

RESIST CTX-M



www.corisbio.com

IFU- 58R14/DE/05

Hersteller:

Coris BioConcept
CREALYS Science Park
Rue Guillaume Fouquet, 11
5032 GEMBLOUX
BELGIEN
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com
Hergestellt in BELGIEN

Diagnostischer *In-vitro*-Schnelltest für den Nachweis von CTX-M-14- und CTX-M-15-β-Lactamasen in Bakterienkultur

IN-VITRO-DIAGNOSTIKUM

NUR FÜR DEN PROFESSIONELLEN GEBRAUCH

Bestellnummern: K-15R14, 20 Kassetten, Puffer, 20 Röhrchen und Transferpipetten

DE

I. EINFÜHRUNG

β-Lactamasen sind Enzyme, die β-Lactame durch Spaltung des β-Lactamrings inaktivieren und dadurch bei Bakterien, die diese Enzyme produzieren, eine Resistenz gegen diese Art von Antibiotika hervorrufen. Breitspektrum-β-Lactamasen (Extended-Spectrum-β-Lactamasen – ESBL) induzieren eine Resistenz gegen die meisten Beta-Lactame, einschließlich der Cephalosporine der 3. Generation, wodurch sich das therapeutische Fenster für die Behandlung bakterieller Infektionen verkleinert. Die ESBL der CTX-M-Familie gehören wie die Enzyme TEM, SHV und die Carbapenemasen vom KPC-Typ zur Klasse A der β-Lactamasen. Aufgrund ihrer Evolution und insbesondere dank ihrer Assoziation mit mobilen genetischen Elementen stellen CTX-M-Enzyme einen wichtigen Teil der ESBL dar und sind in vielen Enterobacteriaceae vorhanden, insbesondere in *Escherichia coli*, Gattungen *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, aber auch in anderen Enterobacteriaceae wie *Morganella spp.* Es wurden über 250 Varianten von CTX-M beschrieben. Sie werden in 3 kleinere und 5 Hauptfamilien eingeteilt, von denen die Gruppe 1 (deren wichtigster Vertreter CTX-M-15 ist) und die Gruppe 9 (deren wichtigste Vertreter CTX-M-14 und CTX-M-27 sind) die Hauptverantwortlichen für den weltweiten Anstieg der ESBL-Prävalenz sind, sowohl in der ambulanten Medizin als auch in Krankenhäusern. Im Gegensatz dazu ist der CTX-M-8-like Cluster eine sehr kleine Gruppe mit nur 14 Enzymen. Der Test zur Identifizierung von CTX-M, dem größten Teil der ESBL, ermöglicht einen vernünftigeren Einsatz von Reserveantibiotika wie Carbapenemen.

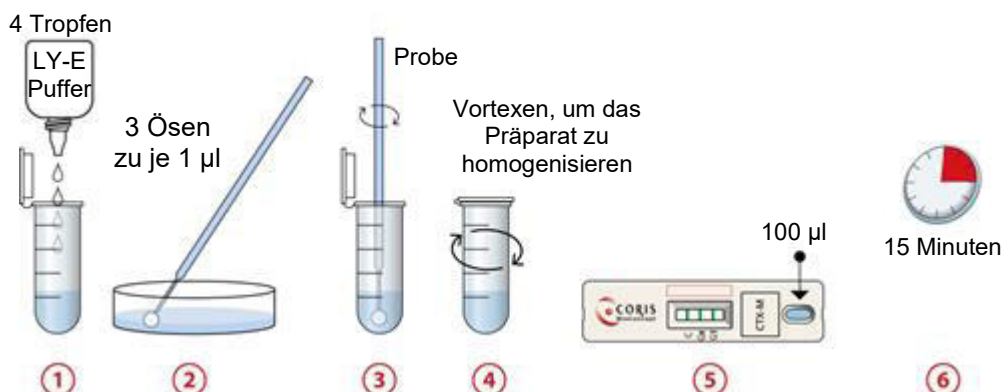
II. TESTPRINZIP

Dieser Test ist gebrauchsfertig und basiert auf einer Membrantechnologie mit kolloidalen Gold-Nanopartikeln. Unser Kit dient dem Nachweis von β-Lactamasen vom CTX-M-Typ der Gruppe 1 (CTX-M-15-like), Gruppe 8 (CTX-M-8-like) und Gruppe 9 (CTX-M-14-like) aus einer Enterobacteriaceae-Bakterienkolonie auf einer Agarplatte. Eine Nitrozellulosemembran wird mit (1) einem monoklonalen Antikörper, der gegen ein Epitop der β-Lactamase der Gruppe 1 (CTX-M-15) gerichtet ist, und mit (2) einem zweiten monoklonalen Antikörper, der gegen ein gemeinsames Epitop der β-Lactamase der Gruppe 8 (CTX-M-8-like) und der Gruppe 9 (CTX-M-14-like) gerichtet ist, sensibilisiert.

Zwei verschiedene Konjugate mit Nanopartikeln aus kolloidalem Gold sind auf einer Membran aufgetrocknet: ein Konjugat gegen ein zweites Epitop der CTX-M-β-Lactamase und ein Kontrollkonjugat zur Validierung der Testbedingungen. Wenn der mitgelieferte Puffer, der die resuspendierten Bakterien enthält, mit der Membran in Kontakt kommt, migrieren die gelösten Konjugate mit der Probe durch passive Diffusion und beide Konjugate wie auch die Probe kommen mit dem auf dem Nitrozellulosestreifen immobilisierten ersten Anti-CTX-M-15-Antikörper in Kontakt. Wenn die Probe eine CTX-M-15-β-Lactamase (oder andere CTX-M-Enzyme der Gruppe 1) enthält, bindet der Konjugat-CTX-M-15-Komplex an den Anti-CTX-M-15-Antikörper der ersten (unteren) Linie, der auf der Nitrozellulose immobilisiert ist (Linie G1). Die Migration durch passive Diffusion geht weiter und beide Konjugate wie auch die Probe kommen mit dem Anti-CTX-M-Antikörper der zweiten Linie in Kontakt, der auf dem Nitrozellulosestreifen immobilisiert ist. Wenn die Probe eine CTX-M-14-β-Lactamase (oder andere CTX-M-Enzyme der Gruppe 9) oder eine CTX-M-8-β-Lactamase enthält, bindet der Konjugat-CTX-M-Komplex an den Anti-CTX-M-Antikörper der zweiten Linie, der auf der Nitrozellulose immobilisiert ist (Linie GX).

Die Lösung migriert weiter bis zu einer dritten (oberen) Linie, dem Kontrollreagens, das ein Kontrollkonjugat bindet, wodurch eine rote Linie entsteht (Linie „C“).

Das Ergebnis wird innerhalb von 15 Minuten in Form von roten Linien auf dem Streifen sichtbar.



III. REAGENZIEN UND MATERIALIEN

1. RESIST CTX-M (20)

20 versiegelte Beutel mit je einer Testkassette und einem Päckchen Trockenmittel.

Jede Testkassette enthält einen sensibilisierten Teststreifen.

2. LY-E Puffer (5 ml-Fläschchen)

Kochsalzlösung mit NaN₃ (<0,1 %) und einem Detergens.

3. Gebrauchsanleitung (1)

4. Einweg-Sammelröhrchen (20)

5. Einweg-Transferpipetten (20)

IV. BESONDERE VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle Arbeitsschritte des Testablaufs sind in Übereinstimmung mit der Guten Laborpraxis durchzuführen.
- Alle Reagenzien sind ausschließlich für den Gebrauch in der *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Den Beutel vorsichtig öffnen:
- Die Nitrozellulose möglichst nicht mit den Fingern berühren.
- Beim Umgang mit Proben Handschuhe tragen.
- Niemals Reagenzien aus einem anderen Kit verwenden.
- Die Adsorptionsstellen der Immunreagenzien sind durch grüne Linien angezeigt. Die grüne Farbe verschwindet während des Tests.
- Die Qualität der Reagenzien kann nicht garantiert werden, wenn diese nach Ablauf ihres Verfalldatums verwendet oder nicht unter den in der Packungsbeilage angegebenen Bedingungen aufbewahrt werden.

V. ABFALLENTSORGUNG

- Handschuhe, Abstrichupfer, Teströhrchen und benutzte Testkassetten in Übereinstimmung mit der Guten Laborpraxis entsorgen.
- Jeder Anwender ist selbst für die korrekte Entsorgung des Abfalls zuständig und hat sicherzustellen, dass die Entsorgung in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Vorschriften erfolgt.

VI. LAGERUNG

- Ungeöffnete Beutel können bei 4 °C bis 30 °C aufbewahrt und bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfalldatum benutzt werden. Nach dem Öffnen des Beutels den Test so schnell wie möglich durchführen.
- Testkassetten und Puffer nicht einfrieren.

VII. HANDHABUNG UND GEWINNUNG VON PROBEN

Die zu testenden Proben sollten durch standardmäßige mikrobiologische Methoden gewonnen und behandelt werden.

Darauf achten, dass die Proben nicht mit Lösungen behandelt sind, die Formaldehyd oder Formaldehyd-Derivate enthalten.

Die geprüften und für die Coris BioConcept RESIT Kits validierten Nährmedien sind auf der folgenden Website aufgeführt: <https://www.corisbio.com/faq/resist-ctx-m>.

VIII. VERFAHREN

TESTVORBEREITUNG:

Die Bestandteile des Kits in der ungeöffneten Verpackung und die Proben (falls die Platte mit den zu testenden Kolonien bei 4 °C aufbewahrt wurde) vor der Durchführung eines Tests Raumtemperatur (15-30 °C) annehmen lassen.

Den Beutel öffnen und die Testkassette entnehmen. Nach dem Öffnen muss der Test sofort durchgeführt werden. Die Testkassetten mit dem Namen des Patienten oder der Probennummer beschriften (eine Testkassetten pro Probe).

PROBENVORBEREITUNG:

Die Leistung des Tests mit anderen Probentypen als Bakterienkolonien wurde nicht untersucht. Für optimale Testleistung empfehlen wir die Verwendung von frischem Bakterienkolonien.

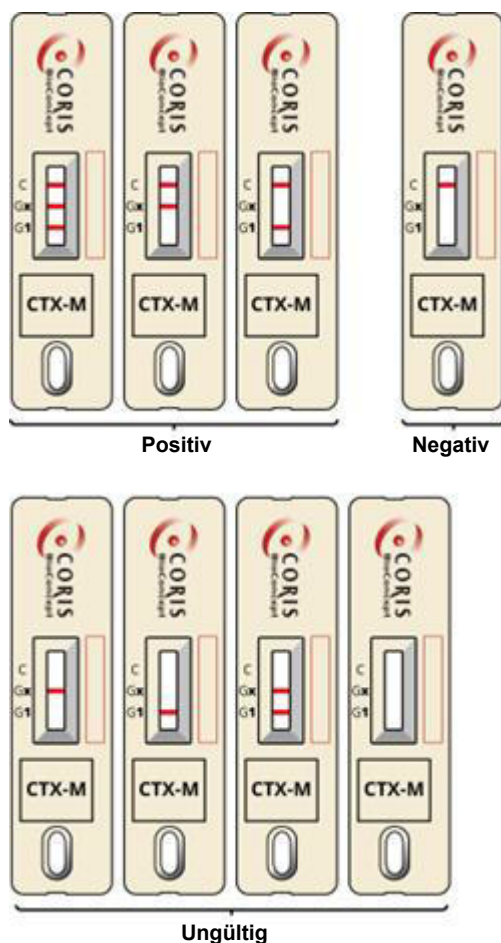
1. Ein Sammelröhrchen vorbereiten und 4 Tropfen LY-E-Puffer in das Röhrchen geben.
2. Die Bakterien durch Aufnahme von 3 Kolonien (entsprechend 3 Ösen zu je 1 µl) mit einer bakteriologischen Einwegöse entnehmen und die Öse bis zum Boden in das Röhrchen mit der Pufferlösung eintauchen.
3. Vor dem Entfernen der Öse gründlich umrühren.
4. Das Röhrchen verschließen und vortexen, um das Präparat zu homogenisieren.
5. Mithilfe der im Kit enthaltenen Transferpipette 100 µl Probe in die Probenkavität der Kassette geben (die verdünnte Probe muss die schwarze Linie auf der Transferpipette erreichen, um genau 100 µl aspirieren zu können).
6. 15 Minuten lang reagieren lassen und Ergebnis ablesen.

Positive Ergebnisse sind unter Umständen früher erkennbar, d. h. bereits sobald die Test- und Kontrolllinien sichtbar werden.

Nach Ablauf der Reaktionszeit dürfen neu erscheinende Linien nicht mehr berücksichtigt werden.

Die Ergebnisse müssen auf dem noch nassen Streifen abgelesen werden.

IX. ERGEBNISAUSWERTUNG



Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

Negatives Testergebnis: Im mittleren Ablesefenster erscheint an der Position der Kontrolllinie („C“) eine rötlich-violette Linie. Keine weitere Bande vorhanden.

Positives Testergebnis: Zusätzlich zu der rötlich-violetten Bande an der Kontrolllinie („C“) erscheint eine weitere rötlich-violette Bande an einer der beiden Stellen der Testlinie („G1“ oder „GX“). Die Intensität der Testlinie kann je nach der in der Probe vorhandenen Antigenmenge sowie des in der Probe vorhandenen Variantentyps variieren. Jede rötlich-violette Testlinie („G1“ oder „GX“), auch wenn sie nur schwach sichtbar ist, sollte als positives Ergebnis gewertet werden.

Wenn nur die Testlinie GX erscheint, enthält die Probe CTX-M-14 β -Lactamase oder ein anderes CTX-M-Enzym der Gruppe 9 oder der Gruppe 8. Wenn nur die Testlinie G1 erscheint, enthält die Probe CTX-M-15 β -Lactamase oder ein anderes CTX-M-Enzym der Gruppe 1.

Ungültiges Testergebnis: Ist keine Kontrolllinie vorhanden, so weist dies auf ein Fehlschlagen des Testverfahrens hin. Ungültige Tests mit einer neuen Testkassette wiederholen.

Hinweis: Während des Trocknens kann an der Stelle der Testlinie ein sehr schwacher Schatten erscheinen. Dieser ist nicht als positives Ergebnis zu werten.

X. LEISTUNGSDATEN

A. Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze wurde mit gereinigten rekombinanten CTX-M-14- und CTX-M-15-Proteinen ermittelt und liegt bei 3,14 ng/ml bzw. 3,7 ng/ml.

B. Validierung an Referenzstämmen

Der RESIST CTX-M Test wurde anhand von 148 klinischen Isolaten mit vollständig charakterisierten β -Lactam-Antibiotikaresistenzmechanismen mittels einer molekular-diagnostischen Methode (interne Multiplex-PCR und Sequenzierung) evaluiert.

Gruppe 1 ^a	Positiv	Negativ	Gesamt
RESIST CTX-M			
Positiv	117	0	117
Negativ	2	29	31
Gesamt	119	29	148

^a: einschließlich CTX-M-1, 3, 15, 55, 135 und CTX-M G1 nicht sequenziert

	95 %-Konfidenzintervall ¹
Sensitivität:	98,3 % (93,6 bis 99,7 %)
Spezifität:	100 % (85,4 bis 100 %)
Positiver prädiktiver Wert:	100 % (96,0 bis 100 %)
Negativer prädiktiver Wert:	93,5 % (77,2 bis 98,9 %)
Übereinstimmung:	98,6 % (146/148)

Gruppen X ^b	Positiv	Negativ	Gesamt
RESIST CTX-M			
Positiv	26	0	26
Negativ	0	122	122
Gesamt	26	122	148

^b: Einschließlich CTX-M-8 und CTX-M-14

	95 %-Konfidenzintervall ¹
Sensitivität:	100 % (83,4 bis 100 %)
Spezifität:	100 % (96,2 bis 100 %)
Positiver prädiktiver Wert:	100 % (84,0 bis 100 %)
Negativer prädiktiver Wert:	100 % (96,2 bis 100 %)
Übereinstimmung:	100 % (148/148)

C. Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit

Zur Überprüfung der Genauigkeit innerhalb einer Charge (Wiederholpräzision) wurden jeweils die gleichen positiven Proben und eine Pufferlösung 15 Mal mit Kits aus derselben Herstellungsladung unter einheitlichen Versuchsbedingungen getestet. Alle beobachteten Ergebnisse wurden erwartungsgemäß bestätigt.

Zur Überprüfung der chargenübergreifenden Genauigkeit (Vergleichspräzision) wurden mehrere Proben (Positivproben und Puffer) mit Kits aus drei verschiedenen Herstellungsladungen getestet. Alle Ergebnisse wurden erwartungsgemäß bestätigt.

XI. GRENZEN DES KITS

Der Test ist qualitativ und ist nicht in der Lage, die in der Probe vorhandene Antigenmenge vorherzusagen. Zur Diagnosestellung müssen das klinische Bild und weitere Testergebnisse berücksichtigt werden.

Ein positives Testergebnis schließt die Möglichkeit nicht aus, dass andere Antibiotikaresistenzmechanismen vorhanden sein könnten.

XII. TECHNISCHE PROBLEME/REKLAMATIONEN

Wenn ein technisches Problem auftritt oder die Leistung nicht den Angaben in dieser Packungsbeilage entspricht:

1. Notieren Sie sich die Chargennummer des zu reklamierenden Kits.
2. Die problematische Probe wenn möglich eingefroren aufbewahren, solange die Reklamation in Bearbeitung ist.
3. Wenden Sie sich an Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) oder Ihren Vertriebspartner vor Ort.

Jedes schwerwiegende Vorkommnis im Zusammenhang mit dem Produkt ist dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient ansässig sind, zu melden.

XIII. QUELLENANGABE

- A. **Mendonça J., Guedes C., Silva C., Sá S., Oliveira M., Accioly G., Baylina P., Barata P., Pereira C., Fernandes R.** New CTX-M Group Conferring β -Lactam Resistance: A Compendium of Phylogenetic Insights from Biochemical, Molecular, and Structural Biology (Basel). 2022 Feb 7;11(2):256
- B. **Castanheira M, Simner PJ, Bradford PA.** Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. JAC Antimicrob Resist. 2021 Jul 16;3(3):1-21
- C. **Peirano G, Pitout JDD.** Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Update on Molecular Epidemiology and Treatment Options. Drugs. 2019 Sep;79(14):1529-1541
- D. **Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C.** The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. Clin Microbiol Infect. 2008 Jan;14 Suppl 1:33-41
- E. **Ghaffourian S, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z.** Extended Spectrum Beta-lactamases: Definition, Classification and Epidemiology. Curr Issues Mol Biol. 2015;17:11-21.
- F. **Paterson DL, Bonomo RA.** Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005 Oct;18(4):657-86
- G. **Bevan E.R., Jones A.M. and Hawkey P.M.** Global epidemiology of CTX-M β -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. J Antimicrob Chemother. 2017 Aug 1;72 (8):2145-2155
- H. **Zhao WH, Hu ZQ.** Epidemiology and genetics of CTX-M extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria. Crit Rev Microbiol. 2013 Feb;39(1):79-101
- I. **D'Andrea MM, Arena F, Pallecchi L, Rossolini GM.** CTX-M-type β -lactamases: a successful story of antibiotic resistance. Int J Med Microbiol. 2013 Aug;303(6-7):305-17
- J. **Newcombe, Robert G.** "Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods," *Statistics in Medicine*, 17, 857-872 (1998)

Stand der Informationen: 27. MAI 2024

REF	Bestellnummer	Hersteller
IVD	In-vitro-Diagnostikum	Temperaturbegrenzung
3	Enthält ausreichend Material für <n> Tests	LOT
i	Gebrauchsanleitung beachten	2
☂	Trocken halten	Verwendbar bis
DIL SPE	Probenverdünner	CONT NaN ₃
UDI	Unique Device Identifier	Enthält Natriumazid

RESIST CTX-M



www.corisbio.com

IFU- 58R14/FR/05



Fabricant :

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
Fabriqué en BELGIQUE

Test de diagnostic rapide *in vitro* pour la détection des β -lactamases de types CTX-M-14 et CTX-M-15 dans une culture bactérienne

À USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO

À USAGE STRICTEMENT PROFESSIONNEL

Références : K-15R14, 20 cassettes, tampon, 20 tubes et 20 pipettes de transfert

FR

I. INTRODUCTION

Les β -lactamases sont des enzymes qui désactivent les β -lactamines en scindant l'anneau β -lactame, ce qui induit une résistance à ce type d'antibiotique dans les bactéries produisant ces enzymes. Parmi les β -lactamases, celles présentant un spectre élargi (BLSE) confèrent une résistance à la plupart des bêta-lactamines, y compris les céphalosporines de troisième génération, réduisant la fenêtre thérapeutique pour le traitement des infections bactériennes. Les BLSE de la famille des CTX-M appartiennent aux β -lactamines de classe A, tout comme les enzymes TEM, SHV et les carbapénèmes de type KPC. Du fait de leur évolution et en particulier grâce à leur association avec des éléments génétiques mobiles, les enzymes de type CTX-M représentent une part importante des BLSE et sont disséminées dans de nombreuses entérobactéries, en particulier *Escherichia coli*, le genre *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, mais également dans d'autres entérobactéries telle que *Morganella* spp.

Il existe plus de 250 variants des enzymes CTX-M. Ceux-ci sont classés en 3 familles mineures et 5 familles majeures parmi lesquelles le groupe 1 (principalement représenté par le type CTX-M-15) et le groupe 9 (principalement représenté par les types CTX-M-14 et CTX-M-27) sont les principaux responsables de l'augmentation de la prévalence des BLSE dans le monde entier, au niveau des communautés ou des hôpitaux. Au contraire, le groupe des CTX-M-8 et assimilés est un très petit groupe ne comprenant que 14 membres.

Le test permettant d'identifier les CTX-M de types 14 et 15, principaux représentants des BLSE, est un outil qui permet une utilisation plus rationnelle des antibiotiques de dernier recours comme les carbapénèmes.

II. PRINCIPE DU TEST

Le test est prêt à l'emploi et repose sur une technologie à membrane avec des nanoparticules d'or colloïdal. Notre trousse est destinée à la détection des β -lactamases de type CTX-M des groupes 1 (CTX-M-15), 8 (CTX-M-8) et 9 (CTX-M-14) d'une colonie bactérienne d'entérobactéries se développant sur une plaque de gélose. Une membrane de nitrocellulose est sensibilisée avec (1) un anticorps monoclonal dirigé contre un épitope de β -lactamase du groupe 1 (CTX-M-15) et avec (2) un deuxième anticorps monoclonal dirigé contre un épitope commun de β -lactamase du groupe 8 (CTX-M-8) et du groupe 9 (CTX-M-14).

Deux conjugués différents associés à des particules d'or colloïdal sont séchés sur une membrane : un conjugué dirigé contre un deuxième épitope du β -lactamase de type CTX-M et un conjugué de contrôle pour valider des conditions du test.

Lorsque le tampon contenant les bactéries resuspendues entre en contact avec la membrane, les conjugués solubilisés migrent avec l'échantillon par diffusion passive et les mélanges conjugué/échantillon entrent en contact avec les premiers anticorps anti-CTX-M-15 qui sont absorbés par la bandelette de nitrocellulose. Si l'échantillon contient une β -lactamase de type CTX-M-15 (ou d'autres enzymes de type CTX-M du groupe 1), le complexe conjugué-CTX-M-15 reste lié à la première ligne (ligne du bas) d'anticorps anti-CTX-M-15 absorbés par la nitrocellulose (ligne G1). La migration continue par diffusion passive et les mélanges conjugué/échantillon entrent en contact avec la deuxième ligne d'anticorps anti-CTX-M-14 absorbés par la bandelette de nitrocellulose. Si l'échantillon contient une β -lactamase de type CTX-M-14 (ou d'autres enzymes de type CTX-M du groupe 9) ou une β -lactamase de type CTX-M-8, le complexe conjugué-CTX-M-14 reste lié à la deuxième ligne d'anticorps anti-CTX-M-14 absorbés par la nitrocellulose (ligne GX). Enfin, la solution continue sa migration jusqu'à la troisième ligne (ligne du haut), celle du réactif de contrôle, pour se lier au conjugué de contrôle (ligne C) et produire une ligne rouge.

Le résultat est visible dans les 15 minutes sous la forme de lignes rouges sur la bandelette.

III. RÉACTIFS ET MATÉRIELS

1. RESIST CTX-M (20)

20 sachets hermétiques contenant un dispositif et un déshydratant. Chaque dispositif contient une bandelette sensibilisée.

2. Flacon de tampon LY-E (5 ml)

Solution saline contenant du Na₂S₂O₃ (<0,1 %) et un détergent.

3. Notice d'utilisation (1)

4. Tubes de prélèvement jetables (20)

5. Pipettes de transfert jetables (20)

IV. PRÉCAUTIONS PARTICULIÈRES

- Toutes les manipulations liées à l'utilisation de ce test doivent être effectuées selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire.
- Tous les réactifs sont destinés uniquement au diagnostic *in vitro*.
- Les sachets doivent être ouverts avec précaution.
- Évitez de toucher la nitrocellulose avec les doigts.
- Portez des gants pendant la manipulation des échantillons.
- N'utilisez jamais les réactifs d'une autre trousse.
- Les lignes vertes indiquent les sites d'adsorption des immunoréactifs. La couleur verte disparaît pendant le test.
- La qualité des réactifs ne peut pas être garantie au-delà des dates d'expiration ou si les réactifs ne sont pas conservés selon les conditions requises indiquées dans la notice.

V. ÉLIMINATION DES DÉCHETS

- Éliminez les gants, les écouvillons, les tubes de prélèvement et les dispositifs usagés conformément à la législation sur les BPL.
- Chaque utilisateur est responsable du traitement des déchets générés, et doit veiller à ce qu'ils soient éliminés conformément à la législation applicable.

VI. CONSERVATION

- Le sachet non ouvert doit être conservé à une température comprise entre 4 et 30 °C, et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage. Réalisez le test immédiatement après ouverture du sachet.
- Évitez de congeler les dispositifs et le tampon.

VII. GESTION ET PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons à tester doivent être obtenus et manipulés selon des méthodes microbiologiques standard.

Veillez à ce que les échantillons ne soient pas traités avec des solutions contenant du formaldéhyde ou ses dérivés.

Les milieux de culture testés et validés avec les trousse RESIST de Coris BioConcept sont répertoriés sur le site Web : <https://www.corisbio.com/products/oknvi-resis-5/faq>

VIII. PROCÉDURE

PRÉPARATION DU TEST :

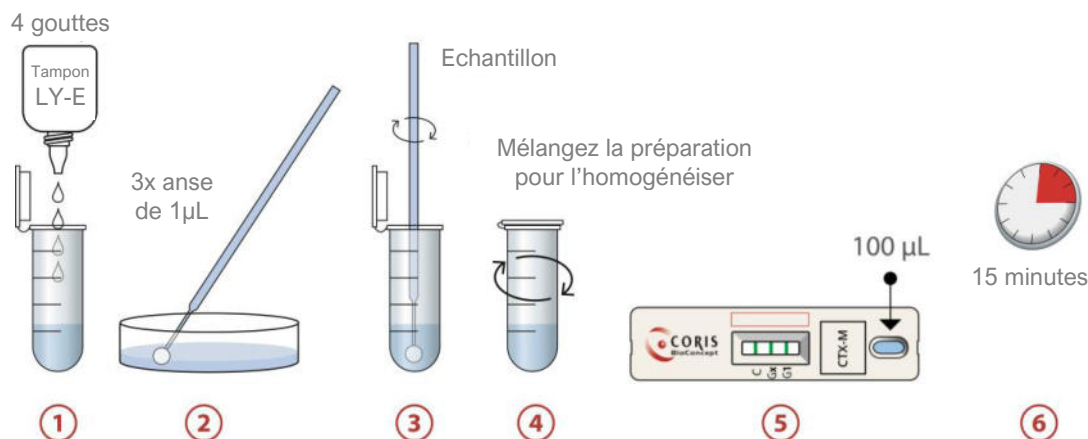
Laissez les composants de la trousse dans leur emballage fermé, et les échantillons (si la plaque contenant les colonies à tester a été conservée à 4 °C) atteindre la température ambiante (15-30 °C) avant de réaliser un test.

Ouvrez le sachet et retirez le dispositif. Réalisez le test immédiatement après ouverture. Indiquez le nom du patient ou le numéro de l'échantillon sur le dispositif (un dispositif par échantillon).

PROCÉDURE DE PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON :

Aucune déclaration de performances d'échantillons autres que les colonies bactériennes n'a été établie. Nous recommandons d'utiliser des colonies bactériennes fraîches pour optimiser les performances du test.

1. Préparez un tube de prélèvement et ajoutez 4 gouttes de tampon LY-E dans le tube.
2. Récoltez les bactéries en prenant 3 colonies (équivalent à 3 anses d'un volume de 1 μ L) avec une anse d'inoculation jetable et plongez-la dans le fond du tube contenant le tampon.
3. Agitez soigneusement avant de retirer l'anse.
4. Fermez le tube et mélangez la préparation pour l'homogénéiser.
5. Utilisez la pipette de transfert fournie dans la trousse et ajoutez 100 μ L d'échantillon dilué dans le puits destiné à l'échantillon sur la cassette (l'échantillon dilué doit atteindre la ligne noire présente sur la pipette de transfert pour aspirer avec précision 100 μ L).
6. Laissez réagir pendant 15 minutes et lisez le résultat.

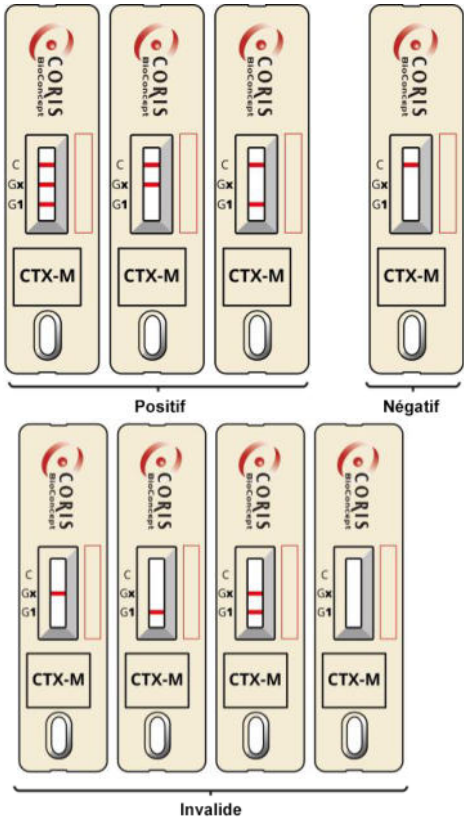


Les résultats positifs peuvent être consignés dès que les lignes de test et de contrôle apparaissent.

Ne tenez pas compte des nouvelles lignes de faible intensité qui s'affichent une fois le temps de réaction écoulé.

Le résultat doit toujours être lu avec une bandelette humide.

IX. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS



Les résultats doivent être interprétés de la façon suivante :

Résultat du test négatif : une ligne rouge-violet apparaît dans la fenêtre de lecture à l'emplacement de la ligne de contrôle (C). Aucune autre ligne n'apparaît.

Résultat du test positif : outre la ligne rouge-violet à l'emplacement de la ligne de contrôle (C), une ligne rouge-violet visible apparaît à l'emplacement de l'une des lignes de test (« G1 » ou « GX »). L'intensité de la ligne de test dépend de la quantité d'antigènes ainsi que du type de variant présent dans l'échantillon. Toute ligne de test rouge-violet (« G1 » ou « GX »), même de faible intensité, doit être considérée comme un résultat positif.

Si la seule ligne de test positive est la ligne GX, l'échantillon contient une β -lactamase de type CTX-M-14 ou d'autres enzymes de type CTX-M du groupe 9 ou du groupe 8. Si la seule ligne de test positive est la ligne G1, l'échantillon contient une β -lactamase de type CTX-M-15 ou d'autres enzymes de type CTX-M du groupe 1.

Résultat du test invalide : L'absence de ligne de contrôle indique un échec de la procédure de test. Si le résultat est invalide, renouvelez le test en utilisant un nouveau dispositif.

Remarque : pendant le processus de séchage, une ombre très légère peut apparaître au niveau des lignes de test. Cela ne doit pas être considéré comme un résultat positif.

X. PERFORMANCES

A. Limite de détection

La limite de détection déterminée avec les protéines recombinantes purifiées de CTX-M-14 et CTX-M-15 a été évaluée respectivement à 3,14 ng/ml et 3,7 ng/ml.

B. Validation du prélèvement des souches de référence

Le test RESIST CTX-M a été évalué à partir du prélèvement de 148 isolats cliniques avec des mécanismes de résistance aux antibiotiques bêta-lactamines parfaitement caractérisés par une approche moléculaire (PCR multiplex et séquençage en interne).

RESIST CTX-M	Groupe 1 ^a	Positif	Négatif	Total
Positif		117	0	117
Négatif		2	29	31
Total		119	29	148

^a: Y compris CTX-M-1, 3, 15, 55, 135 et CTX-M G1 non séquencés

Intervalle de confiance de 95 %¹

Sensibilité :	98,3 %	(entre 93,6 et 99,7 %)
Spécificité :	100 %	(entre 85,4 et 100 %)
Valeur prédictive positive :	100 %	(entre 96,0 et 100 %)
Valeur prédictive négative :	93,5 %	(entre 77,2 et 98,9 %)
Concordance :	98,6 %	(146/148)

Groupe X ^b	Positif	Négatif	Total
RESIST CTX-M			
Positif	26	0	26
Négatif	0	122	122
Total	26	122	148

^b : Y compris CTX-M-8 et CTX-M-14

Intervalle de confiance de 95 %¹

Sensibilité :	100 %	(entre 83,4 et 100 %)
Spécificité :	100 %	(entre 96,2 et 100 %)
Valeur prédictive positive :	100 %	(entre 84,0 et 100 %)
Valeur prédictive négative :	100 %	(entre 96,2 et 100 %)
Concordance :	100 %	(148/148)

C. Répétabilité et reproductibilité

Pour vérifier la précision intra-lot (répétabilité), les mêmes échantillons positifs et une solution tampon ont été analysés 15 fois sur les trousses issues du même lot de production dans les mêmes conditions expérimentales. Tous les résultats observés ont été confirmés comme prévu.

Pour vérifier la précision inter-lots (reproductibilité), certains échantillons (positifs et tampon) ont été analysés sur des trousses issues de trois lots de production différents. Tous les résultats ont été confirmés comme prévu.

XI. LIMITES DE LA TROUSSE

Le test est qualitatif et ne permet pas d'estimer la quantité d'antigènes présents dans l'échantillon. La présentation clinique et les autres résultats du test doivent être pris en compte pour établir un diagnostic.

Un test positif n'exclut la présence possible d'autres mécanismes de résistance aux antibiotiques.

XII. PROBLEMES TECHNIQUES/RECLAMATIONS

Si vous rencontrez un problème technique ou si les performances ne correspondent pas à celles indiquées dans cette notice :

1. Notez le numéro de lot de la trousse concernée.
2. Si possible, conservez l'échantillon dans des conditions de stockage appropriées en attendant le traitement de la plainte.
3. Contactez Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) ou votre distributeur local.

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

XIII. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A. Mendonça J., Guedes C., Silva C., Sá S., Oliveira M., Accioly G., Baylina P., Barata P., Pereira C., Fernandes R. New CTX-M Group Conferring β -Lactam Resistance: A Compendium of Phylogenetic Insights from Biochemical, Molecular, and Structural Biology Biology (Basel). 2022 Feb 7;11(2):256
- B. Castanheira M, Simmer PJ, Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. JAC Antimicrob Resist. 16 juillet 2021 ; 3(3):1-21
- C. Peirano G, Pitout JDD. Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Update on Molecular Epidemiology and Treatment Options. Drugs. Sept 2019 ; 79(14):1529-1541
- D. Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases. Clin Microbiol Infect. Janv 2008 ; 14 Suppl 1:33-41
- E. Ghafourian S, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z. Extended Spectrum Beta-lactamases: Definition, Classification and Epidemiology. Curr Issues Mol Biol. 2015 ; 17 :11-21.
- F. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. oct 2005 ; 18(4):657-86
- G. Bevan E.R., Jones A.M. and Hawkey P.M. Global epidemiology of CTX-M β -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. J Antimicrob Chemother. 1er août 2017 ; 72 (8):2145-2155.
- H. Zhao WH, Hu ZQ. Epidemiology and genetics of CTX-M extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria. Crit Rev Microbiol. Fév 2013 ; 39(1):79-101.
- I. D'Andrea MM, Arena F, Pallecchi L, Rossolini GM. CTX-M-type β -lactamases: a successful story of antibiotic resistance. Int J Med Microbiol. Août 2013 ; 303(6-7):305-17
- J. Newcombe, Robert G. "Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods," *Statistics in Medicine*, 17, 857-872 (1998)

Dernière mise à jour : 27 MAI 2024

REF	Numéro du catalogue		Fabricant
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro		Limites de température
	Contenu suffisant pour <n> tests	LOT	Code du lot
	Lire la notice d'utilisation		Ne pas réutiliser
	Conserver au sec		Date de péremption
DIL SPE	Échantillon de diluant	CONT Na ₂ S ₂ O ₃	Contient de l'azoture de sodium
UDI	Identifiant unique des dispositifs		

RESIST CTX-M



www.corisbio.com

IFU- 58R14/EN/05

Manufacturer:

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
Produced in BELGIUM

In vitro rapid diagnostic test for the detection of CTX-M-14 and CTX-M-15 β -lactamases in bacterial culture

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE
FOR PROFESSIONAL USE ONLY

EN

References: K-15R14, 20 cassettes, buffer, 20 tubes and 20 transfer pipets

(EN) For Instructions For Use in your language : (FR) Pour obtenir les notices dans la langue de votre choix : (ES) Para las instrucciones de uso en su idioma : (PT) Para Instruções de Uso na sua língua : (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 :	website: ifu.corisbio.com key-code: COR58R14
	(EU) +800 135 79 135 (non-EU) +31 20 794 7071 (CA) +1 855 805 8539 (AR, CO, UY, AU, NZ) +800 135 79 135

I. INTRODUCTION

β -lactamases are enzymes that inactivate β -lactams by cleaving the β -lactam ring, thereby inducing resistance to this type of antibiotic in bacteria producing these enzymes. Among the β -lactamases, those with an extended spectrum (ESBL) confer resistance to most beta-lactams, including 3rd generation cephalosporins, reducing the therapeutic window for the treatment of bacterial infections. The ESBLs of the CTX-M family belong to class A of β -lactamases, just like the enzymes TEM, SHV and the KPC type carbapenemases. Due to their evolution and particularly thanks to their association with mobile genetic elements, CTX-M enzymes represent an important part of ESBLs and are disseminated in many Enterobacteriaceae, in particular *Escherichia coli*, the genera *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, but also in other Enterobacteriaceae like *Morganella* spp.

There are over 250 variants of CTX-M described. They are classified into 3 minor and 5 major families among which group 1 (whose major representative is CTX-M-15) and group 9 (whose major representatives are CTX-M-14 and CTX-M-27) are the main responsible for the increase of ESBLs prevalence worldwide, whether in community or hospital settings. In contrast, the CTX-M-8-like cluster is a very small group of only 14 members.

Test for identification of CTX-M which represent the major ESBL part is a tool allowing a more rational use of last resort antibiotics such as carbapenems.

II. PRINCIPLE OF THE TEST

This test is ready to use and is based on a membrane technology with colloidal gold nanoparticles. Our kit is aimed at the detection of the group 1 (CTX-M-15-like), the group 8 (CTX-M-8-like) and the group 9 (CTX-M-14-like) CTX-M-type β -lactamases from a bacterial colony of Enterobacteriaceae growing on agar plate.

A nitrocellulose membrane is sensitized with (1) a monoclonal antibody directed against one epitope of the group 1 (CTX-M-15) β -lactamase and with (2) a second monoclonal antibody directed against a common epitope of group 8 (CTX-M-8-like) and group 9 (CTX-M-14-like) β -lactamases.

There are two different conjugates coupled to colloidal gold particles which are dried on a membrane: a conjugate directed against a second epitope of the CTX-M β -lactamase and a control conjugate to validate the test conditions.

When the provided buffer containing the resuspended bacteria comes into contact with the membrane, the solubilised conjugates migrate with the sample by passive diffusion and both conjugates and sample material come into contact with the first anti-CTX-M-15 antibody that it is adsorbed onto the nitrocellulose strip. If the sample contains a CTX-M-15 β -lactamase (or other CTX-M enzymes from group 1), the conjugate-CTX-M-15 complex will remain bound to the first (bottom) line anti-CTX-M-15 antibody adsorbed onto the nitrocellulose (line G1). The migration continues by passive diffusion and both conjugates and sample material come into contact with the second anti-CTX-M antibody line that is adsorbed onto the nitrocellulose strip. If the sample contains a

CTX-M-14 β -lactamase (or other CTX-M enzymes from group 9) or a CTX-M-8 β -lactamase, the conjugate-CTX-M complex will remain bound to the second line anti-CTX-M antibody adsorbed onto the nitrocellulose (line GX).

Finally, the solution continues to migrate to reach a third (upper) line control reagent that binds a control conjugate (line C), thereby producing a red line.

The result is visible within 15 minutes in the form of red lines on the strip.

III. REAGENTS AND MATERIALS

1. RESIST CTX-M (20)

20 sealed pouches containing one device and one desiccant. Each device contains one sensitized strip.

2. LY-E buffer vial (5 mL)

Saline solution containing Na₃N (<0,1%) and a detergent.

3. Instruction for use (1)

4. Disposable collection tubes (20)

5. Disposable transfer pipettes (20)

IV. SPECIAL PRECAUTIONS

- All operations linked to the use of the test must be performed in accordance with good laboratory practices.

- All reagents are for *in vitro* diagnostic use only.

- Pouch must be opened with care:

- Avoid touching nitrocellulose with your fingers.

- Wear gloves when handling samples.

- Never use reagents from another kit.

- Green lines indicate immunoreagents adsorption sites. Green colour disappears during the test.

- Reagents' quality cannot be guaranteed beyond their shelf-life dates or if reagents are not stored under required conditions as indicated in the insert.

V. WASTE DISPOSAL

- Dispose of gloves, swabs, test tubes and used devices in accordance with good laboratory practices.

- Each user is responsible for the management of any waste produced, and must ensure that it is disposed of in accordance with the applicable legislation.

VI. STORAGE

- An unopened pouch may be kept at between 4 and 30°C and used until the shelf-life date indicated on the packaging. Once the pouch is opened, perform the test immediately.

- Avoid freezing devices and buffer.

VII. SPECIMEN HANDLING AND COLLECTION

Specimens to be tested should be obtained and handled by standard microbiological methods.

Make sure that the specimens are not treated with solutions containing formaldehyde or its derivatives.

Culture media tested and validated with Coris BioConcept RESIT kits are listed on the website: <https://www.corisbio.com/faq/resist-ctx-m>

VIII. PROCEDURE

PREPARATIONS OF THE TEST:

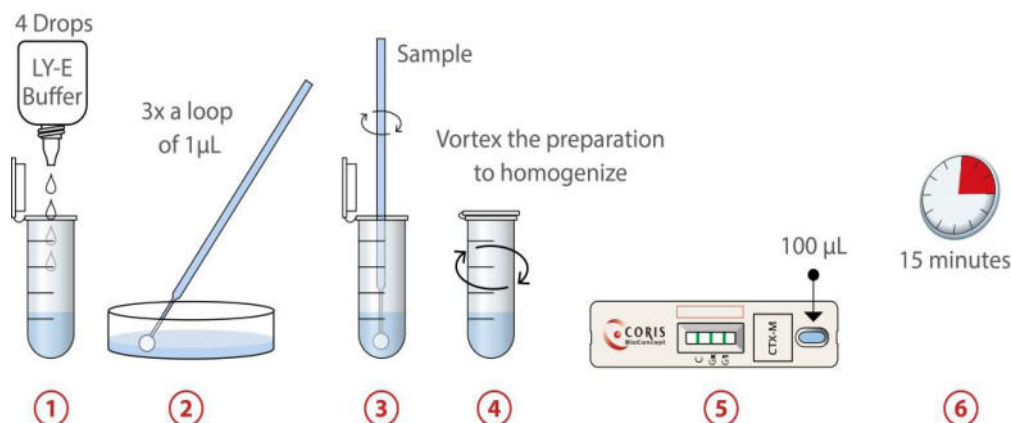
Allow kit components, in unopened packaging, and specimens (in case the plate containing colonies to be tested was kept at 4°C) to reach room temperature (15-30°C) before performing a test.

Open the pouch and remove the device. Once opened, perform the test immediately. Indicate the patient's name or specimen number on the device (one device per sample).

SPECIMEN PREPARATION PROCEDURE:

Performance claims with regard to samples types other than bacterial colonies have not been established. We recommend the use of fresh bacterial colonies for optimal test performance.

1. Prepare one collection tube and add 4 drops of LY-E buffer in the tube.
2. Harvest bacteria by taking 3 colonies (equivalent to 3 loops of 1- μ L capacity) with a disposable bacteriological loop and dip the loop in the bottom of the collection tube containing the buffer.
3. Stir thoroughly before removing the loop
4. Close the tube and vortex the preparation to homogenize.
5. Use the transfer pipette provided in the kit and add 100 μ L of diluted sample into the sample well of the cassette (diluted sample must reach the black line indicated on the transfer pipette to accurately aspirate 100 μ L).
6. Allow to react for 15 minutes and read the result.



Positive results may be reported sooner the moment the test and control lines become visible.

Do not take the appearance of new lines into account after the reaction time is passed.

The result must be read on still wet strip.

Negative predictive value: 93.5 % (77.2 to 98.9 %)
Agreement: 98.6 % (146/148)

RESIST CTX-M	Groups X ^b	Positive	Negative	Total
Positive		26	0	26
Negative		0	122	122
Total		26	122	148

^b: Including CTX-M-8 and CTX-M-14

95 % Confidence Interval¹
Sensitivity: 100 % (83.4 to 100 %)
Specificity: 100 % (96.2 to 100 %)
Positive Predictive value: 100 % (84.0 to 100 %)
Negative predictive value: 100 % (96.2 to 100 %)
Agreement: 100 % (148/148)

C. Repeatability and reproducibility

To check intra-batch accuracy (repeatability), the same positive samples and a buffer solution were processed 15 times on kits of the same production batch in the same experimental conditions. All observed results were confirmed as expected. To check inter-batch accuracy (reproducibility), some samples (positive and buffer) were processed on kits from three different production batches. All results were confirmed as expected.

XI. LIMITS OF THE KIT

The test is qualitative and cannot predict the quantity of antigens present in the sample. Clinical presentation and other test results must be taken into consideration to establish diagnosis.

A positive test does not rule out the possibility that other antibiotic resistance mechanisms may be present.

XII. TECHNICAL PROBLEMS / COMPLAINTS

If you face a technical problem or if performances do not correspond with those indicated in this package insert:

1. Record the lot number of the kit concerned.
 2. If possible, keep the sample in the appropriate storage condition during the complaint management.
 3. Contact Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) or your local distributor.
- Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

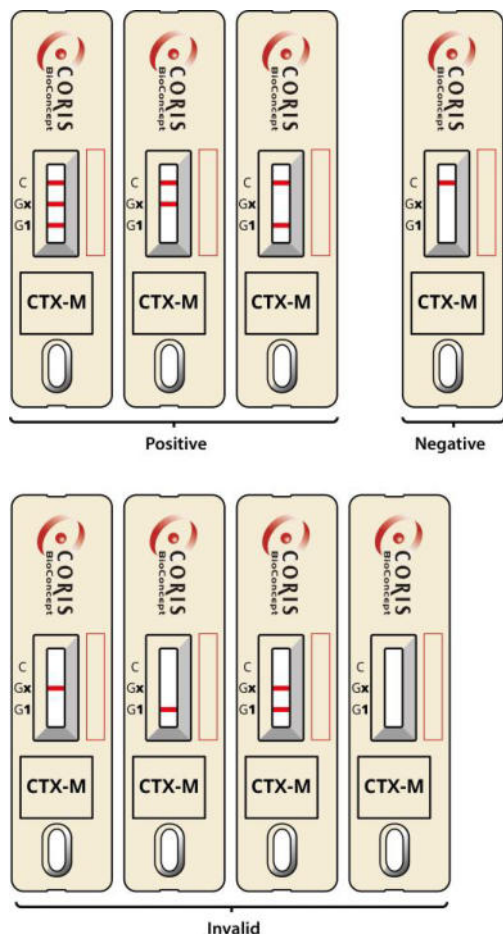
XIII. BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- A. **Mendonça J., Guedes C., Silva C., Sá S., Oliveira M., Accioli G., Baylina P., Barata P., Pereira C., Fernandes R.** New CTX-M Group Conferring β -Lactam Resistance: A Compendium of Phylogenetic Insights from Biochemical, Molecular, and Structural Biology (Basel). 2022 Feb 7;11(2):256
- B. **Castanheira M, Simmer PJ, Bradford PA.** Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. JAC Antimicrob Resist. 2021 Jul 16;3(3):1-21
- C. **Peirano G, Pitout JDD.** Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Update on Molecular Epidemiology and Treatment Options. Drugs. 2019 Sep;79(14):1529-1541
- D. **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
- E. **Ghafourian S, Sadeghifard N, Soheili S, Sekawi Z.** Extended Spectrum Beta-lactamases: Definition, Classification and Epidemiology. Curr Issues Mol Biol. 2015;17:11-21.
- F. **Paterson DL, Bonomo RA.** Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005 Oct;18(4):657-86
- G. **Bevan E.R., Jones A.M. and Hawkey P.M.** Global epidemiology of CTX-M β -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. J Antimicrob Chemother. 2017 Aug 1;72 (8):2145-2155.
- H. **Zhao WH, Hu ZQ.** Epidemiology and genetics of CTX-M extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria. Crit Rev Microbiol. 2013 Feb;39(1):79-101.
- I. **D'Andrea MM, Arena F, Pallecchi L, Rossolini GM.** CTX-M-type β -lactamases: a successful story of antibiotic resistance. Int J Med Microbiol. 2013 Aug;303(6-7):305-17
- J. **Newcombe, Robert G.** "Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods," *Statistics in Medicine*, 17, 857-872 (1998)

Last update : 27 MAY 2024

REF	Catalogue number		Manufacturer
IVD	In vitro diagnostic medical device		Temperature limits
	Contains sufficient for <n> tests	LOT	Batch code
	Consult instructions for use		Do not reuse
	Keep dry		Use by
DIL SPE	Diluent specimen	CONT NaN₃	Contains Sodium azide
UDI	Unique device identifier		

IX. INTERPRETING RESULTS



The results are to be interpreted as follows:

Negative test result: a reddish-purple line appears across the central reading window at the Control line (C) position. No other band is present.

Positive test result: in addition to a reddish-purple band at the Control line (C), a visible reddish-purple band appears at one of the Test line position ("G1" or "GX"). Intensity of the test line may vary according to the quantity of antigens as well as of the variant type present in the sample. Any reddish-purple Test line ("G1" or "GX"), even weak, should be considered as a positive result.

If only the positive test line is line GX, the sample contains CTX-M-14 β -lactamase or another CTX-M enzymes from group 9 or from group 8. If only the positive test line is line G1, the sample contains CTX-M-15 β -lactamase or another CTX-M enzymes from group 1.

Invalid test result: The absence of a Control line indicates a failure in the test procedure. Repeat invalid tests with a new test device.

Note: during the drying process, a very faint shadow may appear at the Test line positions. It should not be regarded as a positive result.

X. PERFORMANCE

A. Detection Limit

The detection limit determined with purified recombinant proteins of CTX-M-14 and CTX-M-15 have been evaluated at 3.14 ng/ml and 3.7 ng/ml respectively.

B. Validation on collection of reference strains

RESIST CTX-M test was evaluated on a collection of 148 clinical isolates with fully characterized beta-lactam antibiotic resistance mechanisms by a molecular approach (in house multiplex PCR and sequencing).

RESIST CTX-M	Group 1 ^a	Positive	Negative	Total
Positive		117	0	117
Negative		2	29	31
Total		119	29	148

^a:including CTX-M-1, 3, 15, 55, 135 and CTX-M G1 not sequenced

95 % Confidence Interval¹
Sensitivity: 98.3 % (93.6 to 99.7 %)
Specificity: 100 % (85.4 to 100 %)
Positive Predictive value: 100 % (96.0 to 100 %)