idrolisi dell'anello beta-lattamico di una cefalosporina in presenza di un indicatore. Utilizzando questo principio, ROSCO Diagnostica ha messo a punto due nuove Diatabs: Cefotaxime + Indicatore (ESBL) e Cefotaxime + Tazobactam + Indicatore (ESBL). Il test si esegue rapidamente e la lettura del risultato è possibile già a partire da 30 minuti dopo l'inizio della reazione.

L'utilizzo di questo kit nella routine dello screening delle ESBL consente di risparmiare tempo e fatica.

La stabilità antimicrobica dei Rosco Diatabs è di almeno 3 anni.

#### Istruzioni Dettagliate:

Le istruzioni dettagliate di ROSCO per l'uso di DIATABS dovrebbero essere disponibili in ogni laboratorio che lavora con i prodotti diagnostici ROSCO.

L'ultima edizione delle istruzioni per l'uso è disponibile sul sito web di ROSCO [www.rosco.dk](http://www.rosco.dk)

Informazioni più dettagliate possono essere trovate nella "ROSCO's User's Guide for Detection of resistance mechanisms" in inglese.

Le istruzioni per l'uso e la guida per l'utente possono essere ottenute gratuitamente dal distributore locale su richiesta o da ROSCO:

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

Telefono: +45 43 99 33 77

#### Contenuto e formulazione:

1. Un flacone contenente 50 tavolette da 6 mm di: Cefotaxime + Indicatore (ESBL)
2. Un flacone contenente 50 tavolette da 6 mm di: Cefotaxime + Tazobactam + Indicatore (ESBL)

#### Conservazione/Utilizzazione:

Conservare a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Le cartucce devono essere conservate ben chiuse. Chiudere sempre le cartucce con il coperchio verde originale e non riporre mai il dispenser nel frigorifero. Lasciare i flaconi a temperatura ambiente per 30-60 minuti prima dell'uso per evitare la formazione di condensa sulle pastiglie.

Le cartucce possono essere aperte e rinchieste più volte senza compromettere la durata di conservazione delle compresse. La lunga conservabilità è dovuta all'utilizzo di sostanze cristalline.

#### 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 e prima di eliminarli. Fare riferimento alla Scheda di Sicurezza del Prodotto.

#### Materiali richiesti, ma non forniti:

Tampone B-PER II, Reagente di Estrazione per le Proteine Batteriche

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

#### Procedura:

1. Utilizzare sempre colture pure e fresche. In alternativa inoculare /Incubare 2 volte prima del test.
2. Le colonie devono essere prelevate dai seguenti terreni: Mueller-Hinton Agar, Blood agar o TSA agar. NON usare colonie provenienti da terreni selettivi (Drigalski, Mc Conkey)
3. Aggiungere diverse ansate dell'organismo da testare (prelevate dall'antibiogramma) a 150 uL di soluzione di NaCl allo 0,9% + 50 µl di tampone di lisi Tris-HCL 20 mmol/l (B-PER II; Bacterial Protein Extraction Reagent, Thermo-Scientific). Può essere utilizzato anche il reagente "Standard Bug Buster Tris buffered pH 7.5" di NOVAGEN.
4. Agitare la sospensione per 1 minuto e mantenere a T ambiente per 30 minuti.
5. Trasferire 50 uL della sospensione batterica in una provetta con 150 uL di soluzione di NaCl allo 0,9%, aggiungere una tavoletta di Cefotaxime + Indicatore (ESBL) e chiudere la provetta. Agitare dolcemente per fare in modo che la pastiglia si adagi sul fondo del tubo.
6. Incubare a 35/37 °C per 15 min, 30 minuti e 1 ora rispettivamente.  
Ripetere lo stesso processo con la tavoletta di Cefotaxime + Tazobactam + Indicatore.

#### Emocolture:

Prelevare 0,5 mL di emocoltura positiva per bacilli Gram negativi aggiungere 50 uL di Triton al 10%. Agitare con il Vortex. Lasciare 5 minuti a temperatura ambiente. Centrifugare per 2 min. a 13000 g. Scartare il soprinatante. Risospendere il pellet in 500 µl di acqua distillata, centrifugare nuovamente per 2 min. a 13000 g e scartare il soprinatante.

Sospendere il pellet di batteri in 150 uL di soluzione di NaCl allo 0,9% + 50 µl di tampone di lisi Tris-HCL e seguire la procedura indicata (agitare col Vortex per un minuto....).

**Urine:**

Prelevare 10 mL di urine positive per bacilli Gram negativi e centrifugare. Sospendere il pellet di batteri in 150 uL di soluzione di NaCl allo 0,9% + 50 µl di tampone di lisi Tris-HCL e seguire la procedura indicata.

**Interpretazione dei risultati:**

Il viraggio del colore da rosso a giallo indica la positività del risultato.

Se la reazione è positiva dopo 15 o 30 min. non è necessario incubare ulteriormente perché la positività può svanire.

Raramente il colore ottenuto dopo l'incubazione può essere giallo molto chiaro o arancio. In questo caso se il Cefotaxime + Tazobactam + Indicatore(ESBL) rimane rosso, il test è **Positivo**

- Se la provetta contenente Cefotaxime+ Indicatore (ESBL) vira al giallo e quella contenente Cefotaxime + Tazobactam + Indicatore(ESBL) rimane rosso, il test è **Positivo per ESBL**.
- Se la provetta contenente Cefotaxime+ Indicatore (ESBL) vira al giallo e anche quella contenente Cefotaxime + Tazobactam + Indicatore(ESBL) vira al giallo, il test è **Negativo per ESBL** ma è probabilmente positivo per una diversa beta-lattamasi.
- Se entrambe le provette mantengono il colore rosso, il test è **Negativo per ESBL**.
- Se il Cefotaxime+ Indicatore (ESBL) rimane rosso ma il Cefotaxime + Tazobactam + Indicatore(ESBL) vira al giallo, **il test non è valido**.

**Controllo di Qualità:**

DIATABS	Positivo	Negativo
	<i>Enterobacter cloacae</i> NCTC 13464	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Cefotaxime + Indicatore	Giallo	Rosso
Cefotaxime + Tazobactam + indicatore	Rosso	Rosso

**Referenze:**

- 1) Nordmann P et al. Rapid detection of Extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. J.Clin Microbiol. **50**, 3016-3022, 2012.
- 2) Dortet et al: Rapid detection of ESBL-producing Enterobacteriaceae in blood cultures. Emerging Infect Dis, 21, No 3, march 2015.

La User's Guide in lingua inglese può essere richiesta ai nostri uffici o direttamente a ROSCO Diagnostica A/S: E-mail: [info@rosco.dk](mailto:info@rosco.dk), o consultata e/o stampata dal sito [www.rosco.dk](http://www.rosco.dk). Qui si possono trovare anche ulteriori informazioni nella "ROSCO's User's Guide for Detection of Resistance Mechanisms" in lingua inglese.

**Confezione**

2398022

Rapid ESBL Screen Kit

50 test