RESIST CTX-M

www.corisbio.com
IFU-58R14/TB/05

Výrobce:

Coris BioConcept
CREALYS Science Park
Rue Guillaume Fouquet,
11 5032 GEMBLOUX
BELGIE
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com
Vyrobeno v
BELGII

In vitro rychlý diagnostický test pro detekci CTX-M-14 a CTX-M-15 ß-laktamazy v bakteriální kultuře

PRO DIAGNOSTIKU IN VITRO
POUZE PRO PROFESIONÁLNÍ POUŽITÍ
Reference: K-15R14, 20 kazet, buffer, 20 elektronek a 20 přenosových pipet

(EN) Návod k použití ve vašem jazyce: (FR) Pour obtenir les notices dans la langue de votre choix : (ES) Para las instrucciones de uso en su idioma : (PT) Para Instruçoes de Uso na sua lingua : (IT) Per le Istruzioni di Uso nella sua lingua : (DE) Für Gebrauchsanleitungen in Ihrer Sprache : (NL) Voor Gebruiksaanwijzing in uw eigen taal : (PL) Instrukcja obsługi w języku użytkownika:	
	Web: ifu.corisbio.com Klíčový kód: COR58R14
	(EU) +800 135 79 135 (mimo EU) +31 20 794 7071 (CA) +1 855 805 8539 (AR, CO, UY, AU, NZ) +800 135 79 135

I. ÚVOD

ß-laktamazy jsou enzymy, které inaktivují ß-laktamy štěpením ß-laktámového kruhu, čímž vyvolávají rezistenci bakterií produkujících tyto enzymy vůči tomuto typu antibiotika. Mezi ß-laktamázami mají ty s rozšířeným spektrem (ESBL) rezistenci vůči většině beta-laktamutů, včetně cefalosporinů třetí generace, což zkracuje terapeutické okno pro léčbu bakteriálních infekcí. ESBL z rodiny CTX-M patří do třídy A ß-laktamáz, stejně jako enzymy TEM, SHV a karbapenemazy typu KPC. Díky své evoluci a zejména díky spojení s mobilními genetickými prvky představují enzymy CTX-M důležitou součást ESBL a jsou rozšířeny v mnoha rodech Enterobacteriaceae, zejména *u rodů Escherichia coli*, rodů *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, ale také u dalších Enterobacteriaceae, jako jsou *druhy Morganella*.
Je popsáno více než 250 variant CTX-M. Jsou rozděleny do 3 menších a 5 hlavních rodin, mezi nimiž skupina 1 (jejímž hlavním zástupcem je CTX-M-15) a skupina 9 (jejímž hlavními zástupci jsou CTX-M-14 a CTX-M-27) jsou hlavními odpovědnými za nárůst prevalence ESBL po celém světě, ať už v komunitním nebo nemocničním prostředí. Naopak klastr podobný CTX-M-8 je velmi malá skupina pouhých 14 členů.
Test pro identifikaci CTX-M, které představují hlavní část ESBL, je nástroj umožňující racionálnější použití antibiotik poslední možnosti, jako jsou karbapenemy.

II. PRINCIP TESTU

Tento test je připraven k použití a je založen na membránové technologii s koloidními zlatými nanočásticemi. Náš set je zaměřen na detekci skupiny 1 (podobných CTX-M-15), skupiny 8 (podobných CTX-M-8) a skupiny 9 (podobných CTX -M-14) typu CTX-M-typu ß-laktamáz z bakteriální kolonie Enterobacteriaceae rostoucích na agarové desce.
Nitrocelulózová membrána je senzibilizována (1) monoklonální protilátkou namířenou proti jednomu epitopu skupiny 1 (CTX-M-15) ß-laktamáze a (2) druhou monoklonální protilátkou zaměřenou proti společnému epitopu skupiny 8 (podobná CTX-M-8) a skupině 9 (podobná CTX-M-14) β-laktamázam.
Existují dva různé konjugáty spojené s koloidními zlatými částicemi, které se suší na membráně: konjugát nasměrovaný proti druhému epitopu CTX-M ß-laktamázy a kontrolní konjugát pro ověření testovacích podmínek.
Když se poskytnutý pufr obsahující znovu suspendované bakterie dostane do kontaktu s membránou, rozpuštěné konjugáty migrují se vzorkem pasivní difúzí a jak konjugáty, tak materiál vzorku přicházejí do kontaktu s první protilátkou anti-CTX-M-15, která je adsorbována na nitrocelulózový proužek. Pokud vzorek obsahuje CTX-M-15 ß-laktamázu (nebo jiné enzymy CTX-M ze skupiny 1), konjugovaný–CTX-M-15 komplex zůstane vázán na první (spodní) protilátku proti CTX-M-15 adsorbovanou na nitrocelulózu (čára G1). Migrace pokračuje pasivní difuzí a jak konjugáty, tak vzorkový materiál přicházejí do kontaktu s druhou protilátkovou linií anti-CTX-M, která je adsorbována na nitrocelulózový proužek. Pokud vzorek obsahuje CTX-M-14 ß-laktamáza (nebo jiné enzymy CTX-M ze skupiny 9) nebo CTX-M-8 ß-laktamáza, konjugovaný–CTX-M komplex, zůstává navázán na druhou linii anti-CTX-M protilátku adsorbovanou na nitrocelulózu (čára GX).
Nakonec roztok pokračuje v migraci, aby dosáhl třetího (horního) řídícího činidla, které se váže na řídící konjugát (čára C), čímž vzniká červená čára.
Výsledek je viditelný do 15 minut ve formě červených čar na pásu.

III. ČINIDLA A MATERIÁLY

1. **RESIST CTX-M (20)**
20 uzavřených sáčků obsahujících jedno zařízení a jeden vysušovač. Každé zařízení obsahuje jeden citlivý proužek.
2. **LY-E pufrovací lahvička (5 mL)**
Solný roztok obsahující NaN3 (<0,1 %) a detergent.
3. **Návod k použití (1)**
4. **Jednorázové sběrné zkumavky (20)**
5. **Jednorázové přenosové pipety (20)**

IV. ZVLÁŠTNÍ OPATŘENÍ

- Všechny operace spojené s použitím testu musí být prováděny v souladu s dobrými laboratorními postupy.
- Všechny činidla jsou určena pouze pro *in vitro* diagnostiku.
- Kapsa musí být opatrně otevřena:
- Vyhněte se dotyku nitrocelulózy prsty.
- Při manipulaci se vzorky noste rukavice.
- Nikdy nepoužívejte činidla z jiné sady.
- Zelené čáry označují místa adsorpce imunoagentů. Zelená barva během testu zmizí.
- Kvalitu činidel nelze zaručit po jejich trvanlivosti nebo pokud nejsou skladována za požadovaných podmínek, jak je uvedeno v příložce.

V. LIKVIDACE ODPADU

- Zlikvidujte rukavice, tampony, zkumavky a použité přístroje v souladu s dobrými laboratorními postupy.
- Každý uživatel je odpovědný za nakládání s veškerým vzniklým odpadem a musí zajistit, aby byl likvidován v souladu s platnou legislativou.

VI. SKLADOVÁNÍ

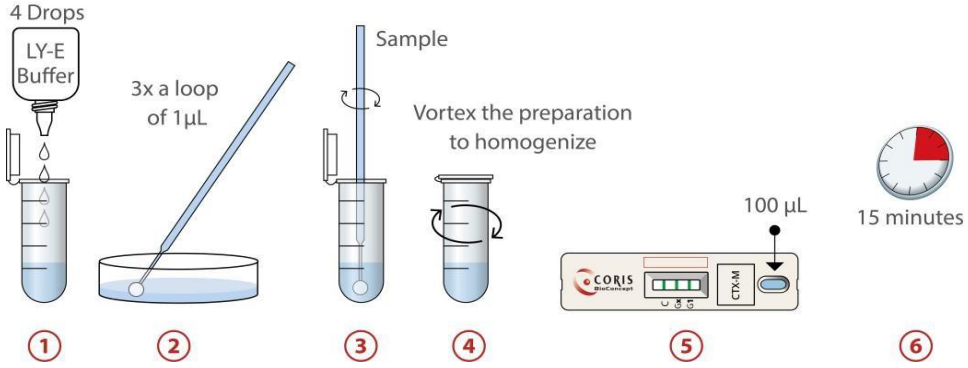
- Neotevřený sáček lze uchovávat při teplotě mezi 4 a 30 °C a používat až do data trvanlivosti uvedeného na obalu. Jakmile je kapsa otevřena, test proveďte okamžitě.
- Vyhněte se zmrazení zařízení a bufferů.

VII. MANIPULACE A SBĚR VZORKŮ

Vzorky určené k testování by měly být získány a ošetřeny standardními mikrobiologickými metodami.
Ujistěte se, že vzorky nejsou ošetřeny roztoky obsahujícími formaldehyd nebo jeho deriváty.
Kultivační média testovaná a ověřená pomocí Coris BioConcept RESIT sad jsou uvedena na webových stránkách: https://www.corisbio.com/faq/resist-ctx-m

VIII. POSTUP

PŘÍPRAVY TESTU:
Nechte komponenty sady v neotevřeném balení a vzorky (pro případ, že deska s koloniemi k testování byla uchovávána při 4°C) dosáhnout pokojové teploty (15–30 °C) před provedením testu.
Otevřete pouzdro a vyjměte zařízení. Jakmile je test otevřen, test provedete okamžitě. Na zařízení uveďte jméno pacienta nebo číslo vzorku (jedno zařízení na vzorek).
POSTUP PŘÍPRAVY VZORKU:
Výkonnostní tvrzení týkající se typů vzorků jiných než bakteriálních kolonií nebyla prokázána. Doporučujeme použití čerstvých bakteriálních kolonií pro optimální výkon testu.
1. Připravte jednu sběrnou zkumavku a přidejte do ní **4 kapky LY-E pufru**.
2. Bakterie se sbírají tak, že vezmou **3 kolonie** (což odpovídá 3 smyčkám s kapacitou 1 µl) pomocí jednorázové bakteriologické smyčky a ponoří smyčku na dno sběrné trubice obsahující pufr.
3. Před vyjmutím smyčky důkladně promíchejte
4. Zavřete trubici a prověřte přípravu vírem, aby se homogenizovala.
5. Použijte přenosovou pipetu v sadě a přidejte 100 µL zředěného vzorku do vzorkové jamky kazety (**zředěný vzorek musí dosáhnout černé čáry označené na přenosové pipetě, aby přesně nasával 100 µL**).
6. Nechte reagovat 15 minut a přečtěte si výsledek.

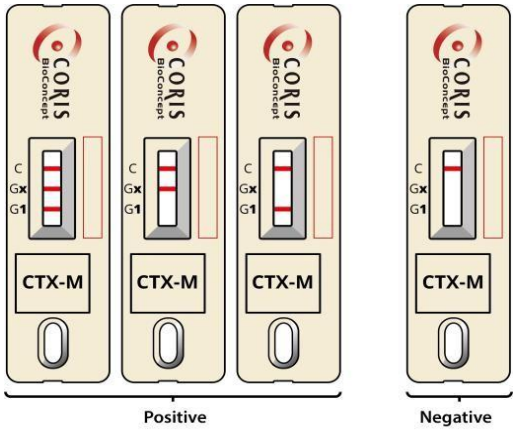


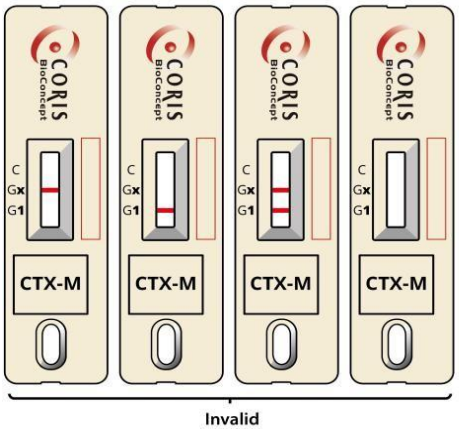
Pozitivní výsledky mohou být hlášeny dříve, jakmile se testovací a kontrolní čáry stanou viditelnými.

Neberte v úvahu výskyt nových řádků po uplynutí reakční doby.

Výsledek musí být přečten na stále mokrém proužku.

IX. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ





Výsledky lze interpretovat následovně:

Negativní výsledek testu: přes centrální čtecí okno na pozici Control Line (C) se objeví červenofialová čára. Žádná jiná kapela zde není.

Pozitivní výsledek testu: kromě červenofialového pásu na kontrolní čáře (C) se na jedné z pozic testovací čáry ("G1" nebo "GX") objevuje viditelný červenofialový pás. Intenzita testovací čáry se může lišit podle množství antigenů i typu varianty přítomné ve vzorku. Jakákoli červenofialová testovací čára ("G1" nebo "GX"), i slabá, by měla být považována za pozitivní výsledek.

Pokud je pouze pozitivní testovací čára čára GX, vzorek obsahuje CTX-M-14 ß-laktamázu nebo jiné CTX-M enzymy ze skupiny 9 nebo skupiny 8. Pokud je pouze pozitivní testovací čára čára G1, vzorek obsahuje CTX-M-15 ß-laktamázu nebo jiné enzymy CTX-M ze skupiny 1.

Neplatný výsledek testu: Absence řídicí čáry znamená selhání testovacího postupu. Opakujte neplatné testy s novým testovacím zařízením.

Poznámka: během procesu sušení se na pozicích testovací čáry může objevit velmi slabý stín. Nemělo by to být považováno za pozitivní výsledek.

X. VÝKON

A. Detekční limit

Detekční limit určený pomocí purifikovaných rekombinantních proteinů CTX-M-14 a CTX-M-15 byl vyhodnocen na 3,14 ng/ml a 3,7 ng/ml.

B. Validace sběru referenčních kmenů

Test RESIST CTX-M byl hodnocen na souboru 148 klinických izolátů s plně charakterizovanými mechanismy rezistence na beta-laktamová antibiotika pomocí molekulárního přístupu (interní multiplex, PCR a sekvenování).

RESIST CTX-M / Skupina 1[a]	Pozitivní	Negativní	Celkem
Pozitivní	117	0	117
Negativní	2	29	31
Celkem	119	29	148

[a]: včetně CTX-M-1, 3, 15, 55, 135 a CTX-M G1 bez sekvenace

		95 % interval spolehlivosti [I]
Citlivost:	98.3 %	(93,6 až 99,7 %)
Specifika:	100 %	(85,4 až 100 %)
Pozitivní prediktivní hodnota:	100 %	(96,0 až 100 %)
Záporná prediktivní hodnota:	93.5 %	(77,2 až 98,9 %)
Shoda:	98.6 %	(146/148)

RESIST CTX-M / Skupiny X[b]	Pozitivní	Negativní	Celkem
Pozitivní	26	0	26
Negativní	0	122	122
Celkem	26	122	148

[b]: Včetně CTX-M-8 a CTX-M-14

		95 % interval spolehlivosti [I]
Citlivost:	100 %	(83,4 až 100 %)
Specifika:	100 %	(96,2 až 100 %)
Pozitivní prediktivní hodnota:	100 %	(84,0 až 100 %)
Záporná prediktivní hodnota:	100 %	(96,2 až 100 %)
Shoda:	100 %	(148/148)

C. Opakovatelnost a reprodukovatelnost

Pro ověření vnitrošarkové přesnosti (opakovatelnosti) byly stejné pozitivní vzorky a pufrovací roztok zpracovány 15krát na sadách stejné výrobní série ve stejných experimentálních podmínkách. Všechny pozorované výsledky byly potvrzeny podle očekávání.

Pro ověření mezidávkové přesnosti (reprodukovatelnosti) byly některé vzorky (pozitivní a pufrové) zpracovány na sadách ze tří různých výrobních šarží. Všechny výsledky byly potvrzeny podle očekávání.

XI. LIMITY SOUPRAVY

Test je kvalitativní a nemůže předpovědět množství antigenů přítomných ve vzorku. Klinický obraz a další výsledky testů musí být zohledněny pro stanovení diagnózy. Pozitivní test nevylučuje možnost, že mohou být přítomny i jiné mechanismy rezistence na antibiotika.

XII. TECHNICKÉ PROBLÉMY / STÍŽNOSTI

Pokud narazíte na technický problém nebo pokud výkony neodpovídají těm, které jsou uvedeny v tomto příbalovém letáku:

1. Zaznamenejte číslo šarže dané sady.
2. Pokud je to možné, uchovejte vzorek ve vhodném skladovacím stavu během řízení stížnosti.
3. Kontaktujte Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) nebo svého místního distributora. Jakýkoli vážný incident, který se týkal zařízení, musí být nahlášen výrobci a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém je uživatel a/nebo pacient usedl.

XIII. BIBLIOGRAFICKÉ ODKAZY

A. **Mendonça J., Guedes C., Silva C., Sá S., Oliveira M., Accioly G., Baylina P., Barata P., Pereira C., Fernandes R.** Nová skupina CTX-M Congranting β-Lactam Resistance: Kompendium fylogenetických poznatků z biochemické, molekulární a strukturální biologické biologie (Basilej). 7. února 2022; 11(2):256

B. **Castanheira M, Simner PJ, Bradford, PA.** Extend-spectrum β-laktamázy: aktualizace jejich charakteristik, epidemiologie a detekce. JAC Antimikrobní rezistence. 16. července 2021; 3(3):1-21

C. **Peirano G, Pitout JDD.** Enterobacteriaceae produkující β laktamázu s rozšířeným spektrem: aktualizace molekulární epidemiologie a možností léčby. Drogy. září 2019; 79(14):1529-1541

D. **Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C.** Šíření beta-laktamáz typu CTX-M s rozšířeným spektrem. Clin Microbiol Infect. leden 2008; 14 Suppl 1:33-41

E. **Ghafourian S, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z.** Beta-laktamázy s rozšířeným spektrem : definice, klasifikace a epidemiologie. Curr vydává Mol Biol. 2015; 17 :11-21.

F. **Paterson DL, Bonomo RA.** Beta-laktamázy s rozšířeným spektrem: klinická aktualizace**.** Clin Microbiol Rev. 2005 října; 18(4):657-86

G. **Bevan E.R., Jones A.M. a Hawkey P.M.** Globální epidemiologie CTX-M β-laktamáz: časové a geografické posuny v genotypu. **Chemoterapie s J antimikroby.** 1. srpna 2017; 72 (8):2145-2155.

H. **Zhao WH, Hu ZQ.** Epidemiologie a genetika CTX-M rozšířeného spektra β-laktamáz u gramnegativních bakterií. Crit Rev Microbiol. 2013 únor; 39(1):79-101.

I. **D'Andrea MM, Arena F, Pallecchi L, Rossolini GM.** CTX-M-typ β-laktamázy: úspěšný příběh rezistence na antibiotika. Int J Med Microbiol. 2013 srpen; 303(6-7):305-17

J. **Newcombe, Robert G. "Oboustranné intervaly spolehlivosti pro jediný podíl: Srovnání sedmi metod,"** ***Statistics in Medicine,*** **17, 857-872 (1998)**

Poslední aktualizace:
27. KVĚTNA 2024

REF	Katalogové číslo		Výrobce
IVD	Diagnostické zdravotnické zařízení in vitro		Teplotní limity
Σ	Obsahuje dostatek pro <n> testů	LOT	Číslo šarže
	Konzultujte návod k použití		Nepoužívejte znovu
	Udržujte v suchu		Datum expirace
DIL SPE	Ředidlo vzorku	CONT NaN3	Obsahuje azid sodný
UDI	Jedinečný identifikátor zařízení		