

Návod k použití

ESBL + AmpC Screen Kit (98008)

Určeno pouze pro diagnostické použití in vitro.

Skupina produktů: Souprava pro detekci beta-laktamázy.

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

Účel použití

Tablety se používají pro *in vitro* identifikaci mechanismu antimikrobiální rezistence metodou tablety na agaru/diskové difúze pro potvrzení mechanismu, kterým mikroorganismus získal rezistenci ke specifickým antimikrobiálním látkám.

Určeno pro profesionální použití a pro personál školený pro práci s mikroorganismy a pro testování diskové difúze.

Podrobný návod

ROSCO podrobný návod k použití pro Detekci mechanismu rezistence s použitím NeoSensitabs™ a Diatabs™ by měl být dostupný v každé laboratoři pracující s produktem ROSCO.

Poslední vydání návodu k použití lze shlédnout a/nebo vytisknout z webové stránky firmy ROSCO www.rosco.dk.

Návod k použití a Uživatelský manuál lze získat zdarma na vyžádání od vašeho distributora nebo od ROSCO Diagnostica A/S: E-mail: info@rosco.dk nebo Fax: +45 43 52 73 74

Princip testu

Tento kombinovaný screeningový test byl vytvořen k rutinnímu screeningu na producenty ESBL a/nebo AmpC. Souprava se skládá ze čtyř kartuší diskových difúzních tablet: jedna kartuš obsahuje tablety samotného Cefotaximu a tři kartuše jsou s Cefotaximem v kombinaci buď s Klavulanátem (ESBL inhibitor) nebo Cloxacilinem (AmpC inhibitor) a Cefotaxim v kombinaci s oběma, Klavulanátem a Cloxacilinem. Pokud je organismus podezřelý z aktivity ESBL a/nebo AmpC, lze to prokázat rozdílem inhibiční zóny samotného cefalosporinu a v kombinaci s inhibitory. Volba cefalosporinu byla provedena pro dosažení nejvyšší citlivosti a specifčnosti samotné látky. Pro nejvyšší citlivost a specifčnost by měly laboratoře zahrnout výsledky pro všechny cefalosporiny 3. generace. Všechny izoláty se sníženou citlivostí k těmto látkám, nebo Aztreonamu by měly být podezřívány z produkce ESBL. Pro konfirmační test AmpC a ESBL firma ROSCO doporučuje použít kombinované testovací disky pro tyto účely; AmpC Confirm Kit a Total ESBL Confirm Kit.

Obsah balení

4 kartuše, vytvořené pro maximální stabilitu, každá obsahující 50 tablet:

Cefotaxim 30 µg, kód CTX30

Cefotaxim 30 µg + Klavulanát, kód CTX+C

Cefotaxim 30 µg + Cloxacilin, kód CTXCX

Cefotaxim 30 µg + Clavulanát + Cloxacilin, kód CTXCC

Uchovávání / manipulace

Uchovávejte při 2-8 °C v dodané krabici nebo neotevřené kartuši do data expirace uvedeného na štítku. Než sundáte víčko z kartuše, nechejte ji při pokojové teplotě po dobu 30-60 minut. Jakmile je kartuš otevřená a zvláště když je dána do dávkovače, je třeba ji nechat při pokojové teplotě maximálně 2 měsíce. Pokud je to nezbytné a kartuš je otevřena více jak 2

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice
Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

měsíce, uchovávejte ji při teplotě 2-8 °C. Vždy kartuš uzavírejte zeleným víčkem a nikdy nevkládejte dávkovač do chladničky. Pokud kartuše uchováváme v chladničce, vždy by měly být před vlastním použitím přizpůsobeny pokojové teplotě.

Bezpečnostní opatření

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*. Při práci s potenciálně biologicky nebezpečným materiálem je třeba zachovávat bezpečnostní opatření a aseptické zacházení. Pro použití pouze správně školeným a kvalifikovaným laboratorním personálem. Před likvidací všech biologicky nebezpečný odpad sterilizujte. Nahlédněte do Bezpečnostního listu pro daný produkt.

Potřebný, ale nedodávaný materiál: Standardní mikrobiologické pomůcky, jako jsou kličky, kultivační média, inkubátor, atd. a biochemické reagensie.

Postup

S použitím čerstvé, čisté kultury připravte suspenzi testovaného organismu odpovídající 0,5 McFarlanda
S použitím sterilního tamponu nebo Drigalskiho špachtle rozetřete suspenzi rovnoměrně po celém povrchu Mueller Hinton agaru pro testování citlivosti.

S použitím dávkovače pro jednu kartuš umístěte jednu od každé tablety na inokulovaný povrch agaru tak, aby byl mezi tabletami dostatečný prostor pro správné naměření inhibičních zón. Uvědomte si, že na jedné misce lze provést více než jeden test Screen Kit.

Inkubujte při 35 ± 1 °C po dobu 18 ± 2 hodiny (přes noc)

Změřte a zaznamenejte průměr inhibiční zóny. Chybějící zóna kolem tablety odpovídá 9 mm inhibiční zóně.

Interpretace výsledků

Výsledky jsou interpretovány porovnáním inhibičních zón kolem různých tablet.

Porovnejte inhibiční zónu tablety Cefotaximu 30 µg s inhibičními zónami každé kombinované tablety Cefotaxim 30 µg + inhibitor(y). Pokud jsou tyto zóny navzájem v rámci 3 mm, запиšte, že organismu nemá AmpC ani ESBL aktivitu.

Změřte inhibiční zóny okolo Cefotaxim 30 µg (CTX30) a Cefotaxim 30 µg + Kloxacilin (CTXCX) a porovnejte s Cefotaxim 30 µg + Klavulanát (CTX+C) a Cefotaxim 30 µg + Klavulanát + Cloxacilin (CTXCC) respektive. Pokud obě CTX+C – CTX30 a CTXCC – CTXCX jsou ≥ 5mm a obě hodnoty z kroku 3) jsou < 5 mm, organismus projevuje pouze ESBL aktivitu.

Změřte inhibiční zóny okolo Cefotaxim 30 µg (CTX30) a Cefotaxim 30 µg + Klavulanát (CTX+C) a porovnejte s Cefotaxim 30 µg + Klavulanát + Cloxacilin (CTXCC) a Cefotaxim 30 µg + Cloxacilin (CTXCX) respektive. Pokud obě CTXCC – CTX+C a CTXCX – CTX30 jsou ≥ 5mm a obě hodnoty z kroku 2) jsou < 5 mm, organismus projevuje pouze AmpC aktivitu.

Změřte inhibiční zóny okolo Cefotaxim 30 µg (CTX30) a Cefotaxim 30 µg + Cloxacilin (CTXCX) a porovnejte s Cefotaxim 30 µg + Klavulanát (CTX+C) a Cefotaxim 30 µg + Klavulanát + Cloxacilin (CTXCC) respektive. Pokud CTXCC – CTXCX ≥ 5mm (ESBL) a CTX+C – CTX30 je < 5 mm (AmpC), organismus projevuje jak AmpC aktivitu, tak ESBL aktivitu.

Prosím uvědomte si, že klavulanát má dvě odlišné funkce:

Inhibuje ESBL a Indukuje AmpC. To vysvětluje, proč CTX+C – CTX30 je < 5 mm, pokud izolát vlastní AmpC.

Použijte Tabulku 1 jako pomůcku při interpretaci.

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice
Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

Postup při odečítání výsledků

Krok 1: Pokud je B-A **a/nebo** D-C ≥ 5 mm: ESBL pozitivní.
V jiném případě ESBL negativní.

Krok 2A: Izolát, který byl vyhodnocen jako ESBL pozitivní:
Pokud je D-B ≥ 5 mm **a/nebo** B-A < 5 mm: AmpC pozitivní.
Tedy izolát je ESBL + AmpC pozitivní.

Krok 2B: Izolát, který byl vyhodnocen jako ESBL negativní:
Pokud je C-A **a/nebo** D-B ≥ 5 mm: AmpC pozitivní.
V jiném případě negativní jako ESBL, tak AmpC.

K dispozici je také program pro vyhodnocování.

Kontrola kvality

Ačkoliv ROSCO Diagnostica A/S vyrábí zdaleka nejstabilnější difúzní disky (tablety), je nezbytné provádět pravidelnou kontrolu kvality. Ta by se měla dělat nejméně na jednom mikroorganismu pro ověření pozitivní reakce a nejméně na jednom organismu pro ověření negativní reakce. Zóny inhibice získané s použitím kombinovaných tablet plus samotných cefalosporinových tablet proti negativní kontrole (tj. *E. coli* ATCC 25922), by měly být v rozmezí 3 mm. Jakýkoliv větší rozdíl naznačuje, že produkt má menší aktivitu a neměl by se dále používat.

Jako pozitivní QC kmeny mohou být používány:

Enterobacter cloacae NCTC 13406, AmpC positive

Enterobacter cloacae ATCC BAA-1143, AmpC positive

Klebsiella pneumoniae ATCC 700603 ESBL positive

Tabulka 1

		Cefotaxim CTX30	Cefotaxim+klav. CTX+C	Cefotaxime+Kloxa. CTXCX
ESBL	CTX+C nebo CTXCC	≥ 5 mm -	- <5 mm	- ≥ 5 mm
AmpC	CTXCX nebo CTXCC	≥ 5 mm -	- ≥ 5 mm	- <5 mm
ESBL + AmpC	CTX+C a CTXCC	<5 mm (AmpC) -	- ≥ 5 mm (AmpC)	- ≥ 5 mm (ESBL)

Žádná aktivita ESBL nebo AmpC: Všechny zóny jsou navzájem v rozmezí 3 mm. CTXCC = Cefotaxim + Klavulanát + Cloxacilin.

Poznámka: "-" znamená, že rozdíl je bezvýznamný (tj. rozdíl mezi CTXCC v porovnání s CTX30 je pro detekci ESBL bezvýznamný).

Literatura: www.rosco.dk

Revize: DBV0032G

Datum vydání: 15. 3. 2013

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice
Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz