



# BD MAX™ Check-Points CPO

REF 278102

P0226 (02)  
2019-08

Per uso diagnostico *in vitro*  
Da utilizzare con il sistema BD MAX



24



Rx Only

Contact your local BD representative for instructions. / Свържете се с местния представител на BD за инструкции. / Pokyny vám poskytne miestní zástupce společnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Die Packungsbeilage erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung. / Póngase en contacto con su representante local de BD para instrucciones. / Contacter le représentant local de BD pour les instructions. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Ota yhteyks lähimpään BD:n edustajaan ohjeiden saamiseksi. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselőjétől. / Rivolgersi al rappresentante BD di zona per istruzioni. / Нұсқаулар үшін жергілікті BD өкілімен хабарласыңыз. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Neem contact op met uw plaatselijke BD-vertegenwoordiger voor instructies. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o representante local da BD para instruções. / Pentru instrucțiuni, contactați reprezentantul local BD. / Для получения указаний обратитесь к местному представителю компании BD. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Kontakta närmaste BD-representant för anvisningar. / Talimatlar için yerel BD temsilcinizle temasa geçin. / За інструкціями зверніться до місцевого представника компанії BD.

## DESTINAZIONE D'USO

Il test BD MAX Check-Points CPO eseguito sul sistema BD MAX è un test PCR in tempo reale diagnostico qualitativo in vitro automatizzato, per la rilevazione e differenziazione dei geni delle carbapenemasi *bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>NDM</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>*/*bla<sub>IMP</sub>* e *bla<sub>OXA-48</sub>*, associati alla non-sensibilità ai carbapenemi in batteri gram-negativi. Il test non fa distinzione tra i geni *bla<sub>VIM</sub>* e *bla<sub>IMP</sub>*.

Il test BD MAX Check-Points CPO è inteso allo scopo di aiutare a controllare le infezioni nella rilevazione dei batteri non-sensibili ai carbapenemi che colonizzano i pazienti in ambienti sanitari. L'utilizzo del test BD MAX Check-Points CPO non è inteso allo scopo di dare indicazioni circa il trattamento di infezioni batteriche non-sensibili ai carbapenemi né il loro monitoraggio. Un risultato negativo del test BD MAX Check-Points CPO non esclude la presenza di altri meccanismi di resistenza.

Il test viene eseguito su tamponi rettali di pazienti a rischio di colonizzazione intestinale da parte di batteri non-sensibili ai carbapenemi. L'uso del test è da intendersi in combinazione con il quadro clinico, i risultati di laboratorio e le informazioni epidemiologiche. I risultati di questo test non devono essere utilizzati in maniera esclusiva per le decisioni riguardanti la gestione del paziente. Per consentire la crescita di organismi per effettuare tipizzazione a scopi epidemiologici, test di sensibilità agli antimicrobici e per ulteriore conferma di identificazione batterica, è necessario effettuare, in concomitanza, delle colture del campione.



P0226(02)

## SINTESI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

La comparsa e la diffusione in tutto il mondo di batteri Gram-negativi non sensibili ai carbapenemi costituisce una seria minaccia per la salute pubblica. Questi organismi sono associati ad alti tassi di mortalità e hanno un potenziale di alta diffusione. La causa più comune della resistenza ai carbapenemi nei batteri Gram-negativi è l'espressione delle carbapenemasi. Esistono cinque tipi principali di geni di carbapenemasi, che si riscontrano più frequentemente in campioni clinici umani: KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemasi), VIM (Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lattamasi), NDM (New Delhi metallo- $\beta$ -lattamasi), OXA-48 (Oxacillinasi-48 e varianti del tipo OXA-48), o IMP (Imipenemasi).

Il test BD MAX Check-Points CPO può essere eseguito in circa 2,5 ore, rispetto ai metodi di coltura che richiedono 48 ore per un risultato negativo e fino a 96 ore per un risultato positivo confermato. Il test BD MAX Check-Points CPO rileva la presenza di geni di carbapenemasi in batteri Gram-negativi e include un controllo interno del trattamento dei campioni. Il test BD MAX Check-Points CPO automatizza il processo di saggio e minimizza l'intervento dell'operatore dal momento in cui il campione viene posto nel sistema BD MAX fino a quando i risultati sono resi disponibili.

Il campione consiste in un tampone rettale che dopo il prelievo va trasportato in laboratorio. Il campione viene omogeneizzato e un'aliquota trasferita in una provetta tampone campione BD MAX Check-Points CPO Sample Buffer Tube. La provetta tampone campione viene inserita nel sistema BD MAX e hanno quindi luogo le seguenti procedure automatizzate: lisi delle cellule batteriche, estrazione e concentrazione del DNA, reidratazione del reagente, amplificazione dell'acido nucleico e rilevamento della sequenza dell'acido nucleico bersaglio usando la reazione a catena della polimerasi (PCR) in tempo reale. I bersagli amplificati vengono rilevati con sonde di idrolisi marcate con fluorofori smorzati. Il test include anche un controllo del trattamento dei campioni, che è presente nella provetta di estrazione e viene sottoposto alle medesime fasi di estrazione, concentrazione e amplificazione per monitorare le sostanze inibenti e i malfunzionamenti di strumenti o i difetti dei reagenti. Una volta caricati il campione clinico e la striscia dei reagenti nel sistema BD MAX, non è necessario nessun intervento dell'operatore. L'amplificazione, il rilevamento e l'interpretazione dei segnali vengono eseguiti automaticamente dal sistema BD MAX.

## PRINCIPI DELLA PROCEDURA

I campioni di tampone rettale vengono prelevati dai pazienti usando ESwabs. Dopo il prelievo vengono trasportati al laboratorio nel mezzo di trasporto di Amies dell'ESwab. L'ESwab viene centrifugata e poi un'aliquota di 50 µl trasferita nella provetta campione usando una pipetta con punta filtro monouso. La provetta campione viene sigillata con un tappo a setto e centrifugata. Una volta generata la lista di lavoro e caricati i campioni clinici sullo strumento BD MAX, insieme a una striscia di reagenti BD MAX Check-Points CPO e una cartuccia PCR BD MAX, si avvia la procedura e non è più richiesto alcun intervento dell'operatore. Il sistema BD MAX automatizza la preparazione del campione, inclusa la lisi dell'organismo bersaglio, l'estrazione e la concentrazione del DNA, la reidratazione del reagente, l'amplificazione e il rilevamento della sequenza dell'acido nucleico per mezzo della PCR in tempo reale. L'interpretazione del segnale viene eseguita automaticamente dal sistema BD MAX. Il test include anche un controllo del trattamento dei campioni, fornito nella provetta di estrazione e sottoposto a fasi di estrazione, concentrazione e amplificazione. Il controllo del trattamento dei campioni monitora la presenza di eventuali sostanze inibitrici nonché guasti del sistema o dei reagenti.

Dopo la lisi enzimatica cellulare ad alta temperatura, gli acidi nucleici rilasciati vengono catturati su sfere ad affinità magnetica. Le sfere, con gli acidi nucleici legati, vengono lavate e gli acidi nucleici eluiti. Il DNA eluito viene neutralizzato e trasferito nella provetta Master Mix per reidratare i reagenti della PCR. Dopo la reidratazione, il sistema BD MAX eroga un volume fisso di soluzione pronta per PCR nella cartuccia PCR del sistema BD MAX. Le microvalvole nella cartuccia BD MAX PCR vengono chiuse dal sistema prima di iniziare la PCR per contenere la miscela di amplificazione, prevenendo in questo modo evaporazione e contaminazione. I DNA bersaglio amplificati vengono rilevati tramite sonde di idrolisi (TaqMan®), marcate a un'estremità con un colorante indicatore fluorescente (fluoroforo) e all'altra estremità con una porzione quencher. Sonde marcate con differenti fluorofori sono utilizzate per rilevare ampliconi per i geni delle carbapenemasi KPC, VIM, OXA48, NDM, IMP e il controllo del trattamento dei campioni in cinque diversi canali ottici del sistema BD MAX.

I geni VIM e IMP sono combinati in un canale ottico del sistema BD MAX, tutti gli altri geni hanno un canale ottico separato. Quando le sonde sono nel loro stato nativo, la fluorescenza del fluoroforo si spegne a causa della sua vicinanza al quencher. Tuttavia, in presenza di DNA bersaglio, le sonde si ibridano alle loro sequenze complementari e vengono idrolizzate dall'attività 5'-3' esonucleasi della polimerasi DNA quando sintetizza il filamento nascente lungo il DNA stampo. Come risultato, i fluorofori vengono separati dalle molecole quencher e viene emessa la fluorescenza. Il sistema BD MAX controlla questi segnali ad ogni ciclo e interpreta i dati alla fine del programma per indicare i risultati finali.

Indice	Quantità
<b>BD MAX Check-Points CPO Master Mix (F6)</b> <i>PCR MasterMix essiccato contenente controllo del trattamento dei campioni e inneschi gene-specifici per carbapenemasi e sonde TaqMan.</i>	24 test (2 x 12 provette)
<b>BD MAX Check-Points CPO Reagent Strips</b> <i>Striscia reagente unitaria contenente tutti i reagenti liquidi e punte per pipette monouso necessarie per l'estrazione del DNA.</i>	24 test
<b>BD MAX Check-Points CPO Extraction Tubes</b> <i>Pellet essiccato contenente sfere di affinità magnetica per DNA, reagenti proteasi e controllo del trattamento dei campioni.</i>	24 test (2 x 12 provette)
<b>BD MAX Check-Points CPO Sample Buffer Tubes</b>	24 test
<b>Tappi con setto</b>	25

## ATTREZZATURA E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Sistema BD MAX (BD, Cat. N. 441916)
- BD MAX PCR Cartridges (BD, Cat. N. 437519)
- Mixer Vortex
- Pipette e puntali monouso (con filtri) per volumi di 50 µl
- Camice e guanti monouso senza talco
- Dispositivi di campionamento: tampone Copan ESwab, (Copan, Cat. N. 480CE) o BD ESwab (BD, Cat. N. 220245)

Mezzi di coltura suggeriti per gli isolati di controllo (si veda paragrafo Controllo di qualità): Columbia Agar con 5% di sangue di montone (per es., BD™ Columbia Agar con 5% di sangue di montone BD, Cat. N. 254005).

## AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Il test BD MAX Check-Points CPO è destinato a uso diagnostico *in vitro*.
- Questo prodotto può essere utilizzato solo su un sistema BD MAX.
- Non utilizzare il kit se l'etichetta che sigilla la confezione esterna è danneggiata.
- Non utilizzare i reagenti se i sacchetti protettivi sono aperti o danneggiati al momento dell'arrivo.
- Dopo ogni utilizzo, chiudere tempestivamente i sacchetti protettivi dei reagenti con la chiusura lampo. Prima della chiusura, rimuovere l'aria in eccesso dai sacchetti.
- Controllare che le strisce di reagenti siano riempite con la quantità adeguata di liquido (assicurarsi che i liquidi siano sul fondo delle provette) (si veda Figura 1).
- Controllare le strisce di reagenti per assicurarsi che tutti i puntali delle pipette siano presenti (si veda Figura 1).
- Non rimuovere l'essiccante dai sacchetti dei reagenti.
- Non utilizzare i reagenti se l'essiccante non è presente o è rotto all'interno dei sacchetti protettivi.
- Non utilizzare i reagenti se l'alluminio è rotto o danneggiato.
- Non mescolare reagenti provenienti da sacchetti e/o kit e/o lotti diversi.
- Non scambiare o riutilizzare i tappi, in quanto ciò può causare contaminazione e compromettere i risultati dei test.
- Procedere con cautela quando si usano soluzioni chimiche, in quanto la leggibilità dei codici a barre di Master Mix e della provetta d'estrazione potrebbe venire alterata.
- Non utilizzare reagenti e/o materiali scaduti.
- Per la corretta esecuzione di questo test, è essenziale una buona tecnica di laboratorio. Considerata l'elevata sensibilità analitica di questo test, è necessaria estrema cura nel preservare la purezza di tutti i materiali e reagenti.
- Per evitare la contaminazione da ampliconi, non disgregare le cartucce PCR BD MAX dopo l'uso. I sigilli delle cartucce PCR BD MAX sono stati progettati per evitare la contaminazione.
- L'esecuzione del test BD MAX Check-Points CPO fuori dagli intervalli di tempo consigliati può restituire risultati non validi. I test eseguiti al di fuori degli intervalli di tempo specificati devono essere ripetuti con nuovi campioni.
- Possono essere effettuati ulteriori controlli in conformità con le linee guida o i requisiti locali, provinciali, regionali e/o statali o delle organizzazioni di accreditamento.
- Nel caso in cui nel laboratorio si eseguano colture o altri esami PCR, si deve porre massima attenzione affinché il BD MAX Check-Points CPO, qualsiasi altro reagente richiesto e il sistema BD MAX non vengano contaminati. Evitare in qualsiasi circostanza la contaminazione microbica e con deossiribonucleasi (DNasi) dei reagenti. Cambiare i guanti prima di manipolare reagenti e cartucce.
- Maneggiare sempre i campioni come se fossero contagiosi e in conformità con procedure sicure di laboratorio, come quelle descritte nel documento CLSI M29<sup>1</sup> e nel manuale di Biosicurezza nei laboratori microbiologici e biomedici.<sup>2</sup>
- Durante la manipolazione di tutti i reagenti, indossare indumenti protettivi e guanti monouso.
- Lavare accuratamente le mani dopo l'esecuzione del test.
- Non fumare, bere, masticare o mangiare nelle aree dove vengono maneggiati i campioni o i reagenti del kit.
- Smaltire i reagenti non utilizzati e i rifiuti in conformità con le norme locali, provinciali, regionali e/o statali.
- Per ulteriori avvertenze, precauzioni e procedure, consultare il Manuale utente del sistema BD MAX<sup>3</sup>.

## CONSERVAZIONE E STABILITÀ

### Stabilità del campione

I campioni raccolti, durante il trasporto, devono essere conservati tra 2°C e 25°C. Proteggerli dall'esposizione a calore eccessivo.

I campioni possono essere conservati per un massimo di 48 ore (2 giorni) a una temperatura compresa tra 2 e 25°C prima del test.

I reagenti e i componenti di BD MAX Check-Points CPO sono stabili a 2-25°C fino alla data di scadenza indicata. Non utilizzare componenti scaduti.

### Conservazione dei componenti del kit

BD MAX Check-Points CPO Master Mix Tubes e BD MAX Check-Points CPO Extraction Tubes sono fornite in buste sigillate. Per proteggere i reagenti dall'umidità, risigillare il sacchetto subito dopo l'apertura. Le provette Master Mix e le provette d'estrazione sono stabili fino a 14 giorni a 2-25°C dopo l'apertura iniziale e risigillatura del sacchetto.

## ISTRUZIONI PER USO

### Prelievo e trasporto dei campioni

Al fine di ottenere campioni adeguati, è necessario seguire accuratamente le istruzioni per l'uso del produttore del dispositivo di campionamento. Etichettare la provetta di prelievo del campione (contenente il tampone rettale in terreno Amies liquido) e trasportarla al laboratorio secondo le procedure operative normali istituzionali (si consulti la sezione Conservazione e stabilità).

### Preparazione dei campioni

**Nota: Per ogni campione e ogni controllo esterno da testare sono necessari una (1) provetta tampone campione e un (1) tappo con setto.**

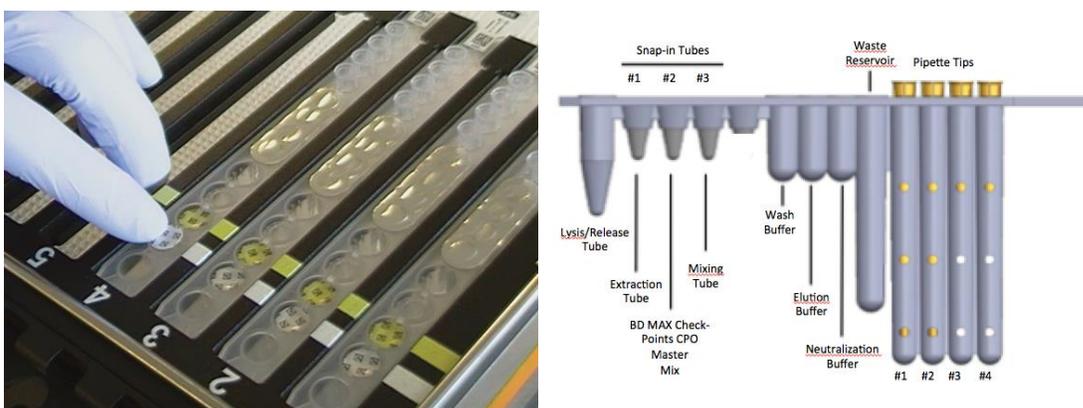
1. Etichettare la provetta ( BD MAX Sample Buffer Tube) provvista di codice a barre (tappo trasparente) con l'appropriata etichetta identificativa del campione. Non oscurare, scrivere o porre etichette sopra il codice a barre 2D.
2. Passare al vortex i tamponi rettali in mezzo liquido di trasporto Amies a bassa velocità per 5 secondi.
3. Rimuovere il tappo trasparente dalla provetta tampone campione e pipettare 50 µl del mezzo liquido di trasporto Amies nella stessa.
4. Richiudere la provetta tampone campione inocolata con un tappo con setto e passare al vortex a bassa velocità per 10 secondi.
5. Posizionare la provetta tampone campione in un rack adatto.
6. Preparare eventuali altri campioni ripetendo i passi da 1 a 5, assicurandosi che i guanti siano puliti prima di manipolare un nuovo campione.
7. Passare alla sezione Funzionamento del sistema BD MAX per eseguire il test del BD MAX Check-Points CPO sul sistema BD MAX.

### Funzionamento del sistema BD MAX

**Nota: per istruzioni dettagliate, consultare il Manuale utente del sistema BD MAX<sup>3</sup> (sezione Funzionamento).**

**NOTA: Per ogni campione e ogni controllo esterno da testare sono necessari una provetta (1) Master Mix, una (1) provetta d'estrazione e una (1) striscia reagente unitaria. Tirare fuori il numero di materiali richiesto dalle loro confezioni o sacchetti protettivi. Per conservare i sacchetti di provette Master Mix o di provette d'estrazione aperti, rimuovere l'aria in eccesso e richiudere usando la chiusura lampo ermetica.**

1. Accendere il sistema BD MAX (se non già fatto) e effettuare l'accesso inserendo <nome utente> e <password>.
2. Cambiare i guanti prima di manipolare reagenti e cartucce.
3. Rimuovere il numero necessario di strisce reagenti unitarie dal kit BD MAX Check-Points CPO. Battere delicatamente ogni striscia su una superficie dura per assicurare che tutti i liquidi siano sul fondo.
4. Rimuovere dai rispettivi sacchetti protettivi il numero richiesto di provette d'estrazione e di provette Master Mix. Rimuovere l'aria in eccesso e richiudere i sacchetti con la chiusura lampo ermetica.
5. Per ogni campione da saggiare, mettere una (1) striscia reagente unitaria sul rack del sistema BD MAX, partendo dalla posizione 1 del rack A.
6. Inserire una (1) provetta d'estrazione (foglio bianco) in ciascuna striscia reagente unitaria in posizione 1, come illustrato in Figura 1.
7. Inserire una (1) provetta Master Mix (foglio verde) in ciascuna striscia reagente unitaria in posizione 2, come illustrato in Figura 1.



**Figura 1:** Inserire le provette d'estrazione BD MAX Check-Points CPO e le provette BD MAX Check-Points CPO Master Mix nelle strisce reagenti unitarie.

8. Cliccare sull'icona Esegui e inserire il numero di lotto del kit per il saggio BD MAX Check-Points CPO (per la tracciabilità dei lotti) scansionandolo con un lettore di codice a barre o inserendolo manualmente.

**NOTA: Ripetere il passaggio 8 ogni volta che si utilizza un nuovo lotto di kit.**

9. Passare alla lista di lavoro. Usando il menu a tendina selezionare <BD MAX CPO 62>.
10. Inserire l'ID della provetta tampone campione, l'ID del paziente e il codice di accettazione (se presente) nella lista di lavoro,

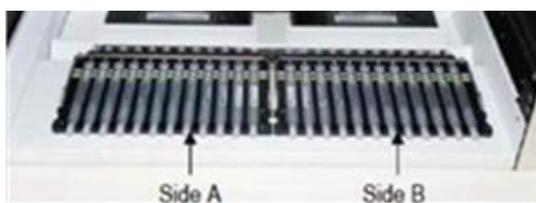
scansionando il codice a barre con il lettore oppure inserendolo manualmente.

11. Selezionare dal menu a tendina il numero di lotto del kit appropriato (si trova sull'esterno della confezione).
12. Ripetere i passaggi da 9 a 11 per le restanti provette tampone campione.
13. Collocare le provette tampone campione sul/sui rack del sistema BD MAX in corrispondenza delle strisce reagenti unitarie assemblate nei passi da 5 a 7.
14. Posizionare il numero richiesto di cartucce BD MAX PCR nel sistema BD MAX™ (si veda Figura 2).
  - Ogni cartuccia può ospitare fino a 24 campioni.
  - Il sistema BD MAX seleziona automaticamente la posizione e la fila della cartuccia PCR per ciascuna corsa.
  - Le cartucce PCR vengono utilizzate per corsa e per rack.
  - Le cartucce PCR BD MAX possono essere utilizzate più volte fino ad esaurimento file. Selezionare Esegui Wizard nella scheda Worklist per assegnare le file.
  - Per maggiori dettagli, consultare il manuale utente<sup>3</sup> del sistema BD MAX (1 cartuccia per rack).



**Figura 2:** Carico delle cartucce BD MAX PCR

15. Caricare il/i rack sul sistema BD MAX (Figura 3).
16. Chiudere il coperchio del sistema BD MAX e cliccare su **<Start>** per iniziare l'elaborazione.



**Figura 3:** Carico del rack nel sistema BD MAX

17. Al termine della corsa, controllare i risultati immediatamente o conservare le provette tampone campione a 2-25°C per un massimo di 48 h finché non si controllano i risultati.

**NOTA:** se un tappo con setto è stato danneggiato durante il ciclo, sostituirlo con uno nuovo prima di conservare il campione.

**NOTA:** quando si ottiene un risultato indeterminato (IND), irrisolto (UNR) o incompleto (INC) o quando si verifica un errore di controllo esterno, è necessario ripetere il test con la provetta tampone campione preparata (si veda "Ripetizione della procedura del test"). Se un controllo esterno non va a buon fine, ripetere il test di tutti i campioni utilizzando i controlli esterni più freschi (si veda "Controllo di qualità").

### CONTROLLO DI QUALITÀ

Le procedure di controllo di qualità servono a monitorare le prestazioni del test. I laboratori devono stabilire il numero, il tipo e la frequenza dei materiali di controllo dei test secondo le indicazioni o i requisiti delle normative locali, provinciali, regionali e/o statali o delle organizzazioni di accreditamento, in modo da monitorare l'intera procedura analitica. Per una guida generale sul controllo di qualità, si può fare riferimento ai documenti CLSI MM03 e EP12<sup>4, 5</sup>.

1. Controlli esterni positivi e negativi non vengono utilizzati dal software del sistema BD MAX ai fini dell'interpretazione del risultato del saggio del campione. I controlli esterni sono trattati come se fossero campioni di pazienti. (Si faccia riferimento alla Tabella 1 per l'interpretazione dei risultati dei test di controllo esterno).
2. Devono essere eseguiti almeno un (1) controllo positivo esterno e un (1) controllo negativo esterno al giorno fino al raggiungimento di una adeguata validazione del processo sul sistema BD MAX in ogni ambiente di laboratorio. La riduzione di frequenza dei test di

controllo deve essere conforme alle norme vigenti.

3. Il controllo positivo esterno è destinato a controllare un'eventuale inadeguatezza dei reagenti. Il controllo negativo esterno è utilizzato per rilevare una contaminazione dei reagenti o ambientale (o carry-over) di acidi nucleici bersaglio.
4. Si consigliano diverse tipologie di controlli esterni per consentire all'utente di selezionare il più appropriato per il proprio programma di controllo di qualità del laboratorio.
  - a. Controllo negativo esterno: campioni caratterizzati in precedenza noti per essere negativi o materiali di controllo disponibili in commercio, come il ceppo di controllo Gram-negativo *E. coli* ATCC 25922 che non trasporta nessuno dei geni di carbapenemasi bersaglio di BD MAX Check-Points CPO. Check-Points raccomanda di preparare il controllo negativo esterno prima di quello positivo esterno.
  - b. Controllo positivo esterno: si consiglia l'uso dei materiali di controllo disponibili in commercio che trasportano uno o più geni di carbapenemasi bersaglio di BD MAX Check-Points CPO, come i ceppi di controllo Gram-negativi NCTC elencati di seguito (si veda la tabella 1).

Per la preparazione della sospensione di controllo esterno, si raccomanda di mettere nuovamente in sospensione gli isolati in soluzione salina a una torbidità di 0,5 McFarland e di eseguire delle diluizioni seriali con soluzione salina per ottenere la diluizione finale presentata nella tabella 1. La diluizione finale dovrebbe essere eseguita in una matrice di tampone rettale negativo per riprodurre il più accuratamente possibile un vero e proprio campione clinico. Inoculare 50 µl di campione di controllo esterno nella provetta tampone campione corrispondente. Saggiare come un campione (si faccia riferimento alle sezioni Preparazione del campione e Funzionamento del sistema BD MAX).

5. Tutti i controlli esterni devono produrre i risultati attesi (positivi per il controllo positivo esterno, negativi per il controllo negativo esterno) e senza controlli esterni falliti (risultati irrisolti o indeterminati).
6. Un controllo negativo esterno che produce un risultato positivo è indicativo di un problema di manipolazione e/o di contaminazione del campione. Per evitare confusione e/o contaminazione, rivedere la tecnica di manipolazione del campione. Un controllo positivo esterno che produce un risultato negativo è indicativo di un problema di manipolazione e/o di preparazione del campione. Rivedere la tecnica di manipolazione/preparazione del campione.
7. Un controllo esterno che produce un risultato di test irrisolto, indeterminato o incompleto è indicativo di un guasto del reagente o nel sistema BD MAX. Controllare il monitor del sistema BD MAX per eventuali messaggi di errore. Per l'interpretazione dei codici di avviso e di errore, fare riferimento alla sezione Riepilogo degli errori di sistema del Manuale utente<sup>3</sup> del sistema BD MAX. Se il problema persiste, utilizzare reagenti da un sacchetto non aperto o utilizzare un nuovo Kit BD MAX Check-Points CPO.

**Tabella 1: Ceppi disponibili in commercio per il controllo positivo e negativo esterno**

Gene bersaglio	Ceppocontrollo esterno	Diluizione finale da 0,5 McFarland
<b>KPC</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (NCTC-13438)	1/1.000
<b>VIM</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (NCTC-13437)	1/5.000
<b>IMP</b>	<i>Escherichia coli</i> (NCTC 13476)	1/7.000
<b>OXA-48</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (NCTC-13442)	1/10.000
<b>NDM</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (NCTC-13443)	1/400
<b>Controllo negativo</b>	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	1/10

8. Ogni provetta d'estrazione BD MAX Check-Points CPO contiene un controllo del trattamento dei campioni che è un plasmide contenente una sequenza bersaglio di DNA sintetico. Il controllo del trattamento dei campioni monitora l'efficienza di cattura, lavaggio ed eluizione del DNA durante le fasi di lavorazione del campione, come pure l'efficienza di amplificazione e rilevazione del DNA durante l'analisi PCR. Se il risultato del controllo del trattamento dei campioni non soddisfa i criteri di accettazione, il risultato del campione viene segnalato come non risolto; tuttavia, tutti i risultati positivi dei saggi vengono riportati e nessun bersaglio viene chiamato NEG. Un risultato non risolto è indicativo di inibizione associata al campione o di guasto dei reagenti.

#### **INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

I risultati sono disponibili nella scheda nella finestra sul monitor del sistema BD MAX. Il software del sistema BD MAX interpreta automaticamente i risultati dei test. I risultati vengono riportati per ciascuno degli analiti e per il controllo del trattamento dei campioni. Un risultato del test può essere chiamato NEG (negativo), POS (positivo) o UNR (irrisolto) in base allo stato di amplificazione del bersaglio e del controllo del trattamento dei campioni. I risultati IND (indeterminato) o INC (incompleto) sono dovuti a errori del sistema BD MAX.

**Tabella 2: Interpretazione dei risultati di un test BD MAX Check-Points CPO**

<b>Risultato di test riportato</b>	<b>Interpretazione del risultato</b>
KPC POS	Rilevato gene KPC
KPC NEG	Nessun gene KPC rilevato
VIM e/o IMP POS	Rilevato gene VIM e/o IMP
VIM e/o IMP NEG	Nessun gene VIM o IMP rilevato
OXA POS	Rilevato gene OXA-48
OXA NEG	Nessun gene OXA-48 rilevato
NDM POS	Rilevato gene NDM
NDM NEG	Nessun gene NDM rilevato
UNR	Irrisolto: campione inibitorio o guasto del reagente; nessuna amplificazione del controllo del trattamento dei campioni
IND	Indeterminato a causa di errore del sistema BD MAX (con codici di avviso o di errore*)
INC	Esecuzione incompleta (con codici di avviso o di errore*)

\* Per l'interpretazione dei codici di avviso e di errore, fare riferimento alla sezione Riepilogo degli errori di sistema del Manuale utente<sup>3</sup> del sistema BD MAX.

#### **RIPETIZIONE DELLA PROCEDURA DEL TEST**

**NOTA:** è disponibile sufficiente volume dalla provetta tampone campione per una ripetizione del test. Per le provette tampone campione conservate a 2-25°C, la ripetizione del test deve essere eseguita entro 48 ore dall'inoculazione iniziale della provetta tampone campione con il campione.

**NOTA:** I nuovi campioni possono essere testati in una stessa corsa insieme a campioni di ripetizione.

#### **Risultato irrisolto**

Si possono ottenere risultati irrisolti nel caso in cui un'inibizione associata al campione o un reagente guasto impedisca una corretta amplificazione del bersaglio o del controllo del trattamento dei campioni. Se il controllo del trattamento dei campioni non amplifica, il campione risulterà UNR; tuttavia, verranno segnalati eventuali risultati positivi (POS). I campioni possono essere ripetuti dalle provette tampone campione corrispondenti rispettando i tempi sopra indicati. Passare al vortex e ripartire dalla sezione Funzionamento del sistema BD MAX. In alternativa, i campioni possono essere ripetuti usando il rimanente campione di tampone rettale con una nuova provetta tampone campione, rispettando i tempi sopra indicati. Ripartire dalla sezione Preparazione del campione.

#### **Risultato indeterminato**

Nel caso si verifichi un errore di sistema, possono aversi dei risultati indeterminati. I campioni possono essere ripetuti dalle provette tampone campione corrispondenti rispettando i tempi sopra indicati. Passare al vortex e ripartire dalla sezione Funzionamento del sistema BD MAX. In alternativa, i campioni possono essere ripetuti usando il rimanente campione di tampone rettale con una nuova provetta tampone campione, rispettando i tempi sopra indicati. Ripartire dalla sezione Preparazione del campione. Per l'interpretazione dei messaggi di avviso o di codici di errore, fare riferimento al Manuale utente<sup>3</sup> del sistema BD MAX (sezione Risoluzione dei problemi).

#### **Risultato incompleto**

Si possono ottenere risultati incompleti nel caso in cui la preparazione del campione o la PCR non siano riuscite a completarsi. I campioni possono essere ripetuti dalle provette tampone campione corrispondenti rispettando i tempi sopra indicati. Passare al vortex e ripartire dalla sezione Funzionamento del sistema BD MAX. In alternativa, i campioni possono essere ripetuti usando il rimanente campione di tampone rettale con una nuova provetta tampone campione, rispettando i tempi sopra indicati. Ripartire dalla sezione Preparazione del campione. Per l'interpretazione dei messaggi di avviso o di codici di errore, fare riferimento al Manuale utente<sup>3</sup> del sistema BD MAX (sezione Risoluzione dei problemi).

#### **Insuccesso di controllo esterno**

I controlli esterni devono dare i risultati attesi. Se i campioni devono essere risaggiati a causa di un risultato non corretto di un controllo esterno, ciò va fatto insieme a controlli esterni di nuova preparazione entro i tempi sopra indicati.

#### **COLTURA DI CAMPIONI**

I microrganismi da campioni positivi devono essere coltivati e identificati secondo le normali procedure di laboratorio.

## LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- Questo prodotto può essere utilizzato solo su un sistema BD MAX.
- Risultati errati possono verificarsi a causa di errori di prelievo, di manipolazione, di conservazione, tecnici, confusione dei campioni o perché il numero di organismi presenti nel campione è inferiore alla sensibilità analitica del test.
- Se il risultato del test con BD MAX Check-Points CPO è IND, INC, o UNR (per uno o più bersagli), deve essere ripetuto.
- Il risultato positivo di un test BD MAX Check-Points CPO non indica necessariamente la presenza di organismi vitali
- L'analisi *in silico* combinata con l'analisi di inclusività prevede che siano rilevate le seguenti varianti di carbapenemasi:
  - o KPC: 2-37
  - o VIM: 1-6, 8-52, 54, 56-60
  - o Varianti di OXA-48: 48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 438-439, 484, 505, 517, 519, 566
  - o NDM: 1-24
  - o IMP: 1-4, 6-8, 10, 19-20, 23-26, 30, 34, 38, 40, 42-43, 51-52, 55, 59-61, 66, 70, 73, 76-80
- Il test BD MAX CPO Check-Points non è uno strumento di sottotipizzazione e non riporta varianti dei geni *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>KPC</sub> o *bla*<sub>OXA-48</sub>.
- Le analisi *in silico* utilizzate per prevedere le varianti rilevate dal test si basavano su un confronto delle sequenze di geni bersaglio disponibili nel database BLDB6 con le sequenze di inneschi/sonde e ampliconi del test BD MAX Check-Points CPO per ciascun gene bersaglio. Le analisi *in silico* con CLUSTALW sono state eseguite nel 2017-2018. Non sono state eseguite analisi *in silico* di nuove sequenze di varianti geniche depositate nel database dopo il 2018 per i cinque geni bersaglio.
- Mutazioni o polimorfismi nelle regioni di legame di legame con inneschi o sonde possono influenzare la rilevazione di varianti attuali, nuove o sconosciute di *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>KPC</sub> o *bla*<sub>OXA-48</sub>, generando un risultato falso negativo.
- VIM e IMP vengono rilevati nello stesso canale e quindi non differenziati.
- Come con tutti i saggi diagnostici *in vitro* basati sulla PCR, è possibile che vengano rilevati livelli estremamente bassi di bersaglio al di sotto della sensibilità analitica del test, ma in tal caso i risultati possono non essere riproducibili.
- Risultati falsi negativi possono verificarsi a causa di perdita di acido nucleico per errori nel prelievo, trasporto o conservazione dei campioni o a causa di insufficiente lisi delle cellule batteriche. Il controllo del trattamento dei campioni è stato aggiunto al test per facilitare l'identificazione di campioni che contengono inibitori dell'amplificazione della PCR. Il controllo del trattamento dei campioni non indica se la perdita di acido nucleico è stata causata da errori nel prelievo, trasporto o conservazione dei campioni o se le cellule batteriche non sono state adeguatamente lisate.
- I campioni eccessivamente o pesantemente contaminati possono portare a risultati irrisolti (UNR) a causa dell'inibizione.
- Come con tutti i test diagnostici *in vitro*, valori predittivi positivi e negativi sono altamente dipendenti dalla prevalenza. Le prestazioni di BD MAX Check-Points CPO possono variare a seconda della prevalenza e della popolazione saggiata.
- La provetta tampone campione non è stato progettata per mantenere la vitalità dei microrganismi. Se è necessario fare una coltura, deve essere eseguita dal campione originale.
- Questo test è di tipo qualitativo e non fornisce valori quantitativi né indica la quantità di microrganismi presenti.
- Le prestazioni del test BD MAX Check-Points CPO non sono state valutate con campioni di tampone rettale da pazienti pediatrici.
- La rilevazione di *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>KPC</sub> e/o *bla*<sub>OXA-48</sub> da campioni di tampone rettale può derivare da organismi diversi da *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*.
- Le prestazioni del test BD MAX Check-Points CPO con isolati sensibili contenenti sequenze di geni *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>KPC</sub> e/o *bla*<sub>OXA-48</sub> non sono state valutate.

## CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE

Le caratteristiche di prestazione clinica del test BD MAX Check-Points CPO sono state determinate in uno studio sperimentale multicentrico e uno studio che ha impiegato dei campioni artificiali. Lo studio ha riguardato complessivamente cinque (5) centri clinici geograficamente diversi, in cui i campioni di tampone rettale sono stati raccolti come parte della routine di cura del paziente, inclusi nello studio clinico e testati con BD MAX Check-Points CPO. I campioni sono stati ottenuti da pazienti a rischio di colonizzazione intestinale ad opera di batteri non-sensibili ai carbapenemi. Come metodo di riferimento è stata utilizzata una coltura batterica per il recupero di isolati non sensibili dai campioni di tampone rettale, seguita dalla rilevazione di geni di resistenza agli antibiotici con PCR e sequenziamento. La coltura batterica comprendeva sia la piastratura diretta su chromID Carba e chromID OXA48 sia l'arricchimento notturno in brodo MacConkey seguito dalla piastratura su agar MacConkey con un disco con 10 ug di meropenem. Per i campioni artificiali, ceppi ben caratterizzati sono stati aggiunti alla matrice unica di tampone rettale negativo in prossimità del limite di rilevazione e analizzati con BD MAX Check-Points CPO. I ceppi sono stati inoltre analizzati con PCR e sequenziamento.

Nella valutazione clinica sono stati inclusi un totale di 1486 campioni prospettici e 166 campioni artificiali. Poiché 13 campioni prospettici sono risultati non refertabili, i campioni prospettici inclusi nella valutazione della prestazione sono stati 1473. Le tabelle da 3 a 6 mostrano le caratteristiche di prestazione del test BD MAX Check-Points CPO osservate durante la sperimentazione clinica.

### Percentuale di risultati non refertabili

Di tutti i campioni esaminati, l'1,9% (28/1486) e lo 0% (0/166), rispettivamente per campioni prospettici e artificiali, sono risultati inizialmente irrisolti, incompleti o indeterminati. Dopo un test di ripetizione valido di 17 campioni su 28 (11 non sono stati ripetuti), lo 0,1% (2/1475) e lo 0%, rispettivamente per i campioni prospettici e artificiali, sono rimasti irrisolti.

### Risultati delle prestazioni con organismi che producono KPC

Le prestazioni cliniche per KPC nello studio prospettico e nello studio su campioni artificiali sono sintetizzate nella Tabella 3 seguente.

**Tabella 3. KPC - Prestazione complessiva**

KPC		Prospettici						Artificiosi	
		MacConkey PCR/Sequenziamento		chromID PCR/Sequenziamento		MacConkey + chromID PCR/Sequenziamento		PCR/Sequenziamento	
		POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG
BD MAX Check-Points CPO	POS	23	10	28	5	30	3	30	0
	NEG	3	1437	1	1439	4	1436	0	136
Sensibilità/PPA (95% CI)		88.5% (71.0-96.0%)		96.6% (82.8-99.4%)		88.2% (73.4-95.3%)		100% (88.6-100%)	
Specificità/NPA (95% CI)		99.3% (98.7 – 99.6)		99.7% (99.2 – 99.9)		99.8% (99.4 – 99.9)		100% (97.3 – 100)	

**Risultati delle prestazioni con organismi che producono VIM e IMP**

Le prestazioni cliniche per VIM/IMP nello studio prospettico e nello studio su campioni artificiali sono sintetizzate nella Tabella 4 seguente.

**Tabella 4. VIM/IMP - Prestazione complessiva**

VIM/IMP		Prospettici						Artificiosi	
		MacConkey PCR/Sequenziamento		chromID PCR/Sequenziamento		MacConkey + chromID PCR/Sequenziamento		PCR/Sequenziamento	
		POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG
BD MAX Check-Points CPO	POS	5	12	4	13	6	11	50	0
	NEG	0	1456	2	1454	2	1454	2	114
Sensibilità/PPA (95% CI)		100% (56.6-100%)		66.7% (30.0-90.3%)		75.0% (40.9-92.9%)		96.2% (87.0-98.9%)	
Specificità/NPA (95% CI)		99.2% (98.6 – 99.5)		99.1% (98.5 – 99.5)		99.2% (98.7 – 99.6)		100% (96.7 – 100)	

**Risultati delle prestazioni con organismi che producono OXA48**

Le prestazioni cliniche per OXA-48 nello studio prospettico e nello studio su campioni artificiali sono sintetizzate nella Tabella 5 seguente.

**Tabella 5. OXA48 - Prestazione complessiva**

OXA-48		Prospettici						Artificiosi	
		MacConkey PCR/Sequenziamento		chromID PCR/Sequenziamento		MacConkey PCR/Sequenziamento		chromID PCR/Sequenziamento	
		POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG
BD MAX Check-Points CPO	POS	20	20	25	15	25	15	30	0
	NEG	1	1432	0	1433	1	1432	0	136
Sensibilità/PPA (95% CI)		95.2% (77.3-99.2%)		100% (86.7-100%)		96.2% (81.1-99.3%)		100% (88.6-100%)	
Specificità/NPA (95% CI)		98.6% (97.9 – 99.1)		99.0% (98.3 – 99.4)		99.0% (98.3 – 99.4)		100% (97.3 – 100)	

**Risultati delle prestazioni con organismi che producono NDM**

Le prestazioni cliniche per NDM nello studio prospettico e nello studio su campioni artificiali sono sintetizzate nella Tabella 6 seguente.

Tabella 6. NDM - Prestazione complessiva

NDM		Prospettici						Artificiosi	
		MacConkey PCR/Sequenziamento		chromID PCR/Sequenziamento		MacConkey + chromID PCR/Sequencing		PCR/Sequencing	
		POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG	POS	NEG
BD MAX Check-Points CPO	POS	1	1	1	1	1	1	30	0
	NEG	0	1471	0	1471	0	1471	0	136
Sensibilità/PPA (95% CI)		100% (20.7-100%)		100% (20.7-100%)		100% (20.7-100%)		100% (88.6-100%)	
Specificità/NPA (95% CI)		99.9% (99.6 – 100)		99.9% (99.6 – 100)		99.9% (99.6 – 100)		100% (97.3 – 100)	

#### Inclusività analitica

In questo studio sono stati inclusi una gamma di organismi bersaglio di BD MAX Check-Points CPO e di varianti del gene di carbapenemasi. Tra i criteri di selezione dei ceppi sono stati presi in considerazione la prevalenza e l'importanza clinica. Sono stati testati novantatré (93) ceppi, inclusi ceppi di collezioni pubbliche e isolati clinici ben caratterizzati.

Il test di inclusività ha esaminato 16 specie diverse e 17 ceppi di KPC rappresentanti 2 varianti, 17 ceppi di VIM rappresentanti 7 varianti, 18 ceppi di IMP rappresentanti 7 varianti, 20 ceppi di OXA48 rappresentanti 7 varianti, 17 ceppi di NDM rappresentanti 4 varianti e 4 ceppi contenenti due geni di carbapenemasi bersaglio. I ceppi sono stati testati in triplice copertura a un LoD (limite di rilevazione) 3x. BD MAX Check-Points CPO ha identificato correttamente 90 dei 93 ceppi testati durante il primo test. Tre ceppi, un *Enterobacter cloacae* con IMP-34, una *Pseudomonas aeruginosa* con IMP-4 e una *Klebsiella pneumoniae* con NDM-1, sono stati rilevati durante il test di ripetizione a un LoD di 10x.

Tabella 7: BD MAX Check-Points CPO Risultati di inclusività rispetto alla previsione *in silico*

Bersaglio	Risultati di inclusività			Previsione <i>in silico</i>
	N. di ceppi	Varianti rilevate	Varianti non rilevate	
KPC	17	KPC-2, 3	-	KPC-2-37
VIM	19	VIM-1, 2, 4, 19, 26, 27, 31	-	VIM-1-6, 8-52, 54, 56-60
IMP	20	IMP-1, 3, 4, 7, 8, 26, 34,	-	IMP-1-4, 6-8, 10, 19, 20, 23-26, 30, 34, 38, 40, 42-43, 51, 52, 55, 59-61, 66, 70, 73, 76-80
OXA-48	22	OXA-48, 162, 163, 181, 204, 232, 244	-	OXA-48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 438, 439, 484, 505, 517, 519, 566
NDM	19	NDM-1, 5, 6, 7	-	NDM-1-24

In sintesi, tutte le varianti testate e previste rilevate dall'analisi *in silico* sono state rilevate da BD MAX Check-Points CPO. Inoltre, IMP-7 e OXA-163 non previsti rilevati dall'analisi *in silico* sono stati rilevati da BD MAX Check-Points CPO. IMP-43, -51 e -73 hanno le stesse sequenze di inneschi e sonde bersaglio di IMP-7 e OXA-438-439 hanno le stesse sequenze di inneschi e sonde bersaglio di OXA-163, si può quindi supporre che siano state rilevate dal test BD MAX Check-Points CPO.

#### Sensibilità analitica (limite di rilevazione)

La sensibilità analitica (limite di rilevazione o LoD) per il test BD MAX Check-Points CPO è stata determinata utilizzando due ceppi per ciascun gene di carbapenemasi, per un totale di 10 ceppi. Le sospensioni cellulari batteriche di ogni ceppo sono state preparate e quantificate dalla coltura prima dell'inserimento in questo studio. È stato preparato un totale di sei diluizioni seriali 1:2 in matrice rettale negativa per tutti i ceppi, alle concentrazioni di prova in cui si prevedeva fosse compreso il LoD per ogni gene di carbapenemasi bersaglio. I risultati di 10 repliche di ogni concentrazione sono state analizzate utilizzando 3 strumenti BD MAX e 3 lotti di reagenti e materiali di consumo per ottenere il valore stimato di LoD. Ai fini di questo studio, il LoD stimato è stato definito come la più bassa concentrazione di cellule bersaglio a cui 10 repliche su 10 hanno dato un risultato positivo. Il LoD è stato quindi confermato mediante il saggio di 20 repliche per ogni ceppo al LoD stimato. La sensibilità analitica (LoD), definita come la concentrazione più bassa alla quale ≥ 95% di tutte le repliche dovrebbero risultare positive, ha mostrato una variazione da 144 a 4774 CFU/mL di tampone campione dopo aver dispensato il tampone rettale nella provetta tampone campione.

**Tabella 8: BD MAX Check-Points CPO Limite di rilevazione bersagli individuali**

Bersaglio	Ceppo	Specie	CFU/mL	%
KPC	CP254	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2005	95%
	CP365	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3560	100%
VIM	CP260	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	159	100%
	CP433	<i>Enterobacter cloacae</i>	520	95%
IMP	CP253	<i>Escherichia coli</i>	319	100%
	CP149	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	144	95%
OXA	CP258	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	229	95%
	CP411	<i>Escherichia coli</i>	902	95%
NDM	CP259	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4774	100%
	CP184	<i>Escherichia coli</i>	4492	95%

**Specificità analitica (Reattività incrociata ed esclusività)**

Il test BD MAX Check-Points CPO è stato eseguito su campioni contenenti specie filogeneticamente correlate e altri organismi che è probabile trovare nei campioni di tampone rettale. Inoltre, sono state testate delle specie che solitamente contengono i geni di carbapenemasi bersaglio di BD MAX Check-Points CPO, prive tuttavia del gene di carbapenemasi o di una diversa carbapenemasi o di un altro gene di resistenza agli antibiotici. Le cellule batteriche sono state seminate in una matrice di tampone rettale negativo a una concentrazione di  $\sim 5 \times 10^8$  cellule/mL. Complessivamente, sono stati testati 26 organismi in 3 repliche, elencati nella tabella 9. Tutti gli organismi sono risultati negativi.

**Tabella 9. Organismi testati per determinare la specificità di BD MAX Check-Points CPO**

ID Ceppo	Specie	Riferimento	Gene B-lattamasi
CP-575	<i>Campylobacter jejuni</i>	CCUG-41359	Nessuno
CP-521	<i>Citrobacter freundii</i>	N/A	CTX-M9 ESBL
CP-338	<i>Citrobacter braakii</i>	N/A	GES Carbapenemasi
CP-568	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	CCUG-37874	Nessuno
CP-484	<i>Enterobacter aerogenes</i>	N/A	Nessuno
CP-034	<i>Enterobacter cloacae</i>	N/A	CTX-M9 ESBL
CP-573	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	CCUG-55879	Nessuno
CP-574	<i>Enterococcus faecalis</i>	CCUG-9997	Nessuno
CP-048	<i>Escherichia coli</i>	N/A	CTX-M1 ESBL
CP-576	<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG-17874	Nessuno
CP-058	<i>Klebsiella oxytoca</i>	N/A	CTX-M9 ESBL
CP-012	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	N/A	SHV-ESBL
CP-570	<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG-33548	Nessuno
CP-357	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	N/A	PER ESBL
CP-132	<i>Salmonella typhimurium</i>	N/A	pAmpC
CP-519	<i>Raoultella sp.</i>	N/A	SHV & CTX-M9 ESBL
CP-571	<i>Staphylococcus aureus</i>	CCUG-9128	Nessuno
CP-250	<i>Serratia marcescens</i>	N/A	Nessuno
CP-009	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	N/A	SHV & CTX-M9 ESBL; pAmpC
CP-284	<i>Acinetobacter baumannii</i>	N/A	OXA-23 Carbapenemasi
CP-503	<i>Morganella morganii</i>	N/A	Nessuno
CP-319	<i>Providencia stuartii</i>	N/A	VEB ESBL
CP-567	<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG-6325	Nessuno
CP-569	<i>Streptococcus agalactiae</i>	CCUG-29780	Nessuno
CP-052	<i>Proteus mirabilis</i>	N/A	pAmpC
CP-440	<i>Acinetobacter baumannii</i>	N/A	OXA-58 Carbapenemase

N/A: Ceppo della raccolta in-house senza numero di riferimento

**Sostanze interferenti**

Ventinove (29) sostanze biologiche e chimiche, che possono essere presenti occasionalmente in campioni di tampone rettale, sono state testate per valutare potenziali interferenze con il test BD MAX Check-Points CPO e sono elencate nella tabella 10. Tutte le sostanze sono state esaminate a una concentrazione di prova dello 0,25% w/v (2,5 mg/ml) in una matrice di tampone rettale negativo. I campioni di prova includevano una matrice di tampone rettale negativo seminata con organismi bersaglio a un LoD 3x (campioni positivi) o non seminata (campioni negativi). Per ogni sostanza sono stati testati 6 campioni positivi e 6 negativi. I risultati non hanno mostrato alcuna interferenza degna di nota con nessuna delle sostanze testate (vedere la tabella 10).

**Tabella 10. Sostanze che non interferiscono con BD MAX Check-Points CPO**

Oli e acidi grassi	Sali metallici	Antibiotici	Analgesici
Acido stearico	Ba <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Cefalexina	Naprossene
Acido palmitico	CaCO <sub>3</sub>	Ciprofloxacina	Benzocaina
Olio minerale	Al(OH) <sub>3</sub>	Polimixina B	Fenilefrina
Simeticone	Mg(OH) <sub>2</sub>	Bacitracina	Subsalicilato di bismuto
Colesterolo		Neomicina	
Alcoli	Antagonisti dell'istamina	Tensioattivi	Altre
Resorcinolo	Famotidina	Nonoxynol-9	Idrocortisone
Etanolo	Omeprazolo	Cloruro di benzalconio	Loperamide cloridrato
	Cimetidina		Nistatina
			Senna

#### Riproducibilità interlaboratorio

La riproducibilità interlaboratorio del test BD MAX Check-Points CPO è stata determinata tramite l'analisi di un ceppo per bersaglio addizionato in una matrice di tampone rettale negativo in 2 diverse concentrazioni (1,5x LoD e 3x LoD), un ceppo non bersaglio addizionato in una matrice di tampone rettale negativo e una matrice di tampone rettale negativo in 3 diversi siti da parte di 2 operatori che hanno utilizzato 1 lotto per 5 giorni.

**Tabella 11. Risultati di riproducibilità interlaboratorio per BD MAX Check-Points CPO**

	KPC		NDM		OXA-48		VIM/IMP	
	+	-	+	-	+	-	+	-
<b>1.5x LoD</b> (95% CI)	<b>100%</b> (60/60) (94.0-100%)		<b>98.3%</b> (59/60) (91.1-99.7%)		<b>100%</b> (60/60) (94.0-100%)		<b>97.5%</b> (117/120) (92.9-99.1%)	
<b>3x LoD</b> (95% CI)	<b>100%</b> (60/60) (94.0-100%)		<b>100%</b> (60/60) (94.0-100%)		<b>100%</b> (60/60) (94.0-100%)		<b>99.2%</b> (119/120) (95.4-99.9%)	
<b>Negativi</b> (95% CI)		<b>100%</b> (100/100) (96.3-100%)		<b>100%</b> (100/100) (96.3-100%)		<b>100%</b> (100/100) (96.3-100%)		<b>100%</b> (100/100) (96.3-100%)

In sintesi, la riproducibilità interlaboratorio ha mostrato una variazione tra 100-100%, 97,5-100% e 99,2-100% per i negativi, rispettivamente a 1.5x LoD e 3x LoD.

#### Riproducibilità interlotto

La riproducibilità interlotto del test BD MAX Check-Points CPO è stata determinata tramite l'analisi di un ceppo per bersaglio addizionato in una matrice di tampone rettale negativo in 2 diverse concentrazioni (1.5x LoD e 3x LoD), un ceppo non bersaglio addizionato in una matrice di tampone rettale negativo e una matrice di tampone rettale negativo in 1 sito da parte di 2 operatori che hanno utilizzato 3 lotti per 5 giorni.

**Tabella 12. Risultati di riproducibilità interlotto per BD MAX Check-Points CPO**

	KPC		NDM		OXA-48		VIM/IMP	
	+	-	+	-	+	-	+	-
<b>1.5x LoD</b> (95% CI)	<b>100%</b> (60/60) (94.0-100%)		<b>100%</b> (60/60) (94.0-100%)		<b>100%</b> (60/60) (94.0-100%)		<b>99.2%</b> (119/120) (95.4-99.9%)	
<b>3x LoD</b> (95% CI)	<b>100%</b> (60/60) (94.0-100%)		<b>100%</b> (60/60) (94.0-100%)		<b>100%</b> (60/60) (94.0-100%)		<b>100%</b> (120/120) (96.9-100%)	
<b>Negativi</b> (95% CI)		<b>100%</b> (90/90) (95.9-100%)		<b>100%</b> (90/90) (95.9-100%)		<b>100%</b> (90/90) (95.9-100%)		<b>100%</b> (90/90) (95.9-100%)

In sintesi, la riproducibilità interlotto ha mostrato una variazione tra 100-100%, 99,2-100% e 100-100% per i negativi, rispettivamente a 1.5 x LoD e 3x LoD.

### Riproducibilità intralaboratorio

La riproducibilità intralaboratorio è stata determinata tramite l'analisi di un ceppo per bersaglio addizionato in una matrice di tampone rettale negativo in 2 diverse concentrazioni (1.5x LoD e 3x LoD), un ceppo non bersaglio addizionato in una matrice di tampone rettale negativo e una matrice di tampone rettale negativo in 1 sito da parte di 2 operatori che hanno utilizzato 1 lotto per 12 giorni.

**Tabella 13. Risultati di riproducibilità intralaboratorio per BD MAX Check-Points CPO**

	KPC		NDM		OXA-48		VIM/IMP	
	+	-	+	-	+	-	+	-
<b>1.5x LoD</b> (95% CI)	<b>100%</b> <b>(48/48)</b> (92.6-100%)		<b>100%</b> <b>(48/48)</b> (92.6-100%)		<b>97.9%</b> <b>(47/48)</b> (89.1-99.6%)		<b>99.0%</b> <b>(95/96)</b> (94.3-99.8%)	
<b>3x LoD</b> (95% CI)	<b>97.9%</b> <b>(47/48)</b> (89.1-99.6%)		<b>100%</b> <b>(48/48)</b> (92.6-100%)		<b>100%</b> <b>(48/48)</b> (92.6-100%)		<b>100%</b> <b>(96/96)</b> (96.2-100%)	
<b>Negativi</b> (95% CI)		<b>100%</b> <b>(72/72)</b> (94.9-100%)		<b>100%</b> <b>(72/72)</b> (94.9-100%)		<b>100%</b> <b>(72/72)</b> (94.9-100%)		<b>100%</b> <b>(72/72)</b> (94.9-100%)

In sintesi, la riproducibilità intralaboratorio ha mostrato una variazione tra 100-100%, 97,9-100% e 97,9-100% per i negativi, rispettivamente a 1.5 x LoD e 3x LoD.

### Infezione mista / Interferenza competitiva

Non è stata osservata interferenza nell'analisi di tredici (13) campioni contenenti un bersaglio KPC, VIM, IMP, OXA-48 o NDM da ceppi con limite di rilevazione noto addizionati a 2 volte il limite di rilevazione e uno o due altri organismi bersaglio addizionati a ~1x10<sup>6</sup> CFU/mL in matrice di tampone rettale negativo.

### Contaminazione da carry-over

La contaminazione da carry-over è stata valutata analizzando campioni negativi insieme a campioni positivi contenenti un alta carica di batteri portatori di geni di resistenza alla carbapenemasi KPC, OXA48, NDM e VIM o IMP. Le posizioni dei campioni negativi e positivi sono state alternate per aumentare la massima possibilità di contaminazione da carry-over. La matrice di tampone rettale negativo è stata impiegata per i campioni negativi e per preparare i campioni positivi inoculandola con gli organismi bersaglio a una concentrazione di 5 x 10<sup>6</sup> CFU/mL. Non sono stati rilevati risultati positivi su un totale di 166 campioni negativi.

### RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed., CLSI. Wayne, PA.
2. Centers for Disease Control and Prevention, and National Institutes of Health. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Chosewood L.C. and Wilson D.E. (eds) (2009). Numero di pubblicazione HHS (CDC) 21-1112.
3. BD MAX System User's Manual (consultare la versione più recente), BD Diagnostics, Sparks, MD, USA.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline, documento MM3 (fare riferimento all'ultima edizione).
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline. Document EP12 (fare riferimento all'ultima edizione).
6. Naas, T., Oueslati, S., Bonnin, R. A., Dabos, M. L., Zavala, A., Dortet, L., Retailleau, P. and Iorga, B. I. Beta-Lactamase DataBase (BLDB) - Structure and Function. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2017**, *32*, 917-919.



Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Produttore / Аткарушы / 제조업체 / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производитель / Výrobca / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник / 生产厂商



Use by / Използвайте до / Spotřebujte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / 사용 기한 / Upotrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейін пайдалануға / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Использовать до / Použite do / Uпотребити до / Använd före / Son kullanna tarihi / Використати до/line / 使用截止日期

YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)  
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)  
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)  
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned)  
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)  
 EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)  
 AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)  
 AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)  
 AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)  
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)  
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)  
 AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)  
 ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы)

YYYY-MM-DD/YYYY-MM (MM = 월말)  
MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mėnesio pabaiga)  
GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mėneša beigas)  
JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)  
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutten av månaden)  
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)  
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)

AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfāršitul lunii)

ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)

RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)

GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)

AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = slutet av månaden)  
YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)  
PPPP-MM-ДД / PPPP-MM (MM = кінець місяця)  
YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = 月末)



Catalog number / Каталоген номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalooginumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог номери / 카탈로그 번호 / Katalogo / numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу / Katalogové číslo / Kataloški broj / Katalog numarasi / Номер за каталогом / 目录号



Authorized Representative in the European Community / Оторизиран представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském

společenství / Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber / Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizirani predstavnik u Europskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségekben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / 유력 공동체의 위임 대표 / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autoriseret representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentantul autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС / 歐洲共同体授權代表



In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika medicinsiniaparatur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы / In Vitro Diagnostic 의료 기기 / In vitro diagnostikos prietaisai / Medicīnas ierīces, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispositiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Medicinska pomôcka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / In Vitro Diagnostik Tibbi Cihaz / Медицинский прибор для диагностики in vitro / 体外诊断医疗设备



Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμό θερμοκρασίας / Limitation de temperatura / Temperatuuri piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / 온도 제한 / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperaturulimiet / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ohraničenie teploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sicaklık sınırlaması / Обмеження температури / 温度限制



Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-kode (lot) / Batch-Code (Charge) / Κωδικός παρτίδας (παρτίδα) / Código de lote (lote) / Partii kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтама коды / 배치 코드(로트) / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Код партии (seria) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (лот) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партии / 批号 ( 亚批



Contains sufficient for tests / Съдържанието е достатъчно за теста / Dostatečné množství pro testů / Indeholder tilstrækkeligt til tests / Ausreichend für Probe / Περιέχει επαρκή ποσότητα για εξετάσεις / Contenido suficiente para pruebas / Kállaldane testide jaoks / Contenu suffisant pour prove / Sadržaj za testova / testate suficiente / Contenido suficiente per test / n > тесттері үшін жеткілікті / 테스트 가 충분히 포함됨 / Pakankamas kiekis atlikti testų / Satur pietiekami pārbaudēm / Inhoud voldoende per "n" testen / Innholder tilstrekkelig per tester / Zawiera ilość wystarczającą testów / Conteúdo suficiente para teste / Достаточное для тестов ( a ) / Obsah vystačí na testov / Sadržaj dovoljan za testova / Innehåller tillräckligt för analyzatorer / prova için yeterli miktarda içerir / Вистачить для аналізів : / 足够 进行 次检测



Consult Instructions for Use / Направете справка в инструкциите за употреба / Prostudujte pokyny k použití / Se brugsanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones de uso / Lugeđa kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / 사용 지침 참조 / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultati instrucțiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanım Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використання / 请参阅使用说明



Keep dry / Пазете сухо / Skladujte v suchém prostředí / Orbevares tørt / Trocklagern / Φυλάξτε το στεγνό / Mantener seco / Hoida kuivas / Conserver au sec / Držati na suhom / Száraz helyen tartandó / Tenere all'asciutto / Құрғақ күйінде ұста / 건조 상태 유지 / Laikykite sausiai / Uzglabāt sausu / Droog houden / Holdes tørt / Przechowywać w stanie suchym / Manter seco / A se feri de umezeală / Не допускать попадания влаги / Uchovávať v suchu / Držite na suvom mestu / Förvaras tørt / Kuru bir şekilde muhafaza edin / Берегти від вологи / 请保持干燥



Perforation / Перфорация / Perforace / Perforering / Διήτρηση / Perforación / Perforatsioon / Perforacija / Perforálás / Perforazione / Tecik tescy / 찢취선 / Perforacija / Perforãcia / Perforatie / Perforacja / Perfuração / Perforare / Перфорация / Perforãcia / Perforasyon / Перфорация / 穿孔



Keep away from light / Пазете от светлина / Nevystavujte světlu / Må ikke udsættes for lys / Vor Licht schützen / Κρατήστε το μακριά από το φως / Mantener alejado de la luz / Hoida eemal valgusest / Conserver à l'abri de la lumière / Držati dalje od svjetla / Fény nem érheti / Tenere al riparo dalla luce / Қараңғыланған жерде ұста / 빛을 피해야 함 / Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių / Sargát no gaismas / Niet blootstellen aan zonlicht / Må ikke utsettes for lys / Przechowywać z dala od źródła światła / Manter ao abrigo da luz / Feriți de lumină / Хранить в темноте / Uchovávať mimo dosahu svetla / Držite dalje od svetlosti / Får ej utsättas för ljus / Işıktan uzak tutun / Берегти від дії світла / 请远离光线

Questo prodotto è venduto sotto licenza e l'acquisto di questo prodotto non include i diritti di utilizzo per determinate applicazioni di screening del sangue e del tessuto, né per alcune applicazioni industriali.  
L'acquisto di questo prodotto consente all'acquirente di utilizzarlo per amplificare e rilevare sequenze di acido nucleico per fornire diagnostica umana in vitro. Con la presente non viene concesso nessun brevetto generale o altra licenza di alcun tipo diversi da questo specifico diritto d'uso.

Contattare il servizio tecnico e di assistenza di BD all'indirizzo [www.bd.com/ds](http://www.bd.com/ds).

Check-Points Health B.V.  
Binnenhaven 5  
6709 PD Wageningen  
Paesi Bassi

[info@check-points.com](mailto:info@check-points.com)  
[www.check-points.com](http://www.check-points.com)



ATCC è un marchio registrato della American Type Culture Collection.  
NCTC è un marchio registrato di Public Health England.  
TaqMan è un marchio registrato di Roche Molecular Systems, Inc.

© 2019 BD. BD, il logo BD e tutti gli altri marchi sono di proprietà di Becton, Dickinson e Company.