



AmpC disc kit

Disc tests for confirmation of AmpC producing organisms.

DESCRIPTION

AmpC β -lactamases are enzymes encoded on the chromosome of many Enterobacteriaceae and a few other organisms. AmpC enzymes belong to class C, are active on penicillins but even more active on cephalosporins and can significantly hydrolyze cephamycins such as cefoxitin and cefotetan and oxyiminocephalosporins such as ceftazidime, cefotaxime, and ceftriaxone. Inhibitors of class A enzymes such as clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam have much less effect on AmpC, which are strongly inhibited by boronic acid and cloxacillin.

CONTENTS OF THE PACKAGES

4 x 50 discs cartridges, each packaged in a "blister" with a dryer.

METHOD PRINCIPLE

Organisms suspected to be producers of AmpC enzymes may be confirmed by evaluating the inhibition of AmpC activity by **Cloxacillin**.

Combination Disc Tests (CDT) are carried out. Discs containing cephalosporin alone (cefotaxime and Ceftazidime) and in combination with cloxacillin are applied. The inhibition zone around the cephalosporin disc combined with cloxacillin is compared with the zone around the disc with the cephalosporin alone. The test is positive if the inhibition zone diameter is ≥ 5 mm larger with cloxacillin than without.

GATHERING AND KEEPING SAMPLES

The colonies that are to be subjected to the susceptibility test are taken up by culture media that have been previously swabbed with the sample under examination.

TEST PROCEDURE

1. Using a fresh, pure culture prepare a suspension of the test organism equivalent to 0.5 McFarland.
2. Using a sterile cotton swab, spread the adjusted suspension over the entire area of a Mueller Hinton II agar plate.
3. Apply the discs of on the inoculated plate, ensuring sufficient space between individual discs to allow for proper measurement of inhibition zones.
4. Incubate at $36 \pm 1^\circ\text{C}$ for 18-24 hours.

EVALUATING THE RESULTS

At the end of the incubation period, measure the inhibition halos and interpret as indicated in the table below.

Interpretative Table. CDT method for confirmation of AmpC.

Antibiotic Disc	Confirmation is positive if
Cefotaxime alone (CTX) and with Cloxacillin (CTC) and/or Ceftazidime alone (CAZ) and with Cloxacillin (CAC)	≥ 5 mm increase in inhibition zone of cephalosporin with cloxacillin

QUALITY CONTROL

Appropriate strains for quality control of AmpC detection tests:

Microorganism		AmpC phenotype
<i>Enterobacater cloacae</i>	ATCC® BAA-1143	+
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	–

LIMITS

Diffusion susceptibility tests use an *in vitro* technique and cannot therefore reproduce the extremely complex *in vivo* conditions. Nevertheless, it is a useful and important tool that helps the clinician choose the correct therapy. Many variable factors influence the final result of the diffusion susceptibility test. The main ones are: the culture medium used, impregnation of the discs, inoculation of the medium, temperature, time and incubation atmosphere of the plates, pre-incubation and pre-diffusion conditions, depth of the medium, etc.

PRECAUTIONS

The disc cannot be classified as being hazardous according to current legislation but fall within the specific field of application where a safety data sheet must be supplied because they can cause phenomena of sensitization in sensitive subjects if they come into contact with the skin.

The discs are disposable products. They are only for diagnostic *in vitro* use and are intended for professional use. They must be used in the laboratory by properly trained operators using approved aseptic and safety methods for pathogenic agents.

STORAGE

Store the unopened blister at -20°C to +8°C till the expiry date. Allow unopened cartridge to come to room temperature before removing it from the blister for minimising condensation on the discs. Leftover discs from an opened cartridge should be stored at 2-8°C for no more than 7 days. Return unused discs to the refrigerator as soon as the application of the discs has been completed. Dispose of expire discs.

ELIMINATING USED MATERIAL

After use, the discs and the material that comes into contact with the sample must be decontaminated and disposed of in accordance with current laboratory techniques for the decontamination and disposal of potentially infected material.

REFERENCES

- Jacoby G.A. AmpC β -Lactamases. Clin Microbiol Rev. 2009; 22(1): 161–182.
- EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 1.0, 2013.

PRESENTATION

DESCRIPTION		PACKAGING	REF	TESTS
Cefotaxime 30 µg	CTX	1 x 50 Discs	99009	50
Cefotaxime 30 µg + Cloxacillin	CTC	1 x 50 Discs		
Ceftazidime 30 µg	CAZ	1 x 50 Discs		
Ceftazidime 30 µg + Cloxacillin	CAC	1 x 50 Discs		

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	IVD <i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult accompanying documents	 Do not reuse



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy

Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net





AmpC disc kit

Dischi per i test di conferma di microrganismi produttori di AmpC.

DESCRIZIONE

Le β -lattamasi AmpC sono enzimi codificati sul cromosoma di diverse Enterobacteriaceae e alcuni altri microorganismi. Gli enzimi AmpC appartengono alla classe C, sono attivi sulle penicilline e sulle cefalosporine e possono idrolizzare in maniera significativa le cefamicine come cefoxitina e cefotetan e le oximino-cefalosporine come ceftazidime, cefotaxime e ceftriaxone. Gli inibitori degli enzimi di classe A come acido clavulanico, sulbactam e tazobactam hanno un effetto considerevolmente inferiore sugli AmpC, che sono invece fortemente inibiti da acido boronico e cloxacillina.

CONTENUTO DEL KIT

Cartucce 4 x 50 dischi, ciascuna confezionata in un "blister" con essiccante.

PRINCIPIO DEL METODO

Gli organismi sospettati di essere produttori di enzimi AmpC possono essere confermati valutando l'inibizione delle β -lattamasi AmpC esercitata dalla **Cloxacillina**.

I test combinati (CDT) consistono nell'applicare dei dischi contenenti la cefalosporina da sola (cefotaxime e ceftazidime) ed i dischi contenenti la cefalosporina in combinazione con la cloxacillina. Al termine dell'incubazione vengono quindi confrontate le zone di inibizione. Il test è positivo se il diametro della zona di inibizione del disco contenente la cloxacillina è ≥ 5 mm rispetto al disco senza l'inibitore.

RACCOLTA E MANTENIMENTO DEI CAMPIONI

Le colonie da sottoporre al test di sensibilità sono prelevate da terreni di coltura precedentemente inoculati con il campione da esaminare.

PROCEDURA DEL TEST

1. Utilizzare una coltura pura recente per preparare una sospensione del microrganismo equivalente allo standard 0.5 McFarland.
2. Utilizzare un tampone di cotone sterile per diffondere la sospensione sull'intera superficie di una piastra di Mueller Hinton II agar.
3. Applicare i dischi sulla piastra inoculata assicurandosi di lasciare uno spazio sufficiente tra i dischi che permetta di misurare correttamente le zone di inibizione.
4. Incubare a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ per 18-24 ore.

VALUTAZIONE DEI RISULTATI

Alla fine del periodo di incubazione, misurare gli aloni di inibizione ed interpretare come indicato nella tabella sottostante.

Tabella Interpretativa. Metodo CDT per la conferma di AmpC.

Disco Antibiotico	Il test di conferma risulta positivo se
Cefotaxime da solo (CTX) e con Cloxacillina (CTC)	la zona di inibizione della cefalosporina con cloxacillina è ≥ 5 mm
e/o	
Ceftazidime da solo (CAZ) e con Cloxacillina (CAC)	

CONTROLLO QUALITÀ

Ceppi appropriati per il controllo qualità dei test per la ricerca di AmpC:

Microrganismo		Fenotipo AmpC
<i>Enterobacater cloacae</i>	ATCC® BAA-1143	+
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	-

LIMITI

I test di sensibilità per diffusione utilizzano tecniche *in vitro* e non possono riprodurre esattamente le condizioni che si trovano *in vivo*. Ciononostante, rappresentano uno strumento utile ed importante che aiuta il clinico nella scelta della terapia corretta. Diverse variabili influenzano il risultato finale di tale test e le principali sono: il terreno di coltura utilizzato, l'impregnazione dei dischi, l'inoculo del terreno, temperatura, tempo ed atmosfera di incubazione delle piastre, condizioni di pre-incubazione e pre-diffusione, spessore del terreno, ecc.

PRECAUZIONI

I dischi non possono essere classificati come pericoloso ai sensi della legislazione vigente, ma rientrano nello specifico campo di applicazione della normativa relativa all'obbligo di fornitura di scheda di sicurezza, perché può causare fenomeni di sensibilizzazione in soggetti sensibili in caso di contatto con la pelle.

I dischi sono dispositivi monouso. Sono destinati esclusivamente ad uso diagnostico *in vitro*, in ambito professionale. Devono essere utilizzati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.

CONSERVAZIONE

Il blister integro deve essere conservato a $-20^{\circ}\text{C}/+8^{\circ}\text{C}$ fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Portare le cartucce a temperatura ambiente prima di rimuoverle dal blister per minimizzare la formazione di condensa su dischi. I dischi rimasti in una cartuccia aperta devono essere conservati a $2-8^{\circ}\text{C}$ per non più di 7 giorni. Riporre i dischi inutilizzati in frigorifero non appena l'applicazione è stata completata. Non utilizzare oltre la data di scadenza.

ELIMINAZIONE DEL MATERIALE USATO

Dopo l'utilizzazione i dischi ed il materiale venuto a contatto con il campione devono essere decontaminati e smaltiti in accordo con le tecniche in uso in laboratorio per la decontaminazione e lo smaltimento di materiale potenzialmente infetto.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Jacoby G.A. AmpC β -Lactamases. Clin Microbiol Rev. 2009; 22(1): 161–182.
- EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 1.0, 2013.

PRESENTAZIONE

DESCRIZIONE		CONFEZIONAMENTO	REF	TEST
Cefotaxime 30 μg	CTX	1 x 50 Dischi	99009	50
Cefotaxime 30 μg + Cloxacillin	CTC	1 x 50 Dischi		
Ceftazidime 30 μg	CAZ	1 x 50 Dischi		
Ceftazidime 30 μg + Cloxacillin	CAC	1 x 50 Dischi		

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	IVD Dispositivo Medico Diagnostico <i>in Vitro</i>	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, utilizzare con cura
REF Numero di catalogo	 Temperatura limitata	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Attenzione, consultare i documenti in accompagnamento	 Non riutilizzare

**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
 Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net





AmpC disc kit

Pruebas en discos para la confirmación de organismos productores de AmpC.

DESCRIPCIÓN

Las β -lactamasas AmpC son enzimas codificadas en los cromosomas de muchas Enterobacteriaceae y de algunos otros organismos. Las enzimas AmpC pertenecen a la clase C, y son activas sobre las penicilinas y más aún sobre las cefalosporinas y pueden hidrolizar cefamicinas como la cefoxitina, el cefotetan y oximinocetoximas como el ceftazidime, cefotaxime, y la ceftriaxona. Los inhibidores de las enzimas de clase A, como el ácido clavulánico, sulbactam, y tazobactam son menos eficientes contra la AmpC, que son inhibidas más eficazmente por el ácido borónico y la cloxacilina.

CONTENIDO DEL KIT

4 x 50 discos en cartuchos, cada uno empaquetado en "blíster" con desecante.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los organismos que aparentemente son productores de enzimas AmpC deben confirmarse evaluando la inhibición de su actividad por la **Cloxacilina**.

Se llevan a cabo pruebas de combinación de discos (CDT). Se utilizan discos que contienen la cefalosporina a solas (cefotaxime y Ceftazidime) y en combinación con la cloxacilina. La zona de inhibición alrededor del disco de cefalosporina en combinación con la cloxacilina se compara con la zona alrededor del disco que contine la cefalosporina a solas. La prueba es positiva si el diámetro de la zona de inhibición es ≥ 5 mm mayor en presencia de la cloxacilina que sin ella.

RECOGIDA Y MANTENIMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las colonias que van a ser analizadas con las pruebas de susceptibilidad se deben retirar del medio de cultivo que se ha inoculado previamente con la muestra a examinar.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Utilizar colonias puras, frescas para preparar la suspensión equivalente a 0.5 McFarland Standard.
2. Utilizar un hisopo de algodón estéril y extender la suspensión sobre la superficie de una placa de Mueller Hinton.
3. Aplicar los discos en la placa inoculada, asegurándose de que haya suficiente espacio entre los discos para poder leer correctamente las zonas de inhibición.
4. Incubar a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 18-24 horas.

EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS

Al finalizar el tiempo de incubación, medir los halos de inhibición e interpretar siguiendo la tabla aquí presente.

Tabla interpretativa. Método CDT para la confirmación de AmpC.

Disco Antibiótico	La confirmación es positiva si
Cefotaxime solo (CTX) y con Cloxacilina (CTC) y/o Ceftazidime solo (CAZ) y con Cloxacilina (CAC)	≥ 5 mm incremento en una zona de inhibición de cefalosporina con cloxacilina

CONTROL DE CALIDAD

Cepas adecuadas para el control de calidad de las pruebas de detección de ESBL:

Microorganismo		Fenotipo AmpC
<i>Enterobacater cloacae</i>	ATCC® BAA-1143	+
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	-

LÍMITES

Las pruebas de susceptibilidad por difusión son una técnica in vitro y no pueden reproducir las complejas condiciones in vivo. Sin embargo, son una herramienta útil que ayuda al médico a elegir la terapia más adecuada. Existen muchas variables que pueden afectar al resultado de la prueba de susceptibilidad por difusión. Las principales son: el medio de cultivo empleado, el impregnado de los discos, el inóculo del medio, la temperatura, la atmósfera y tiempo de incubación de las placas, las condiciones de pre-incubación y pre-difusión, la profundidad del medio, etc.

PRECAUCIONES

Los discos no están considerados como peligrosos según la legislación vigente pero deben ir acompañados de una hoja de seguridad porque podrían causar fenómenos de sensibilización en personas sensibles si entran en contacto con su piel. Los discos son productos desechables. Su uso está restringido al ámbito diagnóstico in vitro para uso profesional. Deben ser utilizados en laboratorio por usuarios debidamente adiestrados en condiciones asépticas aprobadas y métodos de seguridad para agentes patógenos.

ALMACENAMIENTO

Almacenar el blister sin abrir a -20°C a +8°C hasta su fecha de caducidad. Permitir que el cartucho sin abrir se atempere antes de que el blister sea abierto para reducir la posible condensación en los discos. Los discos restantes sin utilizar del cartucho abierto deben almacenarse a 2-8°C durante un máximo de 7 días. Reintroducir los discos en el frigorífico tan pronto como se hayan utilizado. Eliminar los discos caducados.

DESECHADO DEL MATERIAL EMPLEADO

Después de su utilización, los discos y el material que ha entrado en contacto con las muestras deben ser descontaminados y desechados siguiendo las técnicas generales de laboratorio para la descontaminación y desecho de material potencialmente infectado.

REFERENCIAS

- Jacoby G.A. AmpC β -Lactamases. Clin Microbiol Rev. 2009; 22(1): 161–182.
- EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 1.0, 2013.

PRESENTACIÓN

DESCRIPCIÓN		PRESENTACIÓN	REF	PRUEBAS
Cefotaxime 30 µg	CTX	1 x 50 Discos	99009	50
Cefotaxime 30 µg + Cloxacillin	CTC	1 x 50 Discos		
Ceftazidime 30 µg	CAZ	1 x 50 Discos		
Ceftazidime 30 µg + Cloxacillin	CAC	1 x 50 Discos		

TABLA DE SÍMBOLOS

LOT Código de lote	IVD Dispositivo médico diagnóstico in vitro	 Fabricante	 Utilizar antes de	 Frágil, manipular con cuidado
REF Número de catálogo	 Límites de temperatura	 Contenido suficiente para <n> análisis	 Atención, consultar el documento adjunto	 No reutilizar

**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy

Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330

www.liofilchem.net

liofilchem@liofilchem.net

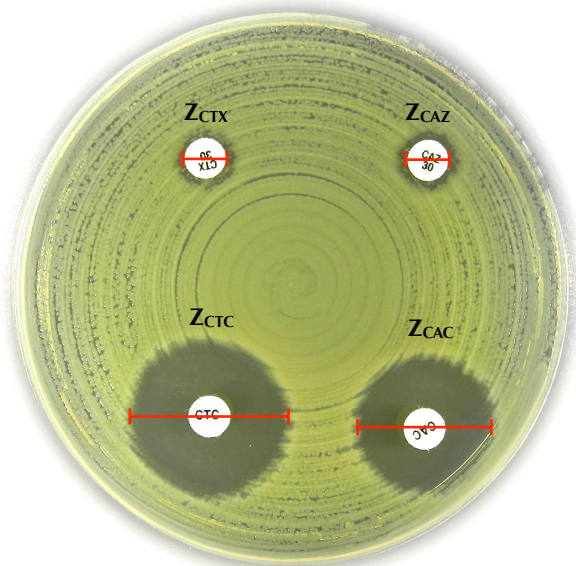




AmpC disc kit

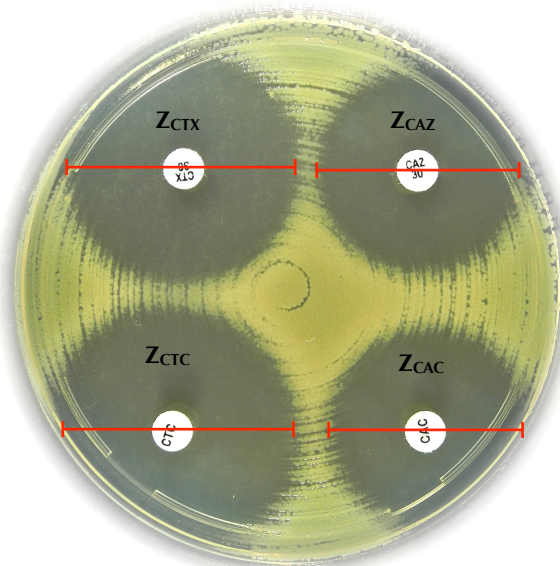
Disc tests for confirmation of AmpC producing organisms.

AmpC positive strain



$Z_{CTC} - Z_{CTX} \geq 5 \text{ mm}$
 $Z_{CAC} - Z_{CAZ} \geq 5 \text{ mm}$

AmpC negative strain



$Z_{CTC} - Z_{CTX} < 5 \text{ mm}$
 $Z_{CAC} - Z_{CAZ} < 5 \text{ mm}$



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy

Tel. +39 0858930745

Fax +39 0858930330

www.liofilchem.net

lioilchem@lioilchem.net

