

# Rapid CARB Blue Kit

## Kit per la rilevazione di meccanismi di resistenza

### 2398023

Solo per uso diagnostico in vitro

**Revisione:** DBV0431 del 13/02/2017

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

**Distributore:** Biolife Italiana

#### **Impiego Previsto:**

Le compresse sono utilizzate per lo screening in vitro di batteri produttori di carbapenemasi. Il metodo è idoneo allo screening di *Acinetobacter* spp., *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas* spp.

L'Oxacillinasi da *Acinetobacter* viene rilevata da questo kit, mentre non può essere rilevata con i kit che utilizzano il tampone di lisi.

**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:**

I batteri potenzialmente produttori di Carbapenemasi vengono solitamente valutati per mezzo dei test di sensibilità ai Carbapenemi (Imipenem, Meropenem and Ertapenem). Una riduzione della zona di inibizione intorno a questi carbapenemi indica la probabile produzione di Carbapenemasi. Un metodo rapido è costituito dalla identificazione dell'idrolisi dell'anello beta-lattamico di un carbapenemico in presenza di un indicatore. Utilizzando questo principio, ROSCO Diagnostica ha messo a punto un nuovo Diatab: Imipenem (x2) + Blu di Bromotimolo. Il test si esegue rapidamente e la lettura del risultato è possibile già tra 15 minuti e un' ora dopo l'inizio della reazione. Non occorre tampone di lisi. L'utilizzo di questo kit nello screening di routine delle Carbapenemasi consente di risparmiare tempo e fatica. La stabilità dell'Imipenem nella Diatabs (3 anni) è molto più estesa di quella della soluzione di Imipenem (2-4 giorni) dei prodotti concorrenti.

**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:**

Una fiala con: Imipenem (x2) + Blu di Bromotimolo, formulata per la massima stabilità, contenente 50 compresse equivalenti a un totale di 50 test.

Una fiala con: CARB Negative Control Blue Diatabs, 50 compresse.

**Conservazione/Utilizzazione:** conservare a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Le cartucce dovrebbero essere chiuse durante lo stoccaggio. Sigillare sempre le cartucce con il coperchio originale verde e non mettere mai il dispenser nel frigorifero. Lasciare le cartucce a temperatura ambiente per 30-60 minuti prima di rimuovere il coperchio. Le cartucce possono essere aperte e richiuse più volte durante l'uso, senza alterare la shelf-life delle compresse. La lunga durata di conservazione è dovuta all'uso di sostanze cristallizzate.

#### **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:**

Soluzione allo 0,9% di NaCl regolata a pH 8,5 (8,3-8,7) (usando una soluzione di NaOH 0,01 N).

NOTA: il valore pH di questa soluzione potrebbe diminuire durante la conservazione. Pertanto, testare sempre il valore del pH prima dell'uso e regolare a pH 8,5 utilizzando NaOH 0,01 N.

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

**Non occorre il tampone di lisi**

#### **Procedura:**

##### **Colonie:**

Utilizzare sempre isolati freschi. Altrimenti, inoculare / incubare l'isolato 2 volte prima del test.

Le colonie dovrebbero essere prelevate dai seguenti terreni: Mueller-Hinton agar, agar sangue Columbia, TSA agar o Mueller-Hinton di BD. Altri marchi MH devono essere integrati con ZnSO4 fino a una concentrazione finale di 70 mg / litro.

Non utilizzare agar contenenti glucosio, maltosio, saccarosio perché questi zuccheri possono essere fermentati dai ceppi da testare con conseguente sospensione acida di batteri che possono influenzare i risultati del test Rapid CARB Blue (falsi positivi).

Gli ioni di zinco nell'agar MH sono assolutamente necessari per il rilevamento di metallo-beta-lattamasi tipo VIM e NDM. Alcuni agar MH, come quelli di Biomerieux, non contengono abbastanza ioni di zinco e danno risultati falsi negativi.

Non usare colonie prelevate da terreno selettivo (Drigalski, Mc Conkey).

Aggiungere un 'ansata da 10 µl del ceppo da testare (recuperato dall'antibiogramma) a 200 µl di soluzione di NaCl allo 0,9% regolata a pH 8,5 (8,3 - 8,7) utilizzando NaOH 0,01 N.

In caso di *Acinetobacter* utilizzare 2 ansate x 10 µl del ceppo.

Agitare su vortex la sospensione per un minuto e mantenerla a temperatura ambiente per 30 minuti.

Aggiungere 1 compressa di Imipenem (x2) + Blu di Bromotimolo e chiudere il tubo. Agitare su vortex per 1-2 secondi per disintegrare la compressa.

Incubare la provetta a 35-37 ° C per 15 minuti, 30 minuti o 1 ora, rispettivamente.

Ripetere lo stesso processo usando CARB Negative Control Blue Diatab.

### Emocolture:

Trasferire 0,5 ml di emocoltura positiva in 2 provette e aggiungere 50 µl di soluzione di Triton al 10% in ogni provetta, agitare sul vortex e incubare 5 minuti a temperatura ambiente. Centrifugare a 13.000 x g per 2 minuti e scartare il surnatante.

Risospingere il pellet batterico in 500 ml di acqua distillata (le colonie batteriche devono essere correttamente risospese).

Centrifugare a 13.000 x g per 2 minuti e scartare il surnatante.

Risospingere il pellet batterico in 200 ml di NaCl 0,9% a pH 8,5. Ad una delle provette aggiungere la pastiglia di Imipenem (2) + Blu di Bromotimolo e all'altra il controllo negativo Diatab. Agitare sul vortex per 1 - 2 secondi per disintegrare la compressa e incubare per 15 minuti, 30 minuti o 1 ora a 37 gradi Celsius.

Nastro et al (9) descrivono una variante del metodo, che consente l'individuazione di carbapenemasi (Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, Acinetobacter) dopo 4 ore di incubazione, dalla crescita batterica ottenuta da una emocoltura positiva, con una sensibilità di 98,1% e specificità del 100%.

Paulussen (10) in uno studio comparativo su Rapid CARB Blue contro Rapidec Carba NP ha rilevato una sensibilità del 97% e una specificità del 100% con il Rapid CARB Blue, mentre il Rapidec ha mostrato una specificità dell'84,2%.

### Urine:

Centrifugare 10 ml di urina (positivi per i bacilli gram - negativi). Sospendere il pellet di batteri in 200 µl di NaCl allo 0,9%, pH 8,5 e seguire la procedura indicata.

### Interpretazione dei risultati:

Il viraggio del colore da blu a giallo indica la positività del risultato dimostrando che il campione contiene carbapenemasi.

Se la reazione è positiva dopo 15 min. o 30 minuti non è necessario incubare ulteriormente. I campioni non devono essere incubati per più di 1 ora perché la positività può svanire.

Se la sospensione del test è di colore giallo verde e il controllo negativo è blu, la reazione è positiva per oxacillinasi da Acinetobacter.

Se la sospensione del test è gialla e il controllo negativo è verde, il risultato è positivo.

Se il controllo negativo CARB blu mostra un colore giallo chiaro, il risultato è non interpretabile, indipendentemente dal risultato di Imipenem + Blu di Bromotimolo.

Se i risultati sono difficili da interpretare, procedere in questo modo:

- 1) Tenendo la provetta orientata verticalmente sopra il livello dell'occhio ispezionare il fondo della compressa per osservare l'eventuale sviluppo di colore giallo (positivo)
- 2) Confrontare le provette del test con le provette del controllo negativo tenendole affiancate tra loro e leggermente inclinate ed esaminandole in piena luce sopra uno sfondo bianco.

**NOTA:** Alcune Enterobacteriaceae che producono OXA-48 (o simili) con una MIC per imipenem <0,25 µg / ml, possono mostrare un risultato negativo con il kit Rapid CARB Blue. Si sospetti produzione di OXA-48 quando l'isolato è altamente resistente alla temocillina (zona di inibizione con Neo-Sensitabs Temocillina 30 µg, <12 mm). Alcuni OXA-48-like non sono vere carbapenemasi (OXA-163, OXA-405) e produrranno un risultato negativo al test. Possono essere differenziate dalle vere carbapenemasi usando la Neo-Sensitabs Temocillina. Le vere carbapenemasi infatti, mostrano resistenza alla Temocillina, mentre le OXA-163 e OXA-405 sono sensibili (zona > 12 mm).

	Imipenem + Blu di Bromotimolo Tutte le specie		Controllo negativo Blue Tutte le specie
Carbapenemasi POSITIVI	Giallo Giallo Verde/Giallo	e	Verde/Blu Verde/Blu Blu
Carbapenemasi NEGATIVI	Blu Verde	e	Blu Verde

### Controllo di Qualità:

DIATABS	Positivo	Negativo
Imipenem(2) + Blu di Bromotimolo (CARB)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> BAA1705	<i>E.coli</i> ATCC 25922

### Bibliografia:

1. Pires J et al: Blue Carba, an easy biochemical test for detection of diverse carbapenemase producers directly from bacterial cultures. J. Clin Microbiol 51, 4281-4283, 2013.
2. Dortet L et al: Impact of isolation medium for detection of carbapenemase producing Enterobacteriaceae using an updated version of the Carba NP test. J Med Microbiol 63, 772-776, 2014.
3. Pasteran F et al: Comparison of the in-house Blue Carba Test (BCT) with the Rapid CARB Blue Kit for detection of carbapenemase-producing Gram negative bacilli. Presentation at ECCMID 2015 (Copenhagen).
4. Novais Angela et al: Evaluation of the recently launched Rapid CARB Blue kit for detection of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. Presentation at ECCMID 2015 (Copenhagen).
5. Pasteran F et al: Rapid detection of carbapenemase-producing gram negative bacilli from blood cultures using the Blue-Carba test. ECCMID 2015, Presentation P0148
6. Dortet L et al: Genetic and biochemical characterization of OXA-405, and OXA-48-type ESBL without significant carbapenemase activity. Antimicrob Ag Chemother 59, 3823-3829, 2015.
7. Novais A et al: Evaluation of the recently launched Rapid CARB Blue kit for detection of carbapenemase-producing gram-negative bacteria. J Clin Microbiol 53, 3105-3107, 2015.
8. Pasteran F et al: Comparison of the In-house Carba NP and the Blue CARBA Test for the detection of carbapenemase-producing gram-negative bacilli. ICAAC 2015, September 17-21. Presentation D-1157.
9. Nastro M et al: Rapid Blue Carba test: reduction of the detection time of carbapenemases performed from a 4-hour bacterial lawn. J. Chemotherapy, June 27, 2016 (ahead of print)
10. Paulussen G: Rapid detection of carbapenemases in Gram-negative bacteria (dutch). U.C: Leuven, Limburg 2015-2016.

### Confezione

2398023

Rapid CARB Blue Kit

50 test

