

CEFEPIME + CLAVULANIC ACID 30/10 µg

▽ 4 X 50

REF 12012123

Test semi-cantitativ pentru detectarea tulpinilor de enterobacterii cu un fenotip de rezistență la β-lactamază cu spectru extins (ESBL)



CE 0459



0001049 – 2021/01

Instrucțiuni de utilizare conforme cu Reglementarea (UE) 2017/746.

Modificările majore aduse versiunii anterioare sunt evidențiate cu gri. Dacă titlul unui capitol este evidențiat cu gri, înseamnă că s-au adus modificări semnificative conținutului capitolului; vă rugăm să îl citiți cu atenție.

BIO-RAD

Cuprins

1	DESTINAȚIA DE UTILIZARE	3
2	REZUMATUL ȘI EXPLICAREA TESTULUI	3
3	PRINCIPIILE PROCEDURII	3
4	REACTIVI	3
5	AVERTISMENT ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE	4
6	PROBE	4
7	PROCEDURĂ.....	4
8	LIMITĂRILE TESTULUI.....	5
9	CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ	5
10	REFERINȚE BIBLIOGRAFICE.....	6

1 DESTINAȚIA DE UTILIZARE

CEFEPIME + CLAVULANIC ACID 30/10 µg, un disc de a treia generație cu cefalosporină + acid clavulanic, este utilizat ca test semi-cantitativ pentru detectarea tulpinilor de enterobacterii cu un fenotip de rezistență la β-lactamază cu spectru extins (ESBL).

Zonele de inhibiție din jurul discurilor sunt măsurate și interpretate fie manual, fie cu sisteme automate.

2 REZUMATUL ȘI EXPLICAREA TESTULUI

Beta-lactamazele cu spectru extins (ESBL) sunt enzime care conferă rezistență la majoritatea antibioticelor beta-lactamice, incluzând peniciline, cefalosporine și monobactamul aztreonam. Majoritatea ESBL aparțin β-lactamazelor de clasă A Ambler și sunt inhibitate de inhibitori de β-lactamază (acid clavulanic, sulbactam și tazobactam) [1, 2]. ESBL sunt întâlnite în bacterii Gram-negative, în special enterobacterii și *Pseudomonas aeruginosa* [2].

Detectarea și caracterizarea ESBL sunt recomandate sau obligatorii în scopuri epidemiologice sau de control al infecției [3, 4, 5].

Metoda descrisă aici este testul cu disc combinat recomandat de CLSI, CA-SFM/EUCAST și EUCAST [3, 4, 5].

3 PRINCIPIILE PROCEDURII

Principiul constă în a testa activitatea unui inhibitor enzimatic precum acidul clavulanic combinat cu cefepimă asupra unei tulpini de enterobacterii și a observa dacă acest inhibitor restabilește activitatea cefepimei. Discurile care conțin doar CEFEPIME 30 µg și cele cu CEFEPIME + CLAVULANIC ACID 30/10 µg sunt depuse pe suprafața unei plăci de Mueller-Hinton agar inoculată în prealabil cu tulpina bacteriană ce urmează a fi testată. După incubare, sunt măsurate zonele de inhibiție din jurul discului cu CEFEPIME 30 µg și discului cu CEFEPIME + CLAVULANIC ACID 30/10 µg. O diferență de cel puțin 5 mm între cele două diametre este considerată o indicație de fenotip ESBL [4, 5].

4 REACTIVI

4.1 Descriere

Discurile Bio-Rad sunt discuri de 6,5 mm realizate din hârtie absorbantă de calitate superioară și impregnate cu concentrații precise de inhibitor și agent antimicrobian.

Discurile sunt identificate în mod clar printr-un simbol, alcătuit din 3 litere, imprimat pe fiecare parte a discului.

Într-un cartuș sunt stocate 50 de discuri cu antibiotic. Cartușele sunt stocate într-un recipient.

Identificare pe etichetă	Descriere	Prezentare
CEFEPIME + CLAVULANIC ACID CFE40 30/10 µg	1 recipient cu 4 cartușe conținând fiecare 50 de discuri cu CEFEPIME + CLAVULANIC ACID 30/10 µg	4 X 50

4.2 Cerințe de depozitare și manipulare

- Cartușele trebuie depozitate în recipientul lor la + 2-8 °C, într-un loc uscat.
- Reactivii pot fi utilizați până la data expirării menționată pe ambalaj, chiar și după deschidere, cu respectarea instrucțiunilor producătorului, conform descrierii de mai jos.
- În cazul în care cartușul rămâne în dozator după plasarea discurilor, dozatorul trebuie depozitat la + 2-8 °C, într-un loc uscat, cu desicant în interior. În aceste condiții, stabilitatea cartușului cu discuri este de **4 săptămâni**.

5 AVERTISMENT ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

- Pentru uz diagnostic *in vitro*.
- Dispozitiv destinat utilizării de către personal calificat, exclusiv într-un mediu de laborator.
- În atenția pacienților/utilizatorilor/terților din Uniunea Europeană și din țări cu regimuri de reglementare identice (Regulamentul 2017/746/UE privind dispozitivele medicale pentru diagnostic *in vitro*): vă rugăm să raportați producătorului și autorității naționale competente orice incident grav survenit în timpul utilizării dispozitivului sau ca urmare a utilizării acestuia.

5.1 Măsurile de precauție privind sănătatea și siguranța:

- Acest kit de testare trebuie manipulat doar de către personal calificat, instruit în proceduri de laborator și familiarizat cu potențialele pericole. Purtați îmbrăcăminte de protecție, mănuși și echipamente de protecție pentru ochi/față corespunzătoare și manipulați în mod corect, în conformitate cu bunele practici de laborator.
- Eliminați toate probele și materialele utilizate pentru efectuarea testului ca și cum ar conține un agent infecțios. Deșeurile de laborator, chimice sau bio-periculoase trebuie manipulate și eliminate în conformitate cu toate reglementările locale, regionale și naționale.
- Pentru frazele de pericol și frazele de precauție aferente acestui kit de testare, vă rugăm să consultați codurile H și P de pe etichete și informațiile furnizate la finalul acestor instrucțiuni de utilizare. Fișa tehnică de securitate este disponibilă la www.bio-rad.com.

5.2 Măsurile de precauție asociate procedurii

5.2.1 Pregătire

- Nu utilizați kitul dacă ambalajul oricăruia dintre componente este deteriorat.
- Nu utilizați reactivi expirați.
- Înainte de utilizare, așteptați cel puțin 20 minute pentru ca reactivii să se stabilizeze la temperatura camerei (18-30 °C).
- Nu utilizați niciun cartuș cu discuri lăsat la temperatura de 18-30 °C mai mult de 8 ore, fără a verifica un nivel acceptabil de funcționare înainte de a continua utilizarea acestui cartuș.

5.2.2 Procesare

- Respectarea instrucțiunilor de utilizare este obligatorie pentru asigurarea funcționării corespunzătoare a acestui produs.

6 PROBE

- Testele nu trebuie efectuate direct pe probe biologice.
- Testele trebuie efectuate utilizând colonii proaspete, bine izolate pe medii de cultură.
- Pentru prepararea inoculului dintr-o cultură pură, proaspătă, inocularea plăcilor de Mueller-Hinton agar, temperatura de incubare și durata de incubare, vă rugăm să consultați ghidurile actuale (CLSI [3], CA-SFM/EUCAST [4], EUCAST [6]).

7 PROCEDURĂ

7.1 Materiale necesare, dar nefurnizate

- Dozator de discuri: 6-7 discuri ref. 50294 12-16 discuri ref. 50295.
- Mueller-Hinton agar conform ghidurilor actuale (CLSI [3], CA-SFM/EUCAST [4], EUCAST [6]).
- Disc cu antibiotic: CEFEPIME 30 μg ref. 66098.
- Tulpini bacteriene pentru controlul calității.
- Control al opacității echivalent cu standardul McFarland 0,5.
- Echipament de laborator necesar pentru testarea susceptibilității la antibiotice prin metoda difuziei pe agar.
- Echipament de laborator necesar pentru măsurarea și interpretarea diametrului zonei de inhibiție.

7.2 Procedură de testare

Consultați instrucțiunile recomandate de CLSI [3], CA-SFM/EUCAST [4] sau EUCAST [6] pentru procedura de testare a susceptibilității la antibiotice și de interpretare a rezultatelor: CLSI [3], CA-SFM/EUCAST [4] sau EUCAST [6] propun tehnici standardizate pentru prepararea inoculului, inocularea cutiilor Petri, selecția și dispunerea discurilor de testare, temperatura de incubare și durata de incubare. De asemenea, trebuie aplicate în permanență bune practici de laborator.

7.3 Controlul calității

Discuri cu antibiotic	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
CEFEPIME + CLAVULANIC ACID 30/10 μg (CFE40) - CEFEPIME 30 μg (FEP30)	CFE40-FEP30 ≥ 2 mm	CFE40-FEP30 ≤ 2 mm

7.4 Interpretarea rezultatelor

Măsurăți cu precizie (până la cel mai apropiat milimetru) diametrele zonelor de inhibiție observate pentru fiecare disc.

Diferență de diametru	Rezultat	Interpretare
≥ 5 mm	Pozitiv	Prezența fenotipului de rezistență ESBL
< 5 mm	Negativ	Absența fenotipului de rezistență ESBL

8 LIMITĂRILE TESTULUI

- Performanța testului depinde nu doar de activitatea discurilor, ci și de factori precum utilizarea unui inocul și a unor tulpini de control adecvate, medii de cultură adecvate și testate în prealabil și depozitarea corespunzătoare.
- Măsurătorile efectuate până la cel mai apropiat milimetru asigură o marjă de eroare acceptabilă în condiții de laborator.
- Rezultatele fals negative ale testului pot fi cauzate de expresia altor β-lactamaze (expresie de nivel ridicat a AmpC, carbapenemazelor etc.) care maschează prezența ESBL.

9 CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

9.1 Caracteristici de performanță analitică

9.1.1 Măsurarea preciziei

Repetabilitatea și precizia intermediară au fost studiate pentru discul cu CEFEPIME + CLAVULANIC ACID 30/10 μg pe un panel de precizie alcătuit din 2 tulpini (*Enterobacter cloacae* LMG 2783 și *Enterobacter cloacae* RDC 453). Acest panel a fost testat din punct de vedere al repetabilității de 10 ori în timpul aceleiași testări și din punct de vedere al reproductibilității intermediare de trei ori de către 2 operatori pe parcursul unei perioade de 5 zile cu 2 testări diferite pe zi.

Au fost calculate diametrele medii, deviațiile standard (SD) și coeficienții de variație (CV).

9.1.1.1 Repetabilitate

Tulpină	N	Diametru mediu	SD	CV
LMG 2783 <i>E. cloacae</i>	10	34,5	0,53	1,5%
RDC 453 <i>E. cloacae</i>	10	29,1	0,32	1,1%

100% din diametrele măsurate se încadrează în criteriile de acceptare, iar CV este < 5%.

9.1.1.2 Precizie intermediară

Tulpini	N	Diametru mediu	Repetabilitate		Între operatori		Între zile		În cadrul laboratorului	
			SD	CV	SD	CV	SD	CV	SD	CV
LMG 2783 <i>E. cloacae</i>	30	32,8	0,61	1,8%	0,33	1,0%	0,81	2,5%	1,07	3,3%
RDC 453 <i>E. cloacae</i>	30	27,5	0,68	2,5%	0,63	2,3%	0,61	2,2%	1,11	4,0%

100% din diametrele măsurate se încadrează în criteriile de acceptare, iar CV este < 10%.

9.1.2 Acuratețe

Acuratețea a fost verificată în timpul studiilor de precizie: pentru fiecare disc cu CEFEPIME + CLAVULANIC ACID 30/10 µg testat pentru fiecare tulpină, creșterea diametrului zonei de inhibiție a fost măsurată și comparată cu cea a discului doar cu CEFEPIME 30 µg.

Tulpini	Repetabilitate			Precizie intermediară			Criterii de acceptare
	Diametru mediu CEFEPIME + CA*	Diametru mediu CEFEPIME	Diferență diametru mediu	Diametru mediu CEFEPIME + CA*	Diametru mediu CEFEPIME	Diferență diametru mediu	
LMG 2783 <i>E. cloacae</i>	34,5	34,0	0,5	32,8	33,0	0,3	Creștere < 5 mm față de discul cu CEFEPIME
RDC 453 <i>E. cloacae</i>	29,1	16,0	13,1	27,5	15,5	12,0	Creștere ≥ 5 mm față de discul cu CEFEPIME

*CA: Acid clavulanic

100% din diametrele măsurate se încadrează în criteriile de acceptare.

100% din diametrele aferente CEFEPIME + CLAVULANIC ACID 30/10 µg (12012123) prezintă o creștere acceptabilă a diametrului zonei pentru fiecare tulpină în comparație cu CEFEPIME 30 µg (66098).

10 REFERINȚEBIBLIOGRAFICE

- 1 - Bradford, P. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001;14:933-51.
- 2 - Livermore D. Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995; 8:557-84
- 3 - CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020. CLSI supplement M100, 30th Edition. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Wayne, Pa.
- 4 - CA-SFM/EUCAST: Comité de l'antibiogramme. French Society of Microbiology/ European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. V1.2 2020
- 5 - EUCAST: EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 2.0 July 2017.
- 6 - EUCAST: Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method Version 9.0 January 2021.

BIO-RAD este o marcă comercială a Bio-Rad Laboratories, Inc.
Toate mărcile comerciale utilizate în prezentul document sunt proprietatea deținătorilor respectivi.



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincare
92430 Marnes-la-Coquette - France
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33
www.bio-rad.com

CE 0459

2021/01
0001049