NÁVOD K POUŽITÍ
MM GRAM NEG RES

CS

Ed. Rev. 1.6 2024-05-23

REF SI 1701.0101, SI 1701.0101/L IVD

20 testů

CE

OBVYKLÉ POUŽITÍ

MM GRAM NEG RES je kvalitativní in vitro diagnostický test určený pro profesionální uživatele v klinických laboratořích k multiplexní identifikaci sekvencí nukleových kyselin, o nichž je známo, že jsou spojeny s rezistencí gram-negativních bakterií na beta-laktamová antibiotika (Carba/ESBL/AmpC) a kolistin. Test se provádí ze vzorku pozitivní hemokultury. Kazeta MM GRAM NEG RES obsahuje všechna potřebná činidla k provedení jednoho testu prostřednictvím multiplexní analýzy RT PCR v kombinaci se systémem MOLECULAR MOUSE SYSTEM.

MM GRAM NEG RES analyzuje následující targety: KPC, VIM, NDM, IMP, OXA-23-like, OXA-48-like, SHV, SHV ESBL, CTX-M-1/9 groups, CTX-M-2/8 groups, CMY-2, mcr-1, mcr-2. Negativní výsledek nevylučuje přítomnost jiných mechanismů rezistence.

MM GRAM NEG RES reportuje výsledek podporující diagnózu infekce krve způsobenou gram-negativními mikroorganismy.

Test MM GRAM NEG RES je určen pro kombinované použití s dalšími klinickými a analytickými výsledky v rámci diagnostického hodnocení definovaného a upraveného každou konkrétní laboratoří. MM GRAM NEG RES nenahrazuje tradiční metody založené na testování citlivosti na antibiotika. Výsledek nevylučuje kombinovanou přítomnost jiných targetů než těch, které jsou uvedeny v seznamu identifikovatelných targetů, pro jejichž identifikaci jsou nezbytné další nezávislé testy.

PRINCIP METODY

Kazeta MM GRAM NEG RES je určena výhradně pro použití se systémem MOLECULAR MOUSE SYSTEM (SI 1701.100/I), který umožňuje amplifikaci a detekci specifické nukleové kyseliny pomocí multiplexní polymerázové řetězové reakce v reálném čase (PCR). MOLECULAR MOUSE SYSTEM se skládá z přístroje fungujícího jako termocykler a softwaru již nainstalovaného v počítači, který slouží k provádění testů a sledování výsledků. Pro analýzu je nutné použít jednorázovou kazetu, která obsahuje PCR činidla ve formě lyofilizátu. Specifikace pro provádění testu (včetně seznamu targetů a kritérií pro správu údajů) jsou uvedeny v MM GRAM NEG RES cartridge file. Systém generuje, analyzuje, ukládá a sleduje informace o výsledcích a celý proces trvá přibližně 1 hodinu. Cílem testu je identifikovat specifické sekvence nukleových kyselin, o nichž je známo, že jsou spojeny s rezistencí gram-negativních bakterií na beta-laktamová léčiva (Carba/ESBL/AmpC) a kolistin v pozitivní hemokultuře. Jedna testovací kazeta umožňuje analýzu jednoho vzorku.

Úplný popis systému naleznete v uživatelské příručce MOLECULAR MOUSE SYSTEM.

POPIS VÝROBKU A SLOŽENÍ

K detekci a identifikaci specifických bakteriálních a plísňových nukleových kyselin u osob, které vykazují příznaky a/nebo symptomy infekce krevního řečiště, lze použít kazety MOLECULAR MOUSE SEPSIS panel.

Výběr nejvhodnější kazety se řídí výsledkem mikroskopie (barvení dle Grama) vzorku pozitivní hemokultury. Pozitivní hemokulturu obsahující gram-negativní bakterie lze testovat pomocí MM GRAM NEG RES.

Aby bylo vyšetřování kompletní, lze kromě toho v případě potřeby použít další kazetu (MM GRAM NEG ID, SI 1701.0102 nebo SI 1701.0102/L) k identifikaci druhu gram-negativních bakterií nesoucích geny rezistence.

K dispozici jsou dvě různé konfigurace:

SI 1701.0101:

- 20 jednorázových MM GRAM NEG RES kazet (Ref. G1701.0101) pro analýzu 20 vzorků. Každá kazeta obsahuje všechna potřebná reakční činidla v lyofilizované formě včetně primeru a oligonukleotidových sond, signální amplifikační činidla a kontroly reakce (negativní kontrola a pozitivní kontrola) potřebných pro analýzu jednoho vzorku v jednom běhu pro vygenerování výsledku testu.

  Poznámka: kazety není možno prodávat individuálně.

- MM GRAM NEG RES cartridge file obsahující specifikaci testu– již instalován v MOLECULAR MOUSE softwaru dle MOLECULAR MOUSE SYSTEM uživatelské příručky.

- 80 ks štítků pro lepší dohledatelnost vzorku při jeho zpracování a testování.

SI 1701.0101/L:

- 20 x jednorázových MM GRAM NEG RES kazet (Ref. G1701.0101) pro analýzu 20 vzorků. Každá kazeta obsahuje všechna potřebná reakční činidla v lyofilizované formě včetně primeru a oligonukleotidových sond, signální amplifikační činidla a kontroly reakce (negativní kontrola a pozitivní kontrola) potřebných pro analýzu jednoho vzorku v jednom běhu pro vygenerování výsledku testu.

  Poznámka: kazety není možno prodávat individuálně.

- 20 x Loading solution pro jednotlivé použití (Ref. G1701.L01). Vzhledem k různým vlastnostem klinických pozitivních hemokultur je k dispozici roztok “Loading solution” určený pro zpracování vzorků, který se doporučuje použít v posledním kroku zpracování vzorku kvůli optimalizaci reakce.

- MM GRAM NEG RES cartridge file obsahující specifikaci testu – již instalován v MOLECULAR MOUSE softwaru dle MOLECULAR MOUSE SYSTEM uživatelské příručky.

- 60 ks štítků pro lepší dohledatelnost vzorku při jeho zpracování a testování.

ALIFAX S.r.l.
Via Merano,30 – 33045 Nimis (UD) – Italy
VAT number IT04337640280
www.alifax.com

© Copyright 2024.This document is exclusive property of ALIFAX S.r.l, confidential and not freely disclosable. All rights reserved

DIPGT01201 Ed. 1
rev. 1

NÁVOD K POUŽITÍ
MM GRAM NEG RES

Ed. Rev. 1.6 2024-05-23

POTŘEBNÝ, ALE NEDODÁVANÝ MATERIÁL A PŘÍSTROJE

Kompatibilita

MM GRAM NEG RES kazeta je kompatibilní se vzorky pozitivních hemokultur odebraných z kultivačních nádobek BD BACTEC Plus Aerobic/F, BD BACTEC Anaerobic/F, BD BACTEC Peds Plus/F, bioMerieux BACT/ALERT FA Plus, bioMerieux BACT/ALERT FN Plus, bioMerieux BACT/ALERT PF Plus.

MM GRAM NEG RES kazety jsou kompatibilní se systémem MOLECULAR MOUSE a nainstalovaným softwarem verze 1.7.0 nebo vyšší.

Přístroje

- MOLECULAR MOUSE SYSTEM (Ref. SI 1701.100/I) obsahující MOLECULAR MOUSE přístroj a v počítači nainstalovaný software
- MOLECULAR MOUSE přístroj (Ref. SI 1701.900/I)
- Vortex
- Mikrocentrifuga

Spotřební materiál

- Mikropipety a špičky (10 µl, 200 µl a 1000 µl) pro molekulární biologii (DNA, nuclease free)
- 1,5 ml mikrozkumavky pro centrifugaci v molekulární biologii
- Voda molekulárně biologické kvality
- Jednorázové rukavice
- Osobní ochranné prostředky (OOP)

SKLADOVÁNÍ A ŽIVOTNOST VÝROBKU

Výrobek MM GRAM NEG RES (SI 1701.0101, SI1701.0101/L) uchovávejte při 2-8°C.
MM GRAM NEG RES (SI 1701.0101, SI1701.0101/L) se transportuje při 2-25°C.

Každá kazeta je vakuově balena v modifikované atmosféře. Kazeta nesmí být zmražená. Datum spotřeby je vytištěno na všech štítcích produktu.

Pracovní podmínky výrobku jsou pokojová teplota (15-25 °C, vlhkost vzduchu nižší než 60 %).

Před použitím vyjměte kazetu z chladničky a ponechte ji 30 minut při pokojové teplotě v jejím původním jednorázovém obalu. Obal otevřete těsně před použitím; kazetu použijte do 30 minut od otevření obalu.

Kazetu uchovávejte na místě chráněném před přímým světlem a teplem.

Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti.

ODBĚR VZORKU, MANIPULACE A SKLADOVÁNÍ

Výrobek MM GRAM NEG RES musí být použitý pro testování gram-negativních bakterií z pozitivních hemokultur. Materiál pro odběr a transport vzorku není součástí dodávky tohoto výrobku. Pozitivní hemokultury musí být skladovány při pokojové teplotě (15 °C-25 °C) a zpracovány do 1 dne od chvíle zjištění pozitivity. Zpracovaný vzorek může být uchováván při teplotě -20 °C nebo nižší po dobu maximálně 7 dnů.

V případě potřeby skladování pelet, než přistoupíte k resuspenzi (viz kapitola Příprava vzorku), uchovávejte je max. 7 dnů -20°C.

Objem vzorku: 200 µl pozitivní hemokultury obsahující gram-negativní bakterie, zpracované podle pokynů v kapitole "Příprava vzorku".

Celkem 30 µl zpracovaného vzorku musí být rozděleno do šesti jamek kazety MM GRAM NEG RES (5 µl do každé jamky), což umožňuje analýzu 1 vzorku v jednom cyklu s jednou kazetou.

Doba analýzy: přibližně 1 hodina.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Návod k použití a uživatelskou příručku MOLECULAR MOUSE SYSTEM (SI 1701.100/I) je třeba si před použitím přečíst v plném rozsahu, abyste se seznámili s pracovními postupy, příkazy a bezpečnostními opatřeními pro správné a bezpečné používání.
- V případě chybějících nebo poškozených částí zařízení se před použitím obraťte na výrobce.
- Uživatel pracující s MM GRAM NEG RES musí důsledně dodržovat pokyny uvedené v návodu k použití. Výrobce neodpovídá za nesprávné použití výrobku: v případě nesprávného použití není zajištěna funkčnost, výkon a bezpečnost výrobku. Pokud je výrobek používán způsobem, který výrobce neurčil, může dojít k narušení ochrany poskytované výrobkem.
- Návod k použití musí být zachován, úplný a čitelný ve všech svých částech a měl by být uživateli při používání zařízení kdykoli přístupný. Před použitím zkontrolujte, zda jsou splněny všechny bezpečnostní požadavky uvedené v návodu k použití.
- Neodstraňujte z kazety žádný štítek. Štítky musí být vždy čitelné. Dbejte na to, aby bylo označení kompletní a nepoškozené.
- Neotevírejte uzavřený obal ani posuvné sklíčko kazety dříve, než jste připraveni provést test. Kazetu použijte do 30 minut od otevření originálního obalu.
- Dbejte na to, aby byl originální obal úplný a nepoškozený.
- Ujistěte se, že použití výrobku je v interiéru.
- Kazeta musí být chráněna před světlem a skladována ve tmě. Fluorescenční barviva obsažená v lyofilizovaném koláči jsou citlivá na světlo. Dlouhodobé vystavení světlu může ovlivnit fluorescenční signál, a tím i výsledek testu.
- Nepoužívejte kazetu po uplynutí doby použitelnosti, která je uvedena na jeho originálním obalu.
- Nedotýkejte se vnitřních prvků ani dna kazety. Jakékoli poškození dna a vnitřní části může nenávratně ovlivnit funkčnost kazet.
- S kazetou netřepejte.
- Nepoužívejte kazety, které jste upustili.
- NEPOKOUŠEJTE se otevírat kryt přístroje ručně, jinak může dojít k mechanickému poškození. Kryt je motorizovaný, proto se musí otevírat/zavírat pouze prostřednictvím softwarového rozhraní, pokud je připojeno k softwaru, nebo prostřednictvím dotykového tlačítka přístroje, pokud není připojeno k softwaru.
- Otevírání krytu přístroje je deaktivováno, pokud probíhá analýza. Nepokoušejte se v průběhu analýzy otevírat kryt přístroje ručně.
- Používání kazet je kompatibilní pouze s přístrojem a softwarem MOLECULAR MOUSE, který obsahuje uživatelské rozhraní navržené tak, aby minimalizovalo chyby při používání a v případě chyb zabránilo vydání výsledku testu. Software zobrazuje

ALIFAX S.r.l.
Via Merano,30 – 33045 Nimis (UD) – Italy
VAT number IT04337640280
www.alifax.com

© Copyright 2024.This document is exclusive property of ALIFAX S.r.l, confidential and not freely disclosable. All rights reserved

DIPGT01201 Ed. 1
rev. 1

varování v případě nekompatibilních/neplatných, prošlých, poškozených a již použitých kazet.
- S výrobkem je třeba zacházet opatrně, vyvarovat se požití, vdechnutí, kontaktu s očima, kůží a oděvem.
- Dbejte na to, aby se na kazetu nevylily žádné kapaliny nebo látky.
- Dbejte na to, abyste kazetu používali pouze s vyhrazeným příslušenstvím/zařízením.
- Před zahájením testu se ujistěte, že je do softwaru MOLECULAR MOUSE nahrán konkrétní cartridge file.
- Umístěte zařízení do správné polohy a vyhněte se zdrojům tepla/přímého slunce, zdrojům vibrací a elektromagnetickým zdrojům, aby byla zajištěna správná funkce.
- Zajistěte, aby byl na stole dostatečný volný prostor pro přístroj, aby byla zajištěna jeho správná funkce.
- Dbejte na správné a opatrné vložení kazety do přístroje a nenechávejte nic, co by mohlo bránit uzavření víka přístroje.
- Dodržujte doporučené podmínky prostředí pro použití kazety. Po otevření uzavřeného obalu se může lyofilizovaná kazeta znovu hydratovat při vlhkosti > 60 %. Při vkládání kazety do přístroje musí mít kazeta pokojovou teplotu. Vložení kazety při jiné než pokojové teplotě může ovlivnit kalibraci kazety a výsledky testu.
- Pro přípravu vzorků a pro cyklování používejte oddělené čisté prostory. Používejte pouze činidla, která neobsahují látky rušící PCR, nukleové kyseliny a nukleázy.
- Při manipulaci s kazetou a vzorkem pracujte v čistém prostoru bez kontaminantů, interferujících látek, nukleových kyselin a nukleáz.
- Používejte špičky a zkumavky bez nukleáz a nukleových kyselin. Pro přípravu a vkládání vzorku(ů) používejte kalibrované mikropipety a špičky pro mikropipety s filtry.
- Ujistěte se, že byly provedeny všechny kontroly nezbytné pro správnou funkci zařízení.
- Neprovádějte analýzu v případě, že je vzorek hemokultury v rozbité, poškozené nebo netěsné lahvičce/zkumavce.
- Biohazard. V závislosti na použitých vzorcích na kazetě považujte výrobek za potenciálně infikovaný a dodržujte veškerá bezpečnostní opatření a varování, abyste zabránili kontaktu. Při práci s biologickým nebezpečím používejte vhodné metody dekontaminace a likvidace odpadu.
  Kazeta může obsahovat potenciálně infekční materiál; se systémem je proto třeba zacházet jako s potenciálně infekčním. Je proto nezbytné přijmout veškerá bezpečnostní opatření a varování, aby se zabránilo kontaktu (povinné používání rukavic a brýlí při manipulaci) v souladu s místními právními předpisy.
  Nesprávná manipulace s infikovanými částmi může způsobit podráždění kůže.
  Biologické vzorky, jako jsou tkáně, tělní tekutiny, infekční agens, krev lidí nebo jiných zvířat, mají potenciál přenášet infekční choroby. Veškerá práce by měla být prováděna v řádně vybavených zařízeních za použití vhodného bezpečnostního vybavení (například veškerých fyzických ochranných prostředků, včetně rukavic, plášťů, bot, návleků na obuv, ochranných brýlí, obličejových štítů a masek). Mezi zpracováním každého vzorku si vyměňte rukavice.
  Před prací s potenciálně biologicky nebezpečnými materiály by měly být osoby proškoleny podle platných regulačních předpisů a požadavků společnosti/instituce.
  Dodržujte všechny platné místní, státní/provinční a/nebo národní předpisy.
- Obecné zacházení s chemickými látkami. Pro minimalizaci rizik zajistěte, aby si pracovníci laboratoře přečetli a dodržovali obecné bezpečnostní pokyny pro používání, skladování a nakládání s chemickými látkami, které poskytuje výrobce chemikálií, a aby si prostudovali příslušné bezpečnostní listy (SDS), kde jsou uvedena konkrétní bezpečnostní opatření a pokyny:
  - Než začnete skladovat, manipulovat nebo pracovat s jakýmikoliv chemickými látkami nebo nebezpečnými materiály, přečtěte si bezpečnostní listy dodané výrobcem chemikálií a porozumějte jim. Chcete-li získat bezpečnostní listy, obraťte se na výrobce chemických látek.
  - Minimalizujte kontakt s chemickými látkami. Při manipulaci s chemickými látkami používejte vhodné osobní ochranné prostředky (například ochranné brýle, rukavice nebo ochranný oděv).
  - Minimalizujte vdechování chemických látek. Nenechávejte nádoby s chemikáliemi otevřené. Používejte pouze při odpovídajícím větrání (například digestoř).
  - Pravidelně kontrolujte, zda nedošlo k úniku nebo rozlití chemikálií. Dojde-li k úniku nebo rozlití, postupujte podle postupů výrobce při čištění, jak je doporučeno v bezpečnostních listech.
  - S chemickým odpadem manipulujte v digestoři.
  - Zajistěte, aby byl odpad skladován, přenášen, přepravován a likvidován v souladu se všemi místními, státními/provinčními a/nebo národními předpisy.
- DŮLEŽITÉ! Na nebezpečné materiály se mohou vztahovat speciální požadavky na zacházení s nimi a jejich likvidaci
- Před použitím uchovávejte všechny části výrobku (v případě SI 1701.0101/L obě části, kazetu i zkumavku s roztokem Loading solution) po dobu 30 minut při pokojové teplotě v jednorázovém originálním obalu. V případě SI 1701.0101/L musí být všechny části výrobku (G1701.0101 a G1701.L01) ze stejné šarže SI 1701.0101/L.
- Kazeta se smí používat pouze s kompatibilním softwarem a přístrojem. V opačném případě společnost Alifax neodpovídá za bezpečnost, spolehlivost a výkonnost výrobku.
- Kazety jsou jednorázové a nelze je znovu použít. Nepoužívejte již použitou kazetu nebo kazetu s únikem kapaliny.
- Profesionální použití. Toto zařízení není určeno pro použití osobami se sníženými fyzickými, mentálními a smyslovými schopnostmi nebo s nedostatkem zkušeností a znalostí, pokud jim osoba odpovědná za jejich bezpečnost neposkytla dohled nebo předběžné pokyny k používání analyzátoru.
- Pro zaručení správné přípravy vzorku je nezbytné používat vodu molekulárně biologické kvality. Použití jiných činidel než těch, která jsou uvedena v návodu k použití, ohrožuje přípravu vzorku a zhoršuje výsledky testu.

POSTUP

Příprava vzorku

Poznámka: Ujistěte se, že je mikrocentrifuga nastavena v g (g-force nebo rcf- Relative Centrifugal Force); převod g/rpm viz příloha II.

1. Vezměte 200 µl vzorku pozitivní hemokultury a přeneste ji do 1,5 ml zkumavky. Zkumavku centrifugujte při 500 x g po dobu 1 min.

2. Přeneste horní fázi (supernatant) do nové 1,5 ml zkumavky a centrifugujte při 5000 x g po dobu 1 min.

3. Nyní supernatant zlikvidujte.

ALIFAX S.r.l.
Via Merano,30 – 33045 Nimis (UD) – Italy
VAT number IT04337640280
www.alifax.com

© Copyright 2024.This document is exclusive property of ALIFAX S.r.l, confidential and not freely disclosable. All rights reserved

NÁVOD K POUŽITÍ
MM GRAM NEG RES

Ed. Rev. 1.6 2024-05-23

Poznámka: Pokud potřebujete peletu skladovat, prosím před resuspendováním uchovávejte maximálně 7 dnů při -20°C.

4. Peletu resuspendujte v 1000 µl vody molekulárně biologické kvality a 10 sekund vortexujte, abyste suspenzi homogenizovali. Kapky na víčku z něj odstraníte rotací zkumavky při maximální rychlosti po dobu 5 sekund.

5a. SI 1701.0101 konfigurace:
Vezměte 100 µl resuspenze a přeneste tento objem do nové zkumavky. Přidejte 900 µl vody molekulárně biologické kvality a 10 sekund vortexujte. Kapky na víčku z něj odstraníte rotací zkumavky při maximální rychlosti po dobu 5 sekund.

5b. SI 1701.0101/L konfigurace:
Vezměte 100 µl resuspenze a přeneste tento objem do zkumavky s Loading Solution (Ref. G1701.L01), která obsahuje 900 µl roztoku a 10 sekund vortexujte. Kapky na víčku z něj odstraníte rotací zkumavky při maximální rychlosti po dobu 5 sekund.

6. Takto zpracovaný vzorek je připravený pro inokulaci příslušné kazety.

7. Do každé jamky kazety MM GRAM NEG RES musíte napipetovat 5 µl zpracovaného vzorku (celkem 30 µl), umožníte analýzu 1 vzorku v 1 běhu s 1 kazetou.

MOLECULAR MOUSE Analýza

V této části jsou uvedeny základní kroky spuštění testu. Podrobné pokyny naleznete v uživatelské příručce MOLECULAR MOUSE SYSTEM.

Poznámka: Před použitím uchovávejte všechny části výrobku (v případě SI 1701.0101/L obě části, kazetu i zkumavku s Loading Solution) po dobu 30 minut při pokojové teplotě v originálním jednorázovém obalu.

1. Zapněte počítač a spusťte software MOLECULAR MOUSE poklepáním na ikonu zástupce na pracovní ploše.

2. Přihlaste se do softwaru MOLECULAR MOUSE pomocí uživatelského jména a hesla.

3. Zapněte přístroj MOLECULAR MOUSE.
V rozhraní softwaru - v poli přístroje - se zobrazí informace týkající se stavu přístroje ("Přístroj připojen; Prosím vložte kazetu" - bílá barva).
Poznámka: zkontrolujte, zda byl cartridge file nahrán do softwaru (část Nastavení/Správa kazety).
Poznámka: zkontrolujte, zda je v přístroji aktivní provádění testů (oddíl Nastavení/Správa přístroje).

4. Vyjměte jednu kazetu MM GRAM NEG RES z originálního obalu.
Poznámka: Kazetu použijte do 30 minut po vyjmutí z originálního jednorázového obalu.

5. Stisknutím tlačítka "otevřít/zavřít kryt" v poli přístroje otevřete kryt a vložíte kazetu do přístroje.
Spustí se kontrola kazety (fialová barva). Během kontroly se víko přístroje automaticky zavře. Počkejte, dokud nebude kazeta zkalibrována a zkontrolována (stav se změní na "Kazeta zkontrolována; Pro pokračování stiskněte start" - zelená barva). Kalibrace trvá několik minut.

6. Pokračujte stisknutím tlačítka "Start" a po přihlášení přejděte na obrazovku "Nastavení testu" (žlutá barva).
V každé 1 kazetě lze analyzovat maximálně 1 vzorek. Ve výchozím nastavení je pro test vybrán vzorek.
Poznámka: aby bylo možné pokračovat, musí být vloženo alespoň ID vzorku a typ vzorku.

7. Vložte informace o vzorku pomocí čtečky čárových kódů/klávesnice nebo ze systému LIS.

8. Z rozbalovací nabídky vyberte "Typ vzorku".

9. Pro pokračování stiskněte tlačítko "Nakapejte vzorky".
Zobrazí se "vyskakovací okno s upozorněním": "Pokud bude nakapání vzorku trvat déle než 10 minut nemůže být garantována správná funkčnost kazety".
Poznámka: na vyskakovacím okně s varováním může uživatel zvolit, aby se toto varování v budoucnu nezobrazovalo.

10. Pro pokračování stiskněte tlačítko "OK".
Kryt přístroje se automaticky otevře.

11. Vyjměte kazetu z přístroje a položte ji na vyhrazený pracovní stůl/skříňku.

12. Vložte kazetu do držáku kazety a otevřete posuvné sklíčko.

13. Vyjměte kazetu z držáku kazety.

14. Do každé jamky nakapejte 5 µl zpracovaného vzorku k resuspenzi lyofilizovaných činidel. Poté posuvné sklíčko zavřete.
Poznámka: Do jedné kazety lze vložit maximálně jeden zpracovaný vzorek.
Celkem do kazety napipetujete 30 µl vzorku (5 µl do každé jamky).
Poznámka: Po nakapání každé jednotlivé jamky vyměňte špičku.

15. Znovu opatrně vložte kazetu do přístroje.

16. Stiskněte tlačítko "Zavřete kryt a spusťte".
Zobrazí se "vyskakovací okno s upozorněním": "Jste si jisti že všechny vzorky byly nakapány do jamek?".

17. Ujistěte se, že jsou nakapány všechny vzorky, a pokračujte stisknutím tlačítka "Ano, jsem si jist".
Zobrazí se vyskakovací okno "Přihlášení".
Poznámka: Pokud byla překročena doporučená doba pro nakapání vzorků, zobrazí se po potvrzení varování uživatele o nakapání všech vzorků vyskakovací okno, ale analýzu lze přesto dokončit.

18. Pro pokračování se přihlaste.
Kryt přístroje se automaticky zavře. Zavře se obrazovka "Nastavení testu" a otevře se obrazovka "Domů" nejprve se zobrazeným stavem "Inicializace" (světle modrá barva) a poté se zobrazením "V běhu" (modrá barva).
Test se spustí.
Přibližně za hodinu je test dokončen a stav se změní na "Dokončeno; Prosím vyjměte kazetu" (bílé světlo).

Výsledky zobrazíte stisknutím tlačítka "Zobrazit výsledky". Výsledky targetů jsou znázorněny v tabulce spolu s amplifikační křivkou jako Přítomný/Chybí/Malá spolehlivost/Invalidní.
Vyberte targety k verifikaci a stiskněte tlačítko "Verifikace" a poté (pokud je aktivováno) vyberte targety k validaci a stiskněte tlačítko

ALIFAX S.r.l.
Via Merano,30 – 33045 Nimis (UD) – Italy
VAT number IT04337640280
www.alifax.com

© Copyright 2024.This document is exclusive property of ALIFAX S.r.l, confidential and not freely disclosable. All rights reserved

DIPGT01201 Ed. 1 rev. 1

"Validace", abyste mohli přejít na stránku s hlášením a vygenerovat zprávu.

19. Stisknutím tlačítka otevřít/zavřít kryt otevřete kryt přístroje a vyjměte kazetu.
Poznámka: Na konci každého běhu počkejte 5 minut - dokud se nezastaví ventilátor přístroje - před otevřením víka a vyjmutím použité kazety, aby vnitřní část přístroje dosáhla pokojové teploty.

Použitá kazeta by měla být zlikvidována v příslušných nádobách na vzorky podle standardních postupů vaší instituce.

Přístroj MOLECULAR MOUSE je připraven k novému testu.

Poznámka: Jedna kazeta umožňuje analyzovat 1 vzorek v jednom běhu a získat výsledek testu. Až 6 přístrojů lze spravovat paralelně nezávislým způsobem, s jednou instancí softwaru, což umožňuje analýzu 6 kazet současně, tedy 6 vzorků najednou.

KVALITATIVNÍ KONTROLY

Každá testovací kazeta obsahuje dvě procesní kontroly:

1. Pozitivní kontrola detekuje přítomnost jakékoli inhibice analýzy PCR v reálném čase (související se vzorkem), zajišťuje, že podmínky PCR reakce (teploty a čas) jsou správné pro amplifikační reakci a že PCR činidla jsou funkční.

Pozitivní kontrola je platná, pokud splňuje schválená kritéria přijatelnosti.

2. Negativní kontrola verifikuje nepřítomnost nespecifické amplifikace během analýzy.

Všechny kontrolní testy jsou před vydáním výsledků testu prověřeny. Pokud negativní kontrola a/nebo pozitivní kontrola neprojdou, považují se výsledky vzorku za neplatné a test se opakuje.

V případě potřeby lze hemokultivační médium naočkovat certifikovaným referenčním bakteriálním kmenem pro jeden z targetů (nedodává se s MM GRAM NEG RES) a použít jej jako externí pozitivní kontrolní vzorek. V případě, že není k dispozici takovýto hemokultivační vzorek, je možné použít kolonie již identifikované bakterie nebo certifikovaný referenční kmen vykultivovaný na vhodném pevném kultivačním médiu.

Příprava kontrolního vzorku z kolonie: naberte čistou kolonii 1 µl sterilní bakteriologickou kličkou, rozpusťte ji v 1000 µl vody molekulárně biologické kvality a 10 sekund vortexujte, aby byl roztok homogenní. Kapky na víčku z něj odstraníte rotací zkumavky při maximální rychlosti po dobu 5 sekund. Takto zpracovaný vzorek je připraven k vložení do určené kazety (5 µl do každé jamky).

Pozor: jako externí kontrolní vzorek použijte čistý certifikovaný nebo správně identifikovaný kmen, a vyhněte se jakékoli kontaminaci, která by mohla znehodnotit nebo zkreslit získané výsledky.

Pozor: Výsledky testu získané pomocí externích pozitivních kontrolních vzorků nelze použít k diagnostickým účelům. Diagnostický test je určen výhradně k použití s pozitivní hemokulturou (viz určené použití přístroje a diagnostických testů).

Certifikované referenční kmeny, které lze použít jako externí pozitivní kontrolní vzorky, jsou uvedeny v následující tabulce:

MM GRAM NEG RES SPECIFICKÝ TARGET	REFERENČNÍ CERTIFIKOVANÝ KMEN*
OXA-23-like	*A. baumannii* NCTC 13424
mcr-1	*E. coli* NCTC 14377
mcr-2	*E. coli* NCTC 14378
CMY-2	*K. pneumoniae* ATCC BAA-2146
SHV	*K. pneumoniae* ATCC BAA-2146
IMP	*K. pneumoniae* NCTC 14334
OXA-48-like	*K. pneumoniae* NCTC 13442
CTX-M-2/8 group	*E. coli* ATCC 13462
VIM	*K. pneumoniae* NCTC 13440
KPC	*E. coli* NCTC 14320
NDM	*E. coli* NCTC 14339
SHV ESBL	*K. pneumoniae* ATCC 700603
CTX-M-1/9 group	*E. coli* NCTC 13451

** Informace o bezpečném zacházení se vzorkem naleznete v pokynech výrobce*

VÝSLEDKY

Software MOLECULAR MOUSE zpracovává surová data získaná z přístroje za účelem identifikace přítomnosti/nepřítomnosti targetů nukleových kyselin, poskytuje výsledky a vygeneruje zprávu po verifikaci uživatelem, a pokud je aktivováno, validaci dat uživatelem.

Specifikace pro provedení testu (včetně seznamu targetů a kritérií pro správu údajů) jsou uvedeny v MM GRAM NEG RES cartridge file. Software je schopen analyzovat fluorescenci vyzařovanou specifickými sondami a podle zvýšení hodnoty fluorescence je target indikován jako přítomný/nepřítomný/malá spolehlivost/invalidní, jak je uvedeno v tabulce níže, a je vizualizován v amplifikačním grafu jako logaritmická/lineární amplifikační křivka.

Target -výsledek	Pozitivní kontrola	Negativní kontrola	Popis výsledku
Přítomný	Prošlo	Prošlo	Target přítomný
Malá spolehlivost *(žádné další targety přítomny)*	Prošlo	Prošlo	Neprůkazný*
Malá spolehlivost *(alespoň 1 target přítomný)*	Prošlo	Prošlo	Neprůkazný**
Chybí	Prošlo	Prošlo	Target nepřítomný
Invalidní	Neprošlo	Prošlo	INVALIDNÍ***
Invalidní	Prošlo	Neprošlo	INVALIDNÍ****

**Zopakujte test od zpracovaného vzorku. Pokud výsledek zůstane stejný, proveďte znovu zpracování vzorku z pozitivní hemokultury (pokud je vzorek pozitivní) a vložte nově zpracovaný vzorek do určené kazety. V případě malé spolehlivosti je pro výsledek užitečné vyhodnocení křivky interpretace.*

ALIFAX S.r.l.
Via Merano,30 – 33045 Nimis (UD) – Italy
VAT number IT04337640280
www.alifax.com

© Copyright 2024.This document is exclusive property of ALIFAX S.r.l, confidential and not freely disclosable. All rights reserved

Amplifikační křivky mají sigmoidální (S) tvar.

***Zohledněte klinické hodnocení. V případě potřeby zopakujte analýzu od zpracovaného vzorku. V případě malé spolehlivosti je pro výsledek užitečné vyhodnocení křivky interpretace. Amplifikační křivky mají sigmoidální (S) tvar.*

****Přítomnost inhibitorů. Zřeďte 500 µl zpracovaného vzorku 500 µl vody molekulárně biologické kvality a opakujte test takto zředěného vzorku. Pokud výsledek zůstane stejný, zopakujte zpracování vzorku z pozitivní hemokultury (pokud je to možné) a nově zpracovaný vzorek vložte do určené kazety.*

*****Absence inhibitorů. Ujistěte se, že jste vzorek načetli a zpracovali podle návodu k použití (IFU). V případě pochybností se doporučuje zopakovat zpracování vzorku z pozitivní hemokultury (pokud je to možné) a nově zpracovaný vzorek vložit do určené kazety.*

Seznam targetů:
Carba target: KPC, VIM, NDM, IMP, OXA-23-like, OXA-48-like

Beta laktamáza target: SHV

ESBL/AmpC target: SHV ESBL, CTX-M-1/9 groups, CTX-M-2/8 groups, CMY-2

Kolistin target: mcr-1, mcr-2.

Možné kombinace výsledků v MM GRAM NEG RES kazetě jsou uvedeny v Příloze I .

MM GRAM NEG RES poskytuje výsledek na podporu detekce sekvencí nukleových kyselin, o nichž je známo, že jsou spojeny s rezistencí gram-negativních bakterií na beta-laktamová léčiva (Carba/ESBL/AmpC) a kolistin. Test se provádí z pozitivní hemokultury.

Test MM GRAM NEG RES je určen ke kombinovanému použití s dalšími klinickými a analytickými výsledky v rámci diagnostického hodnocení definovaného a upraveného každou konkrétní laboratoří. MM GRAM NEG RES nenahrazuje tradiční metody testování citlivosti na antibiotika.

Výsledek nevylučuje kombinovanou přítomnost jiných targetů než těch, které jsou uvedeny na seznamu identifikovatelných targetů. Pro jejich identifikaci je nutné provést další nezávislé testy. Použití kontrol v každé analýze testů umožňuje ověřit správné fungování amplifikační směsi a nepřítomnost interferencí.

LIMITACE PROCEDURY

Vzorky musí být odebírány, přepravovány a skladovány použitím správných postupů a za vhodných podmínek. Nesprávný odběr, transport, nebo skladování vzorků může omezit schopnost testu detekovat cílové sekvence.

MM GRAM NEG RES kazety jsou kompatibilní se vzorky pozitivních hemokultur odebraných z kultivačních nádobek BD BACTEC Plus Aerobic/F, BD BACTEC Anaerobic/F, BD BACTEC Peds Plus/F, bioMerieux BACT/ALERT FA Plus, bioMerieux BACT/ALERT FN Plus, bioMerieux BACT/ALERT PF Plus.

Amplifikace nukleových kyselin z klinických vzorků musí být prováděna podle specifických metod uvedených v tomto postupu.

Falešně negativní výsledky mohou vzniknout v důsledku:

- Nesprávného odběru a zpracování vzorku
- Degradace DNA během přepravy/skladování
- Použití nedoporučeného roztoku pro zpracování vzorků
- Přítomnosti inhibitorů PCR
- Mutací v bakteriálním genomu
- Varianty genu, která není kazetou detekovatelná
- Nedodržení návodu k použití (IFU)

Falešně pozitivní výsledky mohou vzniknout v důsledku:

- Křížové kontaminace při manipulaci se vzorkem nebo jeho přípravě
- Křížové kontaminace mezi vzorky pacientů
- Záměny vzorků
- Kontaminace DNA při manipulaci s výrobkem

Vliv vakcín, antivirových terapeutik, antibiotik, chemoterapeutik nebo imunosupresiv nebyl zjištěn.

Účinnost prostředku nebyla stanovena pro screening krve nebo krevních produktů.

Negativní výsledky nevylučují, že existují i jiné mechanismy rezistence než ty, které jsou deklarovány v rámci zamýšleného použití výrobku, a neměly by být jediným základem pro rozhodnutí o léčbě pacienta.

MM GRAM NEG RES nenahrazuje tradiční metody testování citlivosti na antibiotika. Pozitivní výsledek testu MM GRAM NEG RES neznamená shodu s fenotypovými referenčními metodami.

Přítomnost cílového genu rezistence MM GRAM NEG RES nemusí nutně znamenat manifestaci fenotypu rezistence kultivačních testů citlivosti na antibiotika.

Nukleová kyselina může přetrvávat i poté, co bakterie již není životaschopná.

Laboratoře jsou povinny hlásit všechny pozitivní výsledky příslušným orgánům veřejného zdraví.

ANALYTICKÁ VÝKONNOST

Analytická sensitivita

Pro každý target rezistence byl determinován limit detekce (LoD), aby se demonstrovalo, že gen rezistence byl detekován v minimálně 95 % replikátů.
Limit detekce pro všechny targety obsažené v MM GRAM NEG RES kazetě je uveden v následující tabulce.

ALIFAX S.r.l.
Via Merano,30 – 33045 Nimis (UD) – Italy
VAT number IT04337640280
www.alifax.com

© Copyright 2024.This document is exclusive property of ALIFAX S.r.l, confidential and not freely disclosable. All rights reserved

NÁVOD K POUŽITÍ
MM GRAM NEG RES

Ed. Rev. 1.6 2024-05-23

MM GRAM NEG ID target	Testovaný organismus	Číslo kmenu	LoD koncentrace (CFU/ml)
OXA-23-like	*Acinetobacter baumannii*	NCTC 13424	**9,3x10^4**
mcr-1	*Escherichia coli*	NCTC 13846	**6,0x10^5**
mcr-2	*Escherichia coli*	NCTC 14378	**2,1x10^5**
CMY-2	*Klebsiella pneumoniae*	ATCC BAA-2146	**7,5x10^5**
	Escherichia coli	CDC AR-0346	**1,5x10^5**
SHV	*Klebsiella pneumoniae*	ATCC BAA-2146	**7,5x10^5**
IMP	*Escherichia coli*	NCTC 13476	**2,7x10^5**
OXA-48-like	*Klebsiella pneumoniae*	NCTC 13442	**5,3x10^4**
CTX-M-2/8 GROUP	*Escherichia coli*	ATCC 13463	**2,0x10^6**
VIM	*Klebsiella pneumoniae*	NCTC 13440	**1,7x10^5**
KPC	*Klebsiella pneumoniae*	ATCC BAA-2814	**6,8x10^6**
NDM	*Klebsiella pneumoniae*	ATCC BAA-2146	**7,5x10^5**
SHV ESBL	*Escherichia coli*	ATCC BAA-204	**6,2x10^5**
CTX-M-1/9 group	*Klebsiella pneumoniae*	ATCC BAA-2146	**7,5x10^5**

Poznámka: průměrná koncentrace bakterií, která se může vyskytovat v pozitivní hemokultuře je přibližně 10^8 CFU/ml. [6,7]

Analytická specificita

Cílem studie specifičnosti je vyhodnotit schopnost MM GRAM NEG RES kazety identifikovat pouze požadované targety **(inkluzivita)**, vyhodnotit potenciální křížovou reaktivitu mikroorganismů on-panel a off-panel testy **(exkluzivita)** a otestovat potenciální inhibiční účinky interferujících látek/mikrobiálních činidel/kultivačních médií **(interference)**.

Provedené experimenty ukazují, že MM GRAM NEG RES kazeta je specifická pro geny spojené s antibiotickou rezistencí gram-negativních bakterií a nevykazuje křížovou reaktivitu.

Všechny varianty genů (experimentálně testované nebo předpovězené pomocí in silico analýzy) detekované specifickým targetem MM GRAM NEG RES jsou uvedeny v následujících tabulkách.

Target: KPC							
Zjištěné geny (testováno)							
KPC-2*				KPC-3			
KPC-4				KPC-5			
KPC-6				KPC-7			
Zjištěné geny (*in silico*)							
KPC-2*	KPC-3	KPC-4	KPC-5	KPC-6	KPC-7	KPC-8	KPC-12
KPC-13	KPC-14	KPC-16	KPC-17	KPC-18	KPC-19	KPC-20	KPC-23
KPC-24	KPC-25	KPC-26	KPC-28	KPC-29	KPC-30	KPC-32	KPC-33
KPC-34	KPC-35	KPC-36	KPC-37	KPC-38	KPC-39	KPC-40	KPC-41
KPC-42	KPC-43	KPC-44	KPC-46	KPC-47	KPC-48	KPC-50	KPC-51
KPC-52	KPC-54	KPC-55	KPC-57	KPC-58	KPC-59	KPC-62	KPC-63
KPC-64	KPC-65	KPC-71	KPC-80	KPC-81	KPC-83	KPC-86	KPC-87
KPC-88	KPC-89	KPC-90	KPC-92	KPC-94	KPC-95	KPC-96	KPC-97
KPC-98	KPC-102	KPC-103	KPC-104	KPC-105	KPC-106	KPC-107	KPC-108
KPC-112	KPC-114	KPC-115	KPC-115	KPC-116	KPC-117	KPC-118	KPC-119
KPC-120	KPC-121	KPC-122	KPC-123				

**KPC-1 je identický s KPC-2 (ref. Doi. Org/10.1128/AAC.01445-07)*

Target: VIM							
Zjištěné geny (testováno)							
VIM-1				VIM-2			
VIM-4				VIM-10			
Zjištěné geny (*in silico*)							
VIM-1	VIM-2	VIM-3	VIM-4	VIM-6	VIM-8	VIM-9	VIM-10
VIM-11	VIM-12	VIM-14	VIM-15	VIM-16	VIM-17	VIM-18	VIM-19
VIM-20	VIM-23	VIM-24	VIM-26	VIM-29	VIM-30	VIM-31	VIM-32
VIM-33	VIM-34	VIM-35	VIM-36	VIM-40	VIM-41	VIM-42	VIM-43
VIM-44	VIM-45	VIM-46	VIM-48	VIM-50	VIM-51	VIM-53	VIM-54
VIM-56	VIM-57	VIM-58	VIM-60	VIM-62	VIM-63	VIM-65	VIM-66
VIM-67	VIM-70	VIM-72	VIM-73	VIM-74			

Target: NDM							
Zjištěné geny (testováno)							
NDM-1				NDM-4			
NDM-5				NDM-7			
Zjištěné geny (*in silico*)							
NDM-1	NDM-2	NDM-3	NDM-4	NDM-5	NDM-6	NDM-7	NDM-11
NDM-20	NDM-21	NDM-22	NDM-23	NDM-24	NDM-26	NDM-27	NDM-28
NDM-29	NDM-31						

Target: IMP							
Zjištěné geny (testováno)							
IMP-1							
Zjištěné geny (*in silico*)							
IMP-1	IMP-3	IMP-4	IMP-5	IMP-6	IMP-10	IMP-25	IMP-26
IMP-28	IMP-34	IMP-40	IMP-42	IMP-52	IMP-55	IMP-56	IMP-60
IMP-61	IMP-66	IMP-70	IMP-76	IMP-77	IMP-78	IMP-79	IMP-80
IMP-85	IMP-94						

Target: OXA-23 like							
Zjištěné geny (testováno)							
OXA-23				OXA-27			
Zjištěné geny (*in silico*)							
OXA-23	OXA-27	OXA-49	OXA-73	OXA-103	OXA-146	OXA-165	OXA-166
OXA-167	OXA-168	OXA-169	OXA-170	OXA-171	OXA-239	OXA-255	OXA-366
OXA-398	OXA-422	OXA-423	OXA-435	OXA-440	OXA-482	OXA-483	OXA-565
OXA-657	OXA-807	OXA-808	OXA-809	OXA-810	OXA-811	OXA-812	OXA-813
OXA-814	OXA-815	OXA-816	OXA-817	OXA-818	OXA-893	OXA-911	OXA-966
OXA-968	OXA-1095						

Target: OXA-48 like							
Zjištěné geny (testováno)							
OXA-48				OXA-181			
OXA-232				OXA-244			
Zjištěné geny (*in silico*)							
OXA-48	OXA-162	OXA-163	OXA-181	OXA-199	OXA-204	OXA-232	OXA-244
OXA-245	OXA-247	OXA-252	OXA-370	OXA-405	OXA-416	OXA-438	OXA-439
OXA-484	OXA-505	OXA-514	OXA-515	OXA-517	OXA-519	OXA-538	OXA-546
OXA-547	OXA-566	OXA-567	OXA-788	OXA-793	OXA-833		

Target: SHV							
Zjištěné geny (testováno)							
SHV-1				SHV-11			
SHV-26							
Zjištěné geny (*in silico*)							
SHV-1	SHV-2	SHV-3	SHV-4	SHV-5	SHV-7	SHV-11	SHV-14
SHV-16	SHV-18	SHV-24	SHV-26	SHV-27	SHV-28	SHV-30	SHV-32
SHV-33	SHV-38	SHV-41	SHV-44	SHV-45	SHV-46	SHV-48	SHV-49
SHV-50	SHV-55	SHV-57	SHV-59	SHV-61	SHV-63	SHV-65	SHV-71
SHV-72	SHV-75	SHV-78	SHV-95	SHV-97	SHV-98	SHV-99	SHV-100
SHV-101	SHV-102	SHV-103	SHV-104	SHV-105	SHV-106	SHV-111	SHV-115
SHV-132	SHV-133	SHV-137	SHV-141	SHV-143	SHV-145	SHV-146	SHV-147
SHV-148	SHV-150	SHV-152	SHV-153	SHV-154	SHV-161	SHV-162	SHV-164
SHV-179	SHV-180	SHV-185	SHV-186	SHV-187	SHV-188	SHV-189	SHV-191
SHV-194	SHV-196	SHV-197	SHV-199	SHV-201	SHV-202	SHV-204	SHV-205
SHV-206	SHV-207	SHV-208	SHV-210	SHV-211	SHV-212	SHV- 214	SHV-216
SHV-218	SHV-219	SHV-220	SHV-222	SHV-223	SHV-226	SHV-227	

Target: SHV ESBL							
Zjištěné geny (testováno)							
SHV-2				SHV-3			
SHV-12				SHV-18			
Zjištěné geny (*in silico*)							
SHV-2	SHV-2a	SHV-3	SHV-4	SHV-5	SHV-7	SHV-9	SHV-12
SHV-15	SHV-18	SHV-30	SHV-31	SHV-34	SHV-45	SHV-46	SHV-55
SHV-64	SHV-66	SHV-86	SHV-105	SHV-106	SHV-115	SHV-128	SHV-129
SHV-134	SHV-183						

Target: CTX-M-1/9 group							
Zjištěné geny (testováno)							
CTX-M-1				CTX-M-3			
CTX-M-9				CTX-M-15			
CTX-M-55							
Zjištěné geny (*in silico*)							
CTX-M-1	CTX-M-3	CTX-M-9	CTX-M-10	CTX-M-12	CTX-M-15	CTX-M-22	CTX-M-23
CTX-M-28	CTX-M-32	CTX-M-36	CTX-M-37	CTX-M-42	CTX-M-52	CTX-M-54	CTX-M-55
CTX-M-58	CTX-M-60	CTX_M-61	CTX-M-62	CTX-M-64	CTX-M-66	CTX-M-71	CTX-M-72
CTX-M-80	CTX-M-89	CTX-M-96	CTX-M-116	CTX-M-118	CTX-M-124	CTX-M-129	CTX-M-130
CTX-M-133	CTX-M-135	CTX-M-138	CTX-M-141	CTX-M-142	CTX-M-143	CTX-M-154	CTX-M-155
CTX-M-156	CTX-M-157	CTX-M-158	CTX-M-162	CTX-M-166	CTX-M-173	CTX-M-175	CTX-M-176
CTX-M-177	CTX-M-183	CTX-M-187	CTX-M-197	CTX-M-204	CTX-M-208	CTX-M-209	CTX-M-210
CTX-M-211	CTX-M-212	CTX-M-216	CTX-M-218	CTX-M-220	CTX-M-221	CTX-M-222	CTX-M-224
CTX-M-226	CTX-M-228	CTX-M-230	CTX-M-231	CTX-M-232	CTX-M-236	CTX-M-237	

ALIFAX S.r.l.
Via Merano,30 – 33045 Nimis (UD) – Italy
VAT number IT04337640280
www.alifax.com

© Copyright 2024.This document is exclusive property of ALIFAX S.r.l, confidential and not freely disclosable. All rights reserved

DIPGT01201 Ed. 1 rev. 1

NÁVOD K POUŽITÍ
MM GRAM NEG RES

Ed. Rev. 1.6 2024-05-23

Target: CTX-M-2/8 group							
Zjištěné geny (testováno)							
CTX-M-2				CTX-M-8			
Zjištěné geny (*in silico*)							
CTX-M-2	CTX-M-5	CTX-M-8	CTX-M-20	CTX-M-31	CTX-M-35	CTX-M-40	CTX-M-43
CTX-M-44	CTX-M-56	CTX-M-59	CTX-M-63	CTX-M-76	CTX-M-77	CTX-M-92	CTX-M-95
CTX-M-97	CTX-M-115	CTX-M-131	CTX-M-141	CTX-M-165	CTX-M-171	CTX-M-200	CTX-M-229
CTX-M-253							

Target: CMY-2							
Zjištěné geny (testováno)							
CMY-2				CMY-6			
Zjištěné geny (*in silico*)							
CMY-2	CMY-4	CMY-5	CMY-6	CMY-7	CMY-12	CMY-13	CMY-14
CMY-15	CMY-17	CMY-20	CMY-21	CMY-22	CMY-23	CMY-24	CMY-25
CMY-26	CMY-27	CMY-28	CMY-29	CMY-31	CMY-32	CMY-33	CMY-34
CMY-35	CMY-36	CMY-38	CMY-42	CMY-45	CMY-54	CMY-57	CMY-58
CMY-59	CMY-60	CMY-61	CMY-62	CMY-63	CMY-66	CMY-69	CMY-94
CMY-95	CMY-99	CMY-102	CMY-107	CMY-111	CMY-119	CMY-121	CMY-125
CMY-132	CMY-133	CMY-134	CMY-136	CMY-138	CMY-139	CMY-140	CMY-141
CMY-142	CMY-143	CMY-145	CMY-146	CMY-147	CMY-148	CMY-149	CMY-154
CMY-156	CMY-160	CMY-161	CMY-162	CMY-163			

Target: mcr-1							
Zjištěné geny (testováno)							
mcr-1							
Zjištěné geny (*in silico*)							
mcr-1	mcr-1.1	mcr-1.2	mcr-1.3	mcr-1.4	mcr-1.5	mcr-1.7	mcr-1.8
mcr-1.9	mcr-1.10	mcr-1.11	mcr-1.12	mcr-1.13	mcr-1.14	mcr-1.15	mcr-1.16
mcr-1.17	mcr-1.18	mcr-1.19	mcr-1.20	mcr-1.21	mcr-1.22	mcr-1.23	mcr-1.24
mcr-1.25	mcr-1.26	mcr-1.27	mcr-1.28	mcr-1.29	mcr-1.30	mcr-1.31	mcr-1.32
mcr-1.33	mcr-1.34						

Target: mcr-2							
Zjištěné geny (testováno)							
mcr-2							
Zjištěné geny (*in silico*)							
mcr-2	mcr-2.1	mcr-2.2	mcr-2.3	mcr-2.4	mcr-2.5	mcr-2.6	mcr-2.7
mcr-2.8							

Interferující látky:

Potenciální interference 13 různých látek byla posouzena testováním simulované pozitivní hemokultury s příměsí rezistentní *K. pneumoniae* (ATCC BAA-2146). Všechny interferenty byly přidány do vzorku v koncentraci rovné nebo vyšší, než je nejvyšší očekávaná hladina v hemokultuře.

Testované látky (endogenní látky, antikoagulanty a dezinfekční prostředky), jejich testovací koncentrace a získané výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

Potencionálně interferující látky

Endogenní látky	**Koncentrace**	**Výsledky**
Hemoglobin	1000 mg/5dl	**NEBYLA POZOROVÁNA ŽÁDNÁ INTERFERENCE**
Triglyceridy	100 mg/dl	
Konjugovaný bilirubin	40 mg/dl	
Nekonjugovaný bilirubin	40 mg/dl	
Gamma globulin	20mg/ml	
human genomic DNA	6 x 10^5 cp/mL	
Antikoagulanty	**Koncentrace**	
Citrát sodný	4× poměr specifický pro vacutainer (antikoagulans:krev)	
K2EDTA		
K3EDTA		
Lithium Heparin		
Sodium Heparin		
Antikoagulanty	**Koncentrace**	
Bělicí prostředek	5% v/v	
Etanol	7% v/v	

cp/ml = kopie/ml; v/v = objem /objem

Žádná z potenciálně interferujících látek neovlivnila výsledky testu MM GRAM NEG RES (nebyla pozorována žádná interference).

Mikrobiální interference:

Mikrobiální interference byla hodnocena testováním simulované hemokultury s nízkou koncentrací *Klebsiella pneumoniae* (ATCC BAA-2146) a 6 klinicky významných koinfekčních organismů přidaných do vzorku ve vysoké koncentraci. Mikroorganismy byly vybrány z těch, které byly identifikovány jako běžné polymikrobiální koinfekce, aby se vyhodnotilo, zda by přítomnost vysokých koncentrací organismů mohla interferovat s detekcí deklarovaných cílů při nižší koncentraci.

Potenciálně konkurující mikroorganismy, rozdělené mezi On-Panel a Off-Panel, a získané výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

Potencionálně interferující organismy

On-panel	**Výsledky**
Klebsiella pneumoniae ATCC BAA-2814	**NEBYLA POZOROVÁNA ŽÁDNÁ INTERFERENCE**
Klebsiella pneumoniae NCTC 13440	
Klebsiella pneumoniae NCTC 13442	
Off-panel	
Enterococcus faecalis ATCC 51299	
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	
Candida albicans ATCC 10231	

Žádný z potenciálně interferujících mikroorganismů nekonkuroval ani neinterferoval s výsledky testu MM GRAM NEG RES (nebyla pozorována žádná interference).

Typy hemokultivačních lahviček:

Kompabilita MM GRAM NEG RES s různými lahvičkami a médii pro kultivaci krve byla hodnocena testováním 6 různých lahviček pro kultivaci krve ze 2 různých systémů pro kultivaci krve (BACT/ALERT a BACTEC); lahvičky pro kultivaci krve byly osazeny 4 nejčastěji se v klinice vyskytujícími rezistentními gramnegativními bakteriemi (1 bakterie na každý typ lahvičky) a inkubovány pro dosažení pozitivity.

Testované typy lahví a získané výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

Interference s hemokultivačními lahvičkami

Typ hemokultivační lahvičky	**Výsledky**
BD BACTEC Plus Aerobic/F	**NEBYLA POZOROVÁNA ŽÁDNÁ INTERFERENCE**
BD BACTEC Plus Anaerobic/F	
BD BACTEC Peds Plus /F	
bioMerieux BACT/ALERT® FA Plus	
bioMerieux BACT/ALERT® FN Plus	
bioMerieux BACT/ALERT® PF Plus	

Žádná z testovaných hemokultivačních lahviček neinterferovala s výsledky testu MM GRAM NEG RES (nebyla pozorována žádná interference).

Celkově nebyla zjištěna žádná interference s endogenními látkami, antikoagulanty nebo dezinfekčními prostředky, stejně jako u polymikrobiálních vzorků a typů lahví.

ALIFAX S.r.l.
Via Merano,30 – 33045 Nimis (UD) – Italy
VAT number IT04337640280
www.alifax.com

© Copyright 2024.This document is exclusive property of ALIFAX S.r.l, confidential and not freely disclosable. All rights reserved

Přesnost měření

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost MM GRAM NEG RES byla hodnocena testováním 5 simulovaných pozitivních hemokultur, do kterých byly přidány 4 nejčastěji klinicky se vyskytující rezistentní gramnegativní bakterie a 1 mikroorganismus off-panel (grampozitivní bakterie jako negativní kontrola).

Byly hodnoceny různé potenciální zdroje variability. Podrobněji byla studie provedena na 2 různých pracovištích, v různých dnech, se 2 šaržemi kazet (2 různé šarže/pracoviště), s různými přístroji, různými operátory (2 různí operátoři/pracoviště); každý vzorek byl testován v 5 opakováních na šarži/pracoviště (celkem 20 opakování/vzorek, 5 vzorků = 100 celkových analýz).

Shoda mezi výsledky získanými z nezávislých testů byla analyzována jako procento shody mezi testy provedenými za různých podmínek; pro zjištěnou procentní shodu byla vypočtena 95% hranice spolehlivosti (Wilson metoda) (viz tabulka níže).

Mikroorganismus	Pracoviště 1		Pracoviště 2		Celková shoda [95% CI]	
	Lot 1 Op1-2	Lot 2 Op1-2	Lot 1 Op3-4	Lot 2 Op3-4		
***K. pneumoniae* ATCC BAA-2814 (KPC, SHV)**	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	**20/20 100% [83,9%-100%]**	**100/100 100% [96,3%-100%]**
***K. pneumoniae* NCTC 13440 (VIM, SHV, SHV ESBL)**	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	**20/20 100% [83,9%-100%]**	
***K. pneumoniae* ATCC BAA-2146 (NDM, CTX-M-1/9 group, SHV, CMY-2)**	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	**20/20 100% [83,9%-100%]**	
***K. pneumoniae* NCTC 13442 (SHV, OXA-48)**	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	**20/20 100% [83,9%-100%]**	
***Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (off-panel, negativní kontrola)**	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	5/5 100%	**20/20 100% [83,9%-100%]**	

Lot= Šarže, Op=Operátor, CI=interval spolehlivosti

V detailu ve všech provedených 100 analýzách dosáhly všechny testy 100% diagnostické shody.

KLINICKÁ VÝKONNOST

Klinický výkon MM GRAM NEG RES kazety byl zjišťován během klinické studie 355 hemokultur (76 prospektivních, 61 retrospektivních a 218 naočkovaných) včetně 4 polymikrobiálních hemokultur. Vzhledem k přítomnosti polymikrobiálních hemokultur byl konečný počet testovaných druhů 359.

Klinická výkonnost byla vyhodnocena porovnáním výsledku testu MM GRAM NEG RES s informacemi o dobře charakterizovaných genech rezistence bakteriálních kmenů k antibiotikům (např. ATCC, NCTC, sekvenace kmenů) a testováním citlivosti k antibiotikům; v případě nesouhlasných výsledků případně s diagnostickou srovnávací metodou Real-Time PCR.

Target	Sensitivita (TP/TP+FN)				Specificita (TN/TN+FP)			
	N	%	95% CI		N	%	95% CI	
mcr-1	7/7	**100**	64,57	100	262/262	**100**	98,55	100
OXA-23-like	4/4	**100**	51,01	100	264/264	**100**	98,57	100
IMP	7/7	**100**	64,57	100	264/264	**100**	98,57	100
SHV	19/19	**100**	83,18	100	231/252	**91,67**	87,60	94,49
KPC	28/28	**100**	87,94	100	259/259	**100**	98,54	100
VIM	27/27	**100**	87,54	100	260/260	**100**	98,54	100
CMY-2	6/6	**100**	60,97	100	262/262	**100**	98,55	100
mcr-2	3/3	**100**	43,85	100	265/265	**100**	98,57	100
CTX-M-2/8 group	7/7	**100**	64,57	100	261/261	**100**	98,55	100
OXA-48 like	34/34	**100**	89,95	100	254/257	**98,83**	96,62	99,60
CTX-M-1/9 groups	27/27	**100**	87,54	100	244/244	**100**	98,45	100
NDM	23/23	**100**	85,69	100	268/268	**100**	98,59	100
SHV ESBL	10/10	**100**	72,25	100	259/259	**100**	98,54	100

Pravdivě pozitivní (TP); Pravdivě negativní (TN); Falešně pozitivní (FP); Falešně negativní (FN); Interval spolehlivosti (CI).

LIKVIDACE ODPADU

Likvidace odpadu by měla být v souladu s platnými národními právními předpisy. S ohledem na typ výrobku se navrhuje nakládat s ním jako s biologickým odpadem (kód E.W.C. 18.01.03).

INDEX SYMBOLŮ

CE	CE značka
IVD	In vitro diagnostický (IVD) prostředek
REF	Katalogové číslo
Σ	Počet testů
	Teplotní limit

ALIFAX S.r.l.
Via Merano,30 – 33045 Nimis (UD) – Italy
VAT number IT04337640280
www.alifax.com

© Copyright 2024.This document is exclusive property of ALIFAX S.r.l, confidential and not freely disclosable. All rights reserved

	Nepoužívejte opakovaně
	Číslo šarže
	Chraňte před slunečním svitem
	Datum spotřeby
	Návod k použití
	Obsah
	Touto stranou nahoru
	Pozor, přečtěte si návod k použití
	Výrobce
	Vyrobeno v Itálii
	Ponechte touto stranou nahoru (horizontálně)

Kontakty na technickou podporu

Kontaktujte místního obchodního zástupce společnosti Alifax nebo autorizovaného distributora.

Kontakt pro hlášení stížností:

Jakákoli závažná událost, k níž dojde v souvislosti s prostředkem, musí být hlášena výrobci (vigilance@alifax.com) a příslušnému orgánu členského státu, v němž se uživatel a/nebo pacient nachází.
Závažnou událostí se rozumí jakákoli událost, která přímo nebo nepřímo vedla, mohla vést nebo může vést k některé z následujících událostí:
(a) úmrtí pacienta, uživatele nebo jiné osoby,
(b) dočasné nebo trvalé vážné zhoršení zdravotního stavu pacienta, uživatele nebo jiné osoby,
(c) vážné ohrožení veřejného zdraví

BIBLIOGRAFIE

[1] *"Global report on the epidemiology and burden of sepsis: current evidence, identifying gaps and future directions", World Health Organization (WHO), 2020.*

[2] *"Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022", World Health Organization (WHO), 2022.*

[3] *"Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual epidemiological report for 2021", ECDC 2022*

[4] *"Antimicrobial resistance surveillance in Europe", World Health Organization (WHO), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2022.*

[5] *"Approach to Positive Blood Cultures in the Hospitalized Patient: A Review", H. K. Chela et al. Missouri Medicine, 2019.*

[6] *"Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting", M. Christner et al., J Clin Microbiol, 2010.*

[7] *"Early identification of microorganisms in blood culture prior to the detection of a positive signal in the BACTEC FX system using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry", M.C. Wang et al., J Microbiol Immunol Infect., 2015*

Části označené modrou barvou byly oproti předchozí verzi doplněny nebo upraveny.

ALIFAX S.r.l.
Via Merano,30 – 33045 Nimis (UD) – Italy
VAT number IT04337640280
www.alifax.com

© Copyright 2024.This document is exclusive property of ALIFAX S.r.l, confidential and not freely disclosable. All rights reserved

NÁVOD K POUŽITÍ
MM GRAM NEG RES

Ed. Rev. 1.6 2024-05-23

Příloha I

MOŽNÉ VÝSLEDKY TESTŮ

Kazeta MM GRAM NEG RES obsahuje činidla pro detekci 13 targetů a 2 procesní kontroly. Následující schéma uvádí příklady dostupných asociací mezi výstupem targetů testu MM GRAM NEG RES (přítomný/chybí) a přítomností odpovídající nukleové kyseliny mikroorganismu.

Target* / Gen rezistence u gramnegativních bakterií	OXA-23-like	mcr-1	mcr-2	CMY-2	SHV	IMP	OXA-48-like	CTX-M-2/8 group	VIM	KPC	NDM	SHV ESBL	CTX-M-1/9 group
OXA-23-like	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
mcr-1	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
mcr-2	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
CMY-2	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
SHV	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
IMP	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
OXA-48-like	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
CTX-M-2/8 group	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
VIM	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí
KPC	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí
NDM	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí
SHV ESBL	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný	Chybí
CTX-M-1/9 group	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Chybí	Přítomný

*Varianty genů zjištěné (experimentálně testované nebo předpovězené analýzou in silico) každým targetem testu MM GRAM NEG RES jsou uvedeny v odstavci "Analytická specifičnost".

ALIFAX S.r.l.
Via Merano,30 – 33045 Nimis (UD) – Italy
VAT number IT04337640280
www.alifax.com

© Copyright 2024.This document is exclusive property of ALIFAX S.r.l, confidential and not freely disclosable. All rights reserved

NÁVOD K POUŽITÍ
MM GRAM NEG RES

Ed. Rev. 1.6 2024-05-23

Příloha II

PŘEVOD G/RPM

V případě, že přístroj nemá automatickou funkci přepínání mezi otáčkami za minutu (otáčky za minutu) a g ("rcf" relativní odstředivá síla nebo síla "g" představující relativní odstředivou sílu generovanou rotujícím rotorem), je možné vypočítat hodnotu "otáček za minutu" od hodnoty "g" podle následující rovnice*:

$$rpm = \sqrt{\frac{\mathrm{g}}{0.00001118 * \mathrm{r}}}$$

r = poloměr otáčení (cm). Představuje vzdálenost mezi středem otáčení a vnějším okrajem rotoru. Tato hodnota je specifická pro každý rotor a obvykle ji najdete v návodu k odstředivce nebo rotoru.

*Ref. DIN 58 970

Níže jsou uvedeny příklady převodu mezi otáčkami za minutu a g/rcf pro různé poloměry otáčení:

Poloměr rotoru (cm)	otáček za minutu odpovídajících 500 x g	otáček za minutu odpovídajících 5000 x g
4	3344	10574
4,5	3153	9969
5	2991	9458
5,5	2852	9017
6	2730	8634
6,5	2623	8295
7	2528	7993
7,5	2442	7722
8	2364	7477
8,5	2294	7254
9	2229	7049
9,5	2170	6861
10	2115	6688

ALIFAX S.r.l.
Via Merano,30 – 33045 Nimis (UD) – Italy
VAT number IT04337640280
www.alifax.com

© Copyright 2024.This document is exclusive property of ALIFAX S.r.l, confidential and not freely disclosable. All rights reserved

DIPGT01201 Ed. 1
rev. 1