

# Neo-Rapid CARB Kit

## Kit per la rilevazione di meccanismi di resistenza

### 2398024

Solo per uso diagnostico in vitro

**Revisione:** DBV0040M 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 applicabile alle Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosae e Acinetobacter spp.

**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) + Indicatore (CARB). Il test si esegue rapidamente e la lettura del risultato è possibile già tra 15 minuti e un' ora dopo l'inizio della reazione.

L'utilizzo di questo kit nello screening di routine delle Carbapenemasi consente di risparmiare tempo e fatica.

L'aumentato contenuto di imipenem nel kit Neo-Rapid CARB determina lo sviluppo di un colore deciso rendendo più evidente l'identificazione dei campioni positivi e aumentando così la sensibilità del metodo.

La stabilità dell'Imipenem nel Rosco Diatabs (3 anni), è molto più estesa di quella della soluzione di Imipenem (2-4 giorni) dei prodotti concorrenti (es. CARBA-NP).

#### Istruzioni dettagliate:

Le istruzioni dettagliate per l'uso delle DIATABS "Instruction for Use of DIATABS" dovrebbero essere presenti in ogni laboratorio che lavori con i prodotti Rosco.

L'ultima edizione delle Istruzioni può essere consultata o stampata dal sito di Rosco: [www.rosco.dk](http://www.rosco.dk)

Ulteriori informazioni si possono trovare nella "ROSCO's User's Guide for detection of Resistance Mechanisms" in lingua inglese.

Le guide possono essere richieste ai distributori locali o direttamente a ROSCO.

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

Telefono: +45 43 99 33 77

#### Contenuto e formulazione:

1. Due flaconi contenenti ciascuno 25 tavolette da 6 mm di: Imipenem (x2) + Indicatore (CARB) per un totale di 50 test.
2. Un flacone contenente 50 tavolette da 6 mm di: Controllo Negativo CARB

#### Conservazione/Utilizzazione:

Conservare a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Le cartucce devono restare chiuse quando conservate. Chiudere sempre le cartucce con il coperchio verde originale e non posizionare mai il dispensatore in frigorifero. Lasciare i flaconi a temperatura ambiente per 30-60 minuti prima di aprire il coperchio.

Le cartucce possono essere aperte e richiuse più volte durante l'uso, senza che ciò influisca sulla durata di conservazione. La lunga durata 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 e prima di eliminarli. Fare riferimento alla Scheda di Sicurezza del Prodotto.

#### Materiali richiesti, ma non forniti:

Lysis Buffer B-PER II (Sol. di Triton X-100 al 10%- TRIS-HCl), 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: Columbia Blood Agar, TSA agar o Mueller-Hinton Agar marca BD. Altre marche di agar MH devono essere integrate con ZnSO<sub>4</sub> a una concentrazione finale di 70 mg / litro.

Gli ioni di zinco nell'agar MH sono assolutamente necessari per la rilevazione di metallo-betalattamasi VIM e NDM. Alcuni agar MH, come quelli di Biomerieux, non contengono abbastanza ioni di zinco e danno falsi risultati negativi.

NON usare colonie provenienti da terreni selettivi (Drigalski, Mc Conkey)

Willey et al (9) hanno scoperto che l'uso di 200 µl di NaCl 0,9% da solo (senza tampone di lisi) a pH 8,5 aggiustato con NaOH 0,01 N ha dato risultati migliori rispetto alla miscela di soluzione salina e tampone di lisi e sicuramente molto meglio del nuovo Rapidec Carba NP.

Pasteran et al (16) hanno scoperto che l'uso di Triton X-100 allo 0,1% invece del tampone di lisi, ha fornito una migliore rilevazione dei produttori di carbapenemasi direttamente da colture batteriche. Questa procedura sarà efficace anche nel rilevamento di oxacillinasi in Acinetobacter. Nel caso di Acinetobacter, utilizzare 2 ansate da 10 ml di batteri.

Utilizzare il protocollo 1 o il protocollo 2.

### Protocollo 1:

Aggiungere una ansata da 10 uL dell'organismo da testare (prelevata dall'antibiogramma) a 200 uL di NaCl allo 0,9% aggiustato a pH 8.5 con NaOH. Diluire 2 mL di soluzione di TritonX-100 al 10% in 10 mL di acqua e aggiungere 10 uL di questa soluzione alla sospensione batterica.

### Protocollo 2:

Aggiungere una ansata da 10 uL dell'organismo da testare a una miscela di 150 uL di HCl allo 0.9% + 50 uL di Tampone di Lisi TRIS-HCl (B-PER II). Non occorre regolare il pH.

Agitare la sospensione per 1 minuto e mantenere a T ambiente per 30 minuti.

Aggiungere una pastiglia di Imipenem (x2) + Indicatore (CARB) e chiudere la provetta. Agitare dolcemente per fare in modo che la pastiglia si adagi sul fondo del tubo.

Incubare a 35/37 °C per 15 minuti, 30 minuti e 1 ora rispettivamente.

Ripetere lo stesso processo con la pastiglia di Controllo Negativo CARB

preparare una sospensione dell'organismo da esaminare equivalente allo standard 4 di McFarland.

Trasferire 50 uL della sospensione batterica in una provetta con 100 uL di soluzione fisiologica,

:

### Emocolture:

Preparare una sottocoltura in questo modo: aggiungere 75 uL dell'emocoltura positiva per bacilli Gram negativi a 2 mL di nutrient broth contenente 0.12 ug/mL di imipenem \*\*. Incubare per 2 ore a 37 °C. Centrifugare per 5 min. a 10.000 x g. Lavare il pellet con acqua sterile, risospingere in 150 uL di tampone lisante TRIS-HCl e seguire la procedura indicata.

**\*\* Preparazione del nutrient broth contenente imipenem a 0.12 ug/mL:**

- Aggiungere una compressa Diatabs da 300 ug di Imipenem a 5 mL di soluzione di NaCl allo 0.9%, agitare per 1 minuto e mantenere a T ambiente per 30 minuti (60 ug IMP/ml)
- Diluire 1 mL di soluzione "a" (60 ug IMP/ml) in 4 mL di NaCl allo 0.9% (12 ug IMP/mL)
- Aggiungere 20 uL di soluzione "b" (12 ug IMP/mL) a 2 mL di nutrient agar (0.12 ug IMP/mL)  
( vedi: **Direct Detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and Pseudomonas spp. from positive blood cultures.** Williams A, Vanstone G, Balakrishnan I. Royal Free London NHS Foundation Trust, London.)

### Urine:

Prelevare 10 mL di urine positive per bacilli Gram negativi e centrifugare. Sospingere 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 dimostrando che il campione contiene carbapenemasi.

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 il Controllo Negativo CARB presenta una colorazione giallo chiaro, considerare il risultato non interpretabile qualunque sia il colore del Imipenem (x2)+Indicatore (CARB).

**NOTA:** Si sospetti la produzione di OXA-48 quando l'isolato è resistente ad alti livelli di Temocillina (Temocillin 30 ug Neo-Sensitabs, zona < 12 mm.)

### Controllo di Qualità:

DIATABS	Positivo	Negativo
Imipenem (x2) + Indicator (CARB)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> BAA 1705	<i>E. coli</i> ATCC 25922

### Referenze:

- Nordmann P et al. Rapid detection of carbapenemase producing Enterobacteriaceae. Emerg. Infect. Dis. **18**, 1503-1507, 2012.
- Nordmann P et al. Rapid detection of carbapenemase production in Pseudomonas. Presentation CI-078, ICAAC, 2012.
- Tijet N et al : " Evaluation of the Carba NP Test for rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and Ps aeruginosa." Antimicrob. Agents Chemother **57**,4578-4580,2013
- Williams A. et al : Direct detection of carbapenemase producing Enterobacteriaceae and Pseudomonas spp from positive blood cultures. BSAC Spring Meeting 20-03-2014.
- 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.

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

**2398024 Neo-Rapid CARB Screen Kit 50 test**

**CND:** W0104080208