

Rapid ESBL Screen Kit

Kit per la rilevazione di meccanismi di resistenza

Impiego Previsto: Le tavolette 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.

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. Lasciare i flaconi a temperatura ambiente per 30-60 minuti prima dell'uso per evitare la formazione di condensa sulle pastiglie.

La data di scadenza indicata sui flaconi si riferisce alla confezione conservata con il coperchio alla corretta temperatura.

Proteggere dalla luce e dall'umidità.

Precauzioni:

Solamente per uso diagnostico *in vitro*. Adottare precauzioni di sicurezza e utilizzare tecniche aseptiche 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 Perossidasi 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 tampone lisante 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. preparare una sospensione dell'organismo da esaminare equivalente allo standard 4 di McFarland.
5. Agitare la sospensione per 1 minuto e mantenere a T ambiente per 30 minuti.
6. Trasferire 50 uL della sospensione batterica in una provetta con 100 uL di soluzione fisiologica, 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.
7. Incubare a 35/37 °C per 30 minuti, 1 ora e 2 ore rispettivamente.
Ripetere lo stesso processo con la tavoletta di Cefotaxime + Tazobactam + Indicatore(ESBL).

Emocolture:

Prelevare 5 mL di emocoltura positiva per bacilli Gram negativi e centrifugare per 3 min. a 1500 g. Scartare il pellet (globuli rossi), recuperare il sopranatante e centrifugare per 15 min. a 4000 g, per far precipitare i batteri.

Sospendere il pellet di batteri in 150 uL di tampone lisante TRIS-HCl e seguire la procedura indicata.

Urine:

Prelevare 10 mL di urine positive per bacilli Gram negativi e centrifugare. Sospendere il pellet di batteri in 150 uL di tampone lisante 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 30 min. o 1 ora non è necessario incubare ulteriormente. I campioni non devono essere incubati per più di 2 ore perché la positività può svanire.

Raramente il colore ottenuto dopo l'incubazione può essere giallo molto chiaro o arancio. In questi casi ripetere il test con una concentrazione maggiore.

- 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:

Nordmann P et al. Rapid detection of Extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. J.Clin Microbiol. **50**, 3016-3022, 2012.

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, o consultata e/o stampata dal sito www.rosco.dk. Qui si possono trovare anche ulteriori informazioni nella " ROSCO's User's Guide for Detection of Resistance Mechanisms" in lingua inglese.

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

Confezione

2398022 Rapid ESBL Screen Kit 50 test

CND: W0104080208

