

# RESIST CTX-M



www.corisbio.com

IFU-58R14/PL/03



Wytwórca:

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

## Szybki test diagnostyczny *in vitro* do wykrywania $\beta$ -laktamaz CTX-M-14 i CTX-M-15 w hodowli bakteryjnej

### DO DIAGNOSTYKI *IN VITRO*

#### WYŁĄCZNIIE DO UŻYTKU PROFESJONALNEGO

Odnosiłki: K-15R14, 20 kaset, bufor, 20 probówek i pipety transferowe

PL

### I. WSTĘP

$\beta$ -laktamazy to enzymy, które inaktywują  $\beta$ -laktamy poprzez rozszczepienie pierścienia  $\beta$ -laktamowego, wywołując w ten sposób oporność na ten typ antybiotyku u bakterii wytwarzających te enzymy. Wśród  $\beta$ -laktamaz enzymy o rozszerzonym spektrum (ESBL) nadają oporność na większość beta-laktamów, w tym na cefalosporyny III generacji, zmniejszając okno terapeutyczne w leczeniu zakażeń bakteryjnych. ESBL z rodziny CTX-M należą do klasy A  $\beta$ -laktamaz, podobnie jak enzymy TEM, SHV i karbapenemazy typu KPC. Ze względu na swoją ewolucję, a zwłaszcza dzięki ich powiązaniu z ruchomymi elementami genetycznymi, enzymy CTX-M stanowią ważną część ESBL i są rozpowszechnione u wielu Enterobacteriaceae, w szczególności *Escherichia coli*, rodzajów *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, ale także u innych Enterobacteriaceae, np. *Morganella* spp.

Opisano ponad 250 wariantów CTX-M. Są one podzielone na 6 głównych rodzin, wśród których grupa 1 (której głównym przedstawicielem jest CTX-M-15) i grupa 9 (której głównymi przedstawicielami są CTX-M-14 i CTX-M-27) są głównymi odpowiedzialnymi za wzrost prevalencji ESBL na całym świecie, zarówno w warunkach środowiskowych, jak i szpitalnych. *Escherichia coli* wytwarzające CTX-M są częstą przyczyną nawracających infekcji dróg moczowych.

Test służący do identyfikacji CTX-M typu 14 i 15, które reprezentują główną część ESBL, jest narzędziem pozwalającym na bardziej racjonalne stosowanie antybiotyków ostatniej szansy, takich jak karbapenemy.

### II. ZASADA TESTU

Test ten jest gotowy do użycia i opiera się na technologii membranowej z nanocząsteczkami złota koloidalnego. Ten zestaw jest przeznaczony do wykrywania  $\beta$ -laktamaz z grupy 1 (podobnych do CTX-M-15) i 9 (podobnych do CTX-M-14) typu CTX-M z kolonii bakterii Enterobacteriaceae rosnących na płycie agarowej.

Membrana nitrocelulozowa jest sensytyzowana: (1) przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko jednemu epitopowi  $\beta$ -laktamazy z grupy 1 (CTX-M-15) oraz (2) drugim przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko epitopowi  $\beta$ -laktamaz z grupy 9 (CTX-M-14).

Istnieją dwa różne koniugaty sprężone z cząsteczkami złota koloidalnego, które suszy się na błonie: koniugat skierowany przeciwko drugiemu epitopowi  $\beta$ -laktamazy CTX-M oraz koniugat kontrolny służący do walidacji warunków testu.

Gdy dostarczony bufor zawierający ponownie zawieszone bakterie wejdzie w kontakt z membraną, rozpuszczone koniugaty migrują z próbką poprzez dyfuzję bierną i zarówno koniugaty, jak i materiał próbki wchodzi w kontakt z pierwszym przeciwciałem anty-CTX-M-15, które jest adsorbowane na pasku nitrocelulozowym. Jeśli próbka zawiera  $\beta$ -laktamazę CTX-M-15 (lub inne enzymy CTX-M z grupy 1), kompleks koniugat-CTX-M-15 pozostanie związany z pierwszą (dolną) linią anty-CTX-M-15 przeciwciał adsorbowanych na pasku nitrocelulozowym (linia 15). Migracja jest kontynuowana przez dyfuzję bierną i zarówno koniugaty, jak i materiał próbki wchodzi w kontakt z drugą linią przeciwciał anty-CTX-M-14, które są adsorbowane na pasku nitrocelulozowym. Jeśli próbka zawiera  $\beta$ -laktamazę CTX-M-14 (lub inne enzymy CTX-M z grupy 9), kompleks koniugat-CTX-M-14 pozostanie związany z drugą linią anty-CTX-M-14 przeciwciał adsorbowanych na pasku nitrocelulozowym (linia 14). Wreszcie migracja roztworu trwa, aby dotrzeć do odczynnika kontrolnego na trzeciej (górnej) linii, który wiąże koniugat kontrolny (linia C), tworząc w ten sposób czerwoną linię.

Rezultat widoczny jest w ciągu 15 minut w postaci czerwonych linii na pasku.

### III. ODCZYNNIKI I MATERIAŁY

#### 1. RESIST CTX-M (20)

20 zamkniętych woreczków zawierających jedno urządzenie i jeden środek osuszający. Każde urządzenie zawiera jeden uwrażliwiony pasek.

#### 2. Fiolka z buforem LY-E (5 mL)

Roztwór soli zawierający Na<sub>3</sub>N (<0,1%) i detergent.

#### 3. Instrukcja użytkownika (1)

#### 4. Jednorazowe probówki (20)

#### 5. Jednorazowe pipety transferowe (20)

### IV. SPECJALNE ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wszystkie operacje związane z użyciem testu muszą być wykonywane zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną.
- Wszystkie odczynniki są przeznaczone wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
- Woreczek należy otwierać ostrożnie.
- Unikać dotykania nitrocelulozy palcami.
- Podczas pracy z próbkami należy nosić rękawiczki.
- Nigdy nie należy używać odczynników z innego zestawu.
- Zielone linie wskazują miejsca adsorpcji odczynników immunologicznych. Podczas testu kolor zielony znika.
- Jakość odczynników nie może być zagwarantowana po upływie ich terminu ważności lub jeśli odczynniki nie są przechowywane w wymaganych warunkach wskazanych w ulotce.

### V. UTYLIZACJA ODPADÓW

- Rękawiczki, waciki, probówki i zużyte urządzenia należy utylizować zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną.
- Każdy użytkownik jest odpowiedzialny za gospodarowanie wszelkimi wytworzonymi odpadami i musi zapewnić ich utylizację zgodnie z obowiązującymi przepisami.

### VI. PRZECHOWYWANIE

- Nieotwarty woreczek można przechowywać w temperaturze od 4 do 30°C i zużyć do daty przydatności do użycia wskazanej na opakowaniu. Po otwarciu woreczka należy natychmiast przeprowadzić test.
- Unikać zamrażania urządzeń i bufora.

### VII. PRZECHOWYWANIE I POBIERANIE PRÓBEK

Próbki do badań powinny być pozyskiwane i obsługiwane z użyciem standardowych metod mikrobiologicznych.

Należy upewnić się, że próbki nie są traktowane roztworami zawierającymi formaldehyd lub jego pochodne.

### VIII. PROCEDURA

#### PRZYGOTOWANIE DO TESTU:

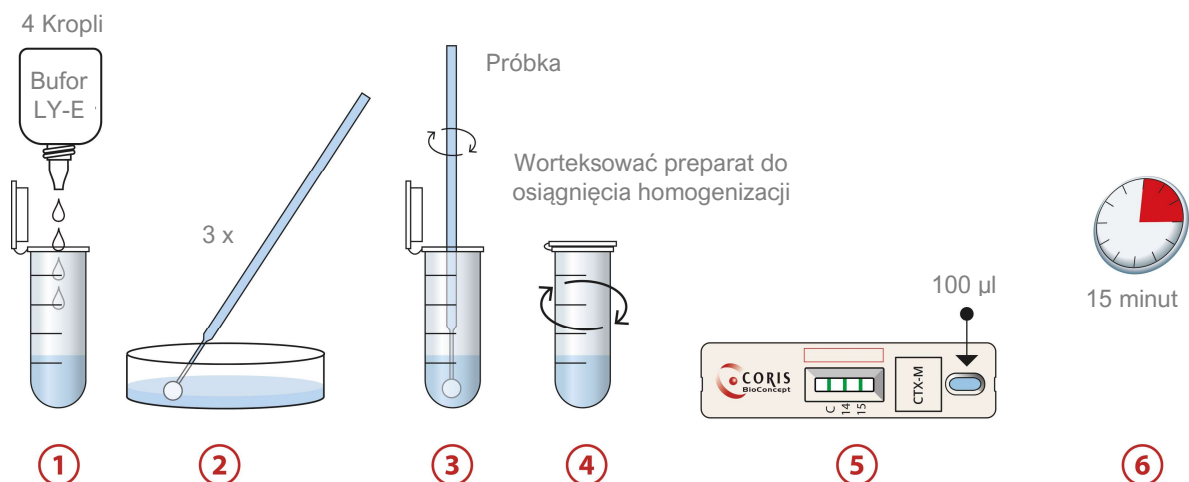
Przed wykonaniem testu należy pozostawić składniki zestawu w nieotwartym opakowaniu i próbki (w przypadku, gdy płytka zawierająca badane kolonie była przechowywana w temperaturze 4°C) do osiągnięcia temperatury pokojowej (15-30°C).

Otworzyć woreczek i wyjąć urządzenie. Po otwarciu woreczka należy natychmiast przeprowadzić test. Wskazać nazwisko pacjenta lub numer próbki na urządzeniu (jedno urządzenie na próbkę).

#### PROCEDURA PRZYGOTOWANIA PRÓBEK:

Deklaracje dotyczące skuteczności w odniesieniu do typów próbek innych niż kolonie bakteryjne nie zostały ustalone. Zalecamy stosowanie świeżych kolonii bakteryjnych w celu uzyskania optymalnej skuteczności testu.

1. Przygotować jedną próbkę zbiorczą i dodać do probówki 4 krople buforu LY-E.
2. Pobrać bakterie, pobierając 3 kolonie jednorazową eżą bakteriologiczną i zanurzyć eżę na dnie probówki do pobierania zawierającej bufor.
3. Przed usunięciem eży dokładnie wymieszać.
4. Zamknięcie rury i worteksować preparat do osiągnięcia homogenizacji
5. Użyć pipety transferowej dostarczonej w zestawie i dodać 100  $\mu$ L rozcieńczonej próbki do studzienki na próbkę kasety (rozcieńczona próbka musi osiągnąć czarną linię wskazaną na pipecie transferowej, aby dokładnie zaaspirować 100  $\mu$ L).
6. Pozostawić na 15 minut i odczytać wynik.

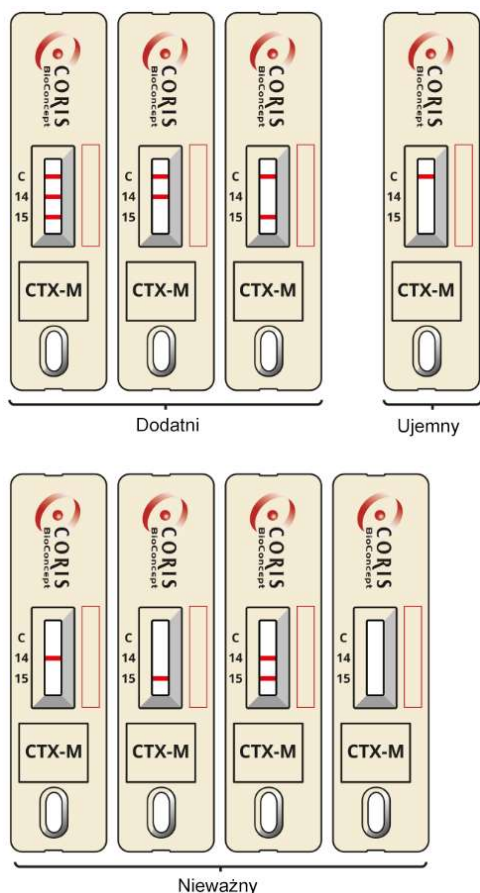


Wyniki dodatnie można zgłaszać wcześniej, gdy tylko widoczne będą linie testowa i kontrolna.

Nie należy brać pod uwagę pojawienia się nowych linii po upływie czasu reakcji.

Wynik należy odczytać na jeszcze mokrym pasku.

## IX. INTERPRETACJA WYNIKÓW



Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

**Ujemny wynik testu:** czerwono-fioletowa linia pojawia się w poprzek środkowego okienka odczytu w pozycji linii kontrolnej (C). Nie pojawia się żaden inny prążek.

**Dodatni wynik testu:** oprócz czerwono-fioletowego prążka na linii kontrolnej (C), widoczny czerwono-fioletowy prążek pojawia się w jednej z pozycji linii testowej („14” lub „15”). Intensywność linii testowej może się różnić w zależności od ilości antygenów, a także rodzaju wariantu obecnego w próbce. Każda czerwono-fioletowa linia testowa („14” lub „15”), nawet słaba, powinna być uznana za wynik dodatni.

Jeśli tylko dodatnia linia testowa to linia 14, próbka zawiera  $\beta$ -laktamazę CTX-M-14 lub inne enzymy CTX-M z grupy 9. Jeśli tylko dodatnia linia testowa to linia 15, próbka zawiera  $\beta$ -laktamazę CTX-M-15 lub inne enzymy CTX-M z grupy 1.

**Nieważny wynik testu:** Brak linii kontrolnej wskazuje na niepoprawne wykonanie procedury testowej. Należy powtórzyć nieważne testy z nowym urządzeniem testowym.

Uwaga: podczas procesu suszenia na pozycjach linii testowej może pojawić się bardzo słaby cień. Nie należy tego traktować jako wyniku dodatniego.

## X. WYDAJNOŚĆ

### A. Granica wykrywalności

Granica wykrywalności określona dla oczyszczonych rekombinowanych białek CTX-M-14 i CTX-M-15 i została oceniona na, odpowiednio, 3,14 ng/mL i 3,7 ng/mL.

### B. Walidacja po zebraniu szczepów referencyjnych

Test RESIST CTX-M został oceniony na zbiorze 148 izolatów klinicznych o w pełni scharakteryzowanych mechanizmach oporności na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe za pomocą podejścia molekularnego (in house multipleksowej PCR i sekwencjonowanie).

RESIST CTX-M	Grupa 1 <sup>a</sup>	Dodatni	Ujemny	Razem
Dodatni		99	0	99
Ujemny		0	67	67
Razem		99	67	166

a : w tym CTX-M-1, 3, 15, 55, 135 i CTX-M G1 nie poddane sekwencjonowaniu

Czułość:	100%	95% przedział ufności <sup>l</sup>
Swoistość:	100%	(95,3 do 100%)
Dodatnia wartość przewidywania:	100%	(93,2 do 100%)
Ujemna wartość przewidywania:	100%	(95,3 do 100%)
Zgodność:	100%	(93,2 do 100%)
		(166/166)

RESIST CTX-M	Grupa 9 <sup>b</sup>	Dodatni	Ujemny	Razem
Dodatni		18	0	18
Ujemny		0	148	148
Razem		18	148	166

b : W tym CTX-M-9, 14, 27 i 65 oraz CTX-M G9 nie poddany sekwencjonowaniu

Czułość:	95% przedział ufności <sup>l</sup>
Swoistość:	100% (78,1 do 100%)
Dodatnia wartość przewidywania:	100% (96,8 do 100%)
Ujemna wartość przewidywania:	100% (78,1 do 100%)
Zgodność:	100% (96,8 do 100%)
	(166/166)

## C. Powtarzalność i odtwarzalność

Aby sprawdzić dokładność wewnątrz partii (powtarzalność), te same próbki dodatnie i roztwór buforowy poddano obróbce 15 razy na zestawach z tej samej partii produkcyjnej w tych samych warunkach doświadczalnych. Wszystkie zaobserwowane wyniki zostały potwierdzone zgodnie z oczekiwaniami.

Aby sprawdzić dokładność między partiami (odtwarzalność), niektóre próbki (pozytywne i buforowe) poddano obróbce na zestawach z trzech różnych partii produkcyjnych. Wszystkie wyniki zostały potwierdzone zgodnie z oczekiwaniami.

## XI. OGRANICZENIA ZESTAWU

Test jest jakościowy i nie pozwala przewidzieć ilości antygenów obecnych w próbce. W celu ustalenia diagnozy należy wziąć pod uwagę obraz kliniczny i inne wyniki badań. Dodatni wynik testu nie wyklucza możliwości występowania innych mechanizmów oporności na antybiotyki.

## XII. PROBLEMY TECHNICZNE / REKLAMACJE

W przypadku napotkania problemu technicznego lub jeśli wydajności nie odpowiadają tym wskazanym w tej ulotce dołączonej do opakowania:

- Należy zapisać numer partii danego zestawu.
- Jeśli to możliwe, podczas rozpatrywania reklamacji próbkę należy przechowywać w odpowiednim stanie.
- Proszę skontaktować się z Coris BioConcept ([client.care@corisbio.com](mailto:client.care@corisbio.com)) lub lokalnym dystrybutorem.

Każdy poważny incydent związany z wyrobem należy zgłosić producentowi i właściwemu organowi państwa członkowskiego, w którym użytkownik lub pacjent mają miejsce zamieszkania.

## XIII. ODNIESIENIA BIBLIOGRAFICZNE

- Castanheira M, Simmer PJ, Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. JAC Antimicrob Resist. 2021 Jul 16;3(3):1-21
- Peirano G, Pitout JDD. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Update on Molecular Epidemiology and Treatment Options. Drugs. 2019 Sep;79(14):1529-1541
- Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases. Clin Microbiol Infect. 2008 Jan;14 Suppl 1:33-41
- Ghaffourian S, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z. Extended Spectrum Beta-lactamases: Definition, Classification and Epidemiology. Curr Issues Mol Biol. 2015;17:11-21.
- Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005 Oct;18(4):657-86
- Bevan E.R., Jones A.M. and Hawkey P.M. Global epidemiology of CTX-M  $\beta$ -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. J Antimicrob Chemother. 2017 Aug 1;72 (8):2145-2155.
- Zhao WH, Hu ZQ. Epidemiology and genetics of CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Gram-negative bacteria. Crit Rev Microbiol. 2013 Feb;39(1):79-101.
- D'Andrea MM, Arena F, Pallecchi L, Rossolini GM. CTX-M-type  $\beta$ -lactamases: a successful story of antibiotic resistance. Int J Med Microbiol. 2013 Aug;303(6-7):305-17
- Newcombe, Robert G. "Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods," *Statistics in Medicine*, 17, 857-872 (1998)

Ostatnia aktualizacja : 20 LUTY 2023

REF	Numer katalogowy		Wytwórca
IVD	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro		Granice temperatury
$\Sigma$	Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów	LOT	Kod partii
	Należy zapoznać się z instrukcją użytkownika		Nie używać ponownie
	Chronić przed wilgocią		Zużyć do
DIL SPE	Próbka rozcieńczająca	CONT Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Zawiera azydek sodu
UDI	Niepowtarzalny kod identyfikacyjny wyrobu		