

DETERMINAZIONE AMPC

Kit per la conferma fenotipica di resistenze

Impiego Previsto: Le tavolette vengono 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.

Principio del test:

Il kit è costituito da 4 cartucce di tavolette per test di disco diffusione: una cartuccia contiene Cefotaxime, una Ceftazidime e due cartucce contengono queste cefalosporine in combinazione con Cloxacillina (inibitore di AmpC). L'eventuale presenza in un organismo di attività AmpC può essere evidenziata dalla differenza di dimensioni della zona di inibizione della/e cefalosporine da sole rispetto a quella/e delle cefalosporine in combinazione con l'inibitore.

Contenuto e formulazione:

4 cartucce, formulate con la massima stabilità, ciascuna contenente 50 tavolette:

1. Cefotaxime 30 µg, codifica CTX30
2. Cefotaxime 30 µg + Cloxacillina, codifica CTXCX
3. Ceftazidime 30 µg, codifica CAZ30
4. Ceftazidime 30 µg + Cloxacillina, codifica CAZCX

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 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:

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 inocolata, 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 ConfirmID sulla stessa piastra.
4. Incubare a 35±1 °C per 18±2 ore (overnight)

5. Misurare e registrare il **diametro** della zona di inibizione. Nessuna zona attorno alla tavoletta corrisponde ad una zona di inibizione di 9 mm (diametro della tavoletta).

Interpretazione dei risultati:

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

1. Confrontare le zone di inibizione delle tavolette di Cefotaxime 30 µg e Ceftazidime 30 µg con quelle di Cefotaxime 30 µg + Cloxacillina e Ceftazidime 30 µg + Cloxacillina, rispettivamente. Se la differenza di queste zone non è superiore ai 3mm l'una dall'altra, l'organismo **non** esprime attività AmpC.

2. Misurare le zone di inibizione per Cefotaxime 30 µg + Cloxacillina (CTXCX) e Ceftazidime 30 µg + Cloxacillina (CAZCX), e confrontarle con le rispettive zone per Cefotaxime 30 µg (CTX30) e Ceftazidime 30 µg (CAZ30). Se uno o entrambi i dischi con le combinazioni evidenziano zone ≥ 5mm rispetto ai dischi singoli l'organismo dimostra attività AmpC.

3. Utilizzare la Tabella 1 come aiuto nell'interpretazione.

Controllo di Qualità:

Sebbene ROSCO Diagnostica A/S produca i dischetti (tavolette) più stabili, è comunque importante eseguire regolarmente i controlli di qualità. Procedere utilizzando almeno un organismo che evidenzi una reazione positiva ed uno con reazione negativa. Le zone di inibizione ottenute con i dischetti con le combinazioni, a confronto con quelli contenenti le cefalosporine da sole, utilizzando un organismo per il controllo negativo (es. *E. coli* ATCC 25922), dovrebbero mostrare differenze al massimo di 3 mm. Differenze maggiori indicano che il prodotto ha perso attività e non deve essere utilizzato.

Tabella 1		Cefotaxime 30 µg CTX30	Ceftazidime 30 µg CAZ30
AmpC	CTXCX	≥ 5mm	-
AmpC	CAZCX	-	≥ 5mm

Nessuna attività AmpC: tutte le zone attorno ai dischetti con le combinazioni devono essere entro 3 mm rispetto ai dischetti con gli antibiotici singoli.

Nota: “-“ significa che la differenza è irrilevante (es CTXCX non va confrontato con CAZ30 per la rilevazione di AmpC).

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

2398007 **Determinazione AmpC** 50 test

CND: W01040805

