



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-004018-22-7

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-004018-22-7 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones Becton Dickinson Argentina S.R.L. solicita autorización para la venta de Productos para diagnóstico in vitro denominado Nombre descriptivo: Prueba de resistencia a antimicrobianos.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización .

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que el Instituto Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorios.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL
DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso in vitro Nombre descriptivo: Prueba de resistencia a antimicrobianos. de acuerdo con lo solicitado por Becton Dickinson Argentina S.R.L. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2023-03940189-APN-INPM#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 634-616 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTICULO 4º.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta disposición.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese. Inscríbase en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: Prueba de resistencia a antimicrobianos.

Marca comercial: 1) MBT STAR-Carba IVD Kit. 2) MBT STAR-Cepha IVD Kit.

Indicación/es de uso:

1) MBT STAR-Carba IVD Kit está indicado para su uso junto con otros resultados clínicos y de laboratorio para ayudar a conseguir una detección rápida de la actividad de las carbapenemasas prevalentes de clase A, B o D en bacterias gramnegativas Enterobacteriaceae, Pseudomonas spp. y Acinetobacter spp. cultivadas a partir de muestras humanas con el sistema IVD MALDI Biotyper.

2) MBT STAR-Cepha IVD Kit está indicado para utilizarlo junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio para detectar con mayor rapidez la actividad prevalente de cefalosporinasa hacia cefalosporinas de 3ª generación presentes en enterobacterias subcultivadas a partir de muestras humanas mediante sistema IVD MALDI Biotyper.

Modelos:

N/A

Forma de presentación: 1) MBT STAR-Carba IVD Kit: Contiene suficientes reactivos para preparar un mínimo de 20 ciclos de análisis. El MBT STAR-Carba IVD Kit contiene los siguientes componentes:

- MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent: 20 bolsas (secas), cada una con 3 tubos de un solo uso.
- MBT STAR Buffer: 2 tubos (1,75 mL cada uno)
- MBT STAR Matrix: 20 tubos (secos)
- MBT STAR Matrix Solvent: 2 tubos (1,0 mL cada uno)
- MBT STAR Calibrator: 2 tubos (secos)
- Agua deionizada: 2 tubos (200 µL cada uno)

2) MBT STAR-Cepha IVD Kit: Contiene suficientes reactivos como para preparar como mínimo 20 ciclos individuales de Análisis Cepha. El MBT STAR-Cepha IVD Kit contiene los siguientes componentes:

- MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent (seco): 1 bolsa contiene una sola placa de microtitulación de 96 pocillos.
- MBT STAR Buffer: 5 tubos (1,75 mL cada uno)
- MBT STAR Matrix: 20 tubos (seco)
- MBT STAR Matrix Solvent: 2 tubos (1,0 mL cada uno)
- MBT STAR Calibrator: 2 tubos (secos)
- Agua deionizada: 2 tubos (200 µL cada uno)

Período de vida útil y condición de conservación: 1) MBT STAR-Carba IVD Kit: 1 año, conservar entre -25° C y -18° C.

2) MBT STAR-Cepha IVD Kit: 1 año, conservar entre -25° C y -18° C.

Nombre del fabricante:

Bruker Daltonics GmbH & Co. KG.

Lugar de elaboración:

Fahrenheitstr 4, 28359 Bremen, Alemania.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Expediente N° 1-0047-3110-004018-22-7

N° Identificadorio Trámite: 40069

AM

BECTON DICKINSON ARGENTINA S.R.L.
Av. Del Libertador 110 2° Piso - C.P. B1638BEN
Vicente López – Buenos Aires - Argentina
Tel.: 0800-444-5523



RÓTULOS EXTERNOS

ORIGINAL

MBT STAR-Carba IVD Kit

MBT STAR-Carba IVD Kit  

Qualitative Class A, B or D carbapenemase activity detection
in human derived Gram-negative *Enterobacteriaceae*,
Pseudomonas spp. and *Acinetobacter* spp.

REF 1848467 **LOT** 0123456789  0000-00


GTIN 04251204325994

H225 / H315 / H319
P261 / P280
P305+P351+P338
P321 / P405 / P501

Content:

- MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent, 20 pouches, dissolve in 50µl each
- MBT STAR Buffer, 2 tubes (1.75 mL each)
- MBT STAR Matrix, 20 tubes, dissolve in 50µl
- MBT STAR Matrix Solvent, 2 tubes (1.0 mL each)
- MBT STAR Calibrator, 2 tubes, dissolve in 25 µl each
- Water, deionized, 2 tubes, 0.2 mL each

Quick Guide

 Rev# www.bruker.com/care  18°C (01) 04251204325994
-25°C (10) 0123456789
(17) 000000

 Bruker Daltonics GmbH & Co. KG - Fahrenheitstraße. 4 - 28359 Bremen - Germany
ms.sales.bdal@bruker.com - www.bruker.com/care   1848759E

Phone: +49 (0)421 2205 - 0




Krisina Valeria Traverso
C.A.E. - Empresa Técnica / Apoderada
N.º 14.733 - M.P. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

BECTON DICKINSON ARGENTINA S.R.L.
Av. Del Libertador 110 2° Piso - C.P. B1638BEN
Vicente López – Buenos Aires - Argentina
Tel.: 0800-444-5523



MBT STAR-Cepha IVD Kit

MBT STAR-Cepha IVD Kit  

Qualitative Cephalosporinase activity detection in human derived Enterobacterales.

REF 1858555 LOT 0123456789 0000-00
GTIN 04251204326007

H225 / H315 / H319
P261 / P280
P305+P351+P338
P321 / P405 / P501

Content:

- MBT STAR Buffer, 5 tubes, 1.75 mL each
- MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent, 96-well plate, dissolve in 75 µl each
- MBT STAR Matrix, 20 tubes, dissolve in 50 µl each
- MBT STAR Matrix Solvent, 2 tubes, 1.0 mL each
- MBT STAR Calibrator, 2 tubes, dissolve in 25 µl each
- Water, deionized, 2 tubes, 0.2 mL each
- Empty pressure lock bag
- Quick Guide

Rev # www.bruker.com/care -25°C -18°C

(01) 04251204326007
(10) 0123456789
(17) 0000-00

 Bruker Daltonics GmbH & Co. KG - Fahrenheitstraße 4 - 28359 Bremen - Germany
ms.sales.bda@bruker.com - www.bruker.com/care
Phone: +49 (0)421 2205 - 0

IVD CE 1858630C

SOBRE ROTULO

Becton Dickinson Argentina SRL

Depósito: Av Otto Krausse N° 4.205/ Av. Ingeniero Eiffel N° 4.180, sector J/4250, El Triángulo, Partido de Malvinas Argentinas, Prov. Buenos Aires, Argentina.

Teléfono: 0800-444-5523

E-mail: crc_argentina@bd.com

Directora Técnica: Paula Rao, Farmacéutica - MN N° 17.813

USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

Autorizado por la ANMAT N° PM 634-616


Paula Rao
Directora Técnica / Apoderada
M.N. 14.733 - M.P. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

BECTON DICKINSON ARGENTINA S.R.L.
Av. Del Libertador 110 2° Piso - C.P. B1638BEN
Vicente López – Buenos Aires - Argentina
Tel.: 0800-444-5523



INSTRUCCIONES DE USO

Manual de Instrucciones

Establecimiento importador: Becton Dickinson Argentina SRL

Depósito: Av Otto Krausse N° 4.205/ Av. Ingeniero Eiffel N° 4.180, sector J/4250, El Triángulo, Partido de Malvinas Argentinas, Prov. Buenos Aires, Argentina.

Teléfono: 0800-444-5523

E-mail: crc_argentina@bd.com

Directora Técnica: Paula Rao, Farmacéutica - MN N° 18.813

USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Autorizado por la ANMAT N° PM 634-616



Paula Rao
Directora Técnica / Apoderada
M.N. 14.733 - M.P. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

REF 1848467

Instrucciones de uso

MBT STAR-Carba IVD Kit

Para la detección de la actividad de las carbapenemasas con el MBT STAR-BL IVD
Module

Para uso en diagnóstico *in vitro*

Los productos de CARE están diseñados para proporcionar a nuestros clientes de todo el mundo consumibles, accesorios y kits exclusivos de alta calidad.

www.bruker.com/care



Idioma: es


Karina Valeria Traverso
CA Directora Técnica / Apoderada
M.N. 14.733 - M.P. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

Historial del documento

Título:	Instrucciones de uso MBT STAR-Carba IVD Kit
Revisión:	Revisión E (Mayo de 2021)
Primera revisión:	Julio de 2017

La siguiente tabla describe cambios importantes con respecto a la revisión anterior de este documento.

Sección	Cambios
-	Cambio del fabricante legal a Bruker Daltonics GmbH & Co. KG


K. Traverso
CA. Directora Técnica / Apoderada
M.N. 14.733 - M.P. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

Índice

Historial del documento	2
1 Uso previsto/finalidad prevista	4
2 Descripción del producto	4
3 Componentes del MBT STAR-Carba IVD Kit	6
4 Inspección, almacenamiento y estabilidad	6
4.1 Inspección en el momento de llegada	6
4.2 Almacenamiento en el momento de llegada	7
4.3 Información sobre el almacenamiento tras la apertura o la disolución y la estabilidad	7
5 Información de riesgo y seguridad	9
5.1 Riesgos químicos	9
5.2 Riesgos biológicos	9
6 Materiales y productos químicos necesarios (no suministrados)	10
7 Procedimientos para la preparación de muestras con el MBT STAR-Carba IVD Kit	12
7.1 Cultivo de muestras desconocidas y cepas de control	13
7.2 Preparación de reactivos	13
8 Flujo de trabajo Carba	15
8.1 Flujo de trabajo para cultivos de placas	15
8.2 Flujo de trabajo para hemocultivos positivos	18
9 Rendimiento	22
10 Limitaciones del método	23
11 Curso de formación de la aplicación del análisis Carba	24
12 Guía rápida de MBT STAR-Carba IVD Kit	25
13 Procedimiento de limpieza adicional de las placas de muestras MALDI	26
14 Símbolos	27
15 Fabricante	28


 Kátia Valeria Traverso
 C.A. Directora Técnica / Apoderada
 M.N. 14.733 - M.P. 26.293
 Becton Dickinson Argentina SRL

1 Uso previsto/finalidad prevista

Solo para uso profesional.

El MBT STAR-Carba IVD Kit es un producto médico para el diagnóstico *in vitro* cualitativo que está indicado para su uso junto con otros resultados clínicos y de laboratorio para ayudar a conseguir una detección rápida de la actividad de las carbapenemasas prevalentes de clase A, B o D en bacterias gramnegativas *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp. cultivadas a partir de muestras humanas con el sistema IVD MALDI Biotyper basado en MALDI-TOF (desorción/ionización láser asistida por matriz-tiempo de vuelo) y el MBT STAR-BL IVD Module.

Instrucciones de uso

El MBT STAR-Carba IVD Kit solamente puede detectar una actividad (hidrolítica carbapenémica) de las carbapenemasas presente en las bacterias. No es una herramienta destinada a análisis de susceptibilidad. Un resultado de no hidrólisis en el análisis no descarta la resistencia por causa de otros mecanismos. Ciertos mecanismos de resistencia alternativos (como las mutaciones de porinas, la expresión de la bomba de expulsión u otras funciones) que enmascaran la actividad de las carbapenemasas pueden provocar resultados negativos falsos.

El MBT STAR-Carba IVD Kit está diseñado para utilizarse junto con el MBT STAR-BL IVD Module.

El MBT STAR-Carba IVD Kit no se debe emplear como único método para tomar decisiones sobre el tratamiento de los pacientes. Se deben tener en cuenta otros resultados de investigación clínicos y de laboratorio.

Nota Se necesitan cultivos simultáneos a fin de recuperar bacterias para el tipado epidemiológico, el análisis adicional de la susceptibilidad antimicrobiana y la caracterización de microorganismos no detectados por el MBT STAR-Carba IVD Kit, así como a fin de diagnosticar infecciones combinadas que puede que no se detectaran.

Asimismo, los resultados los debe analizar un profesional con experiencia en microbiología clínica y la caracterización definitiva de los microorganismos se debe basar en toda la información relevante disponible. Esta información incluye, entre otras, la tinción de Gram, la morfología de la colonia, las características de crecimiento y la consideración de la matriz de muestras y los análisis adicionales.

2 Descripción del producto

Principio del MBT STAR-Carba IVD Kit

MBT STAR-Carba IVD Kit se trata de un producto médico de diagnóstico *in vitro* para realizar el análisis patentado Análisis MBT STAR-BL (MALDI Biotyper Selective Testing of Antibiotic Resistance Beta Lactamase Assay = Prueba selectiva de MALDI Biotyper para el análisis selectivo de betalactamasa de resistencia antibiótica) utilizando carbapenémico imipenem como antibiótico de referencia en un flujo de trabajo semiautomatizado. En estas instrucciones de uso, a la realización del análisis Análisis MBT STAR-BL con el MBT STAR-Carba IVD Kit se la llama análisis Carba. El reactivo del antibiótico se puede hidrolizar (hidrólisis del anillo β -lactámico) en presencia de una carbapenemasa activa.

Después de la incubación conjunta del antibiótico de referencia carbapenémico y de la muestra a analizar, la hidrólisis causada por la actividad enzimática (β -lactamasa) hacia el antibiótico (hidrólisis del anillo β -lactámico) se controla mediante espectrometría de masas con un espectrómetro de masas MALDI-TOF por medio de la detección de un cambio de masa específico en la gama de valores de masas comprendido entre 100 y 1000 *m/z*.


Kristina Valeria Traverso
Coordinadora Técnica / Apoderada
M.N. 14.733 - M.P. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

Entre las actividades de la β -lactamasa que se pueden detectar, se incluyen las de las Ambler carbapenemasas tipo serina de la clase A y D (por ejemplo, tipo KPC y OXA) y las de las betametalo-carbapenemasas de la clase B (por ejemplo, VIM, NDM e IMP) y dichas actividades se pueden detectar en un tiempo de incubación de 30 minutos en el caso de *Enterobacteriaceae* y de *Pseudomonas* spp. En el caso de *Acinetobacter* spp., se necesita un tiempo de incubación prolongado de 60 minutos a fin de lograr una detección fiable de la actividad de las carbapenemasas. Las cepas de control de calidad que provocan hidrólisis suficiente (expresión de carbapenemasas activa) y las respectivas que no provocan hidrólisis (sin expresión de carbapenemasas) se deben proporcionar en cada ciclo de análisis para facilitar el análisis de datos automatizado. El MBT STAR-Carba IVD Kit proporciona todos los reactivos y componentes necesarios para realizar el análisis Carba.

Los componentes, o bien están listos para su uso, o bien necesitan disolverse antes. Todos los componentes del MBT STAR-Carba IVD Kit deben conservarse tal como se indica. Algunos componentes se necesitan congelar o volver a congelar después de su uso.

Flujo de trabajo del MBT STAR-Carba IVD Kit

El flujo de trabajo del MBT STAR-Carba IVD Kit (denominado Flujo de trabajo Carba) es un procedimiento basado en software que ayuda al usuario durante todo el proceso de preparación y análisis del análisis Carba. El MBT STAR-BL IVD Module proporciona varios enfoques para realizar el Flujo de trabajo Carba con o sin identificación de especies, tal como se describe en el *Manual de Usuario de MBT STAR-BL IVD Module*.

El Flujo de trabajo Carba está resumido en la Figura 1.

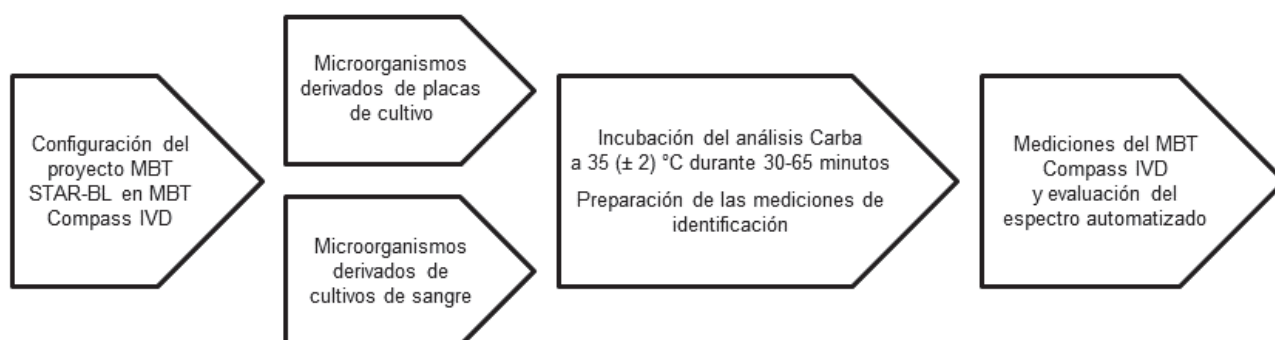


Figura 1 Resumen del Flujo de trabajo Carba semiautomatizado

Como primer paso del Flujo de trabajo Carba, el proyecto (ciclo) se define con el MBT STAR-BL IVD Module. El informe de incubación resultante y los esquemas de diseño de las placas de muestras MALDI se utilizan para servir de guía en las tareas prácticas del laboratorio (rendimiento del análisis Carba). El flujo de trabajo de **cultivo de placas** requiere la incubación conjunta de microorganismos subcultivados con el MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent y se realiza normalmente a 35 (± 2) °C durante 30-65 minutos (por ejemplo, 30 - 35 minutos para la mayoría de las enterobacterias y *Pseudomonas* spp., y 60-65 minutos en el caso de *Acinetobacter* spp. de crecimiento lento, respectivamente). Los microorganismos derivados del **hemocultivo** pueden utilizarse después del aislamiento de las células con MBT Sepsityper IVD Kit, normalmente después de un periodo de incubación de 60-65 minutos. Consulte la sección 10 para obtener información sobre las limitaciones.

A continuación, las muestras se colocan en una placa de muestras MALDI, se secan al aire libre y se recubren con las muestras disueltas de MBT STAR Matrix.

La adquisición del espectro y la evaluación automatizada de este se realizan bajo el control del MBT STAR-BL IVD Module.

El resultado de la identificación opcional y el estado de hidrólisis del microorganismo analizado se indican automáticamente.

Los principios de interpretación de los resultados se describen en el *Manual de usuario de MBT STAR-BL IVD Module*.

Verónica
 Verónica Traverso
 Coordinadora Técnica / Apoderada
 R.N. 14.733 - M.P. 20.293
 Becton Dickinson Argentina SRL

3 Componentes del MBT STAR-Carba IVD Kit

Dependiendo del uso específico, un MBT STAR-Carba IVD Kit (n.º 1848467) contiene suficientes reactivos para preparar un mínimo de 20 ciclos de análisis Carba individuales o hasta 58 muestras individuales de análisis Carba incluyendo los controles recomendados.

El MBT STAR-Carba IVD Kit contiene los siguientes componentes:

- MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent; 20 bolsas (secas), cada una con 3 tubos de un solo uso (tapa roscada blanca)
- MBT STAR Buffer; 2 tubos (1,75 mL cada uno; tapa roscada azul)
- MBT STAR Matrix; 20 tubos (secos; tapa roscada naranja)
- MBT STAR Matrix Solvent; 2 tubos (1,0 mL cada uno; tapa roscada verde)
- MBT STAR Calibrator (estándar de calibración de antibióticos); 2 tubos (secos; tapa roscada morada)
- Water, deionized; 2 tubos (200 µL cada uno; tapa roscada negra)
- Folleto de instrucciones Quick Guide (también se puede descargar desde la página www.bruker.com)

Nota Las Instrucciones de uso y las Hojas de datos de seguridad se pueden descargar en la página web www.bruker.com/CARE.

Nota Tenga cuidado de no intercambiar accidentalmente el MBT STAR Buffer por el MBT Sepsityper Lysis Buffer cuando utilice el MBT Sepsityper IVD Kit en paralelo.

4 Inspección, almacenamiento y estabilidad

4.1 Inspección en el momento de llegada

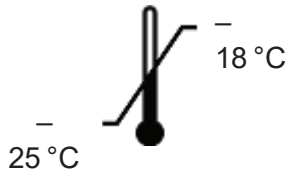
Verifique el MBT STAR-Carba IVD Kit a su llegada.

- Compruebe la integridad de todos los componentes del kit. Asegúrese de que los tubos y las bolsas de vacío (y los tubos del interior) estén intactos. Si los tubos o las bolsas de vacío están dañados o abiertos, no se deben utilizar. Si el paquete presenta daños, póngase en contacto con su representante de ventas de Bruker.
- Deseche los componentes y el paquete del MBT STAR-Carba IVD Kit siguiendo las directrices de las Hojas de datos de seguridad del producto.
- Las fechas de caducidad indicadas en el paquete y los componentes son válidas solo si se almacenan correctamente.



Kristin Valeria Traverso
C.A. Asesora Técnica / Apoderada
Tit. 14.733 - M.I. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

4.2 Almacenamiento en el momento de llegada

 <p>25 °C</p> <p>18 °C</p>	<p>MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent; MBT STAR Buffer; MBT STAR Matrix; MBT STAR Matrix Solvent; MBT STAR Calibrator; Water, deionized</p> <p>El MBT STAR-Carba IVD Kit se puede enviar a temperatura ambiente. Pero los componentes del MBT STAR-Carba IVD Kit: MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent, MBT STAR Buffer, MBT STAR Matrix, MBT STAR Matrix Solvent, MBT STAR Calibrator y Water, deionized deben almacenarse a una temperatura de -18 a -25 °C inmediatamente después de su llegada, tal y como se indica en la etiqueta.</p> <p>La fecha de caducidad mencionada en el paquete es válida para los componentes del MBT STAR-Carba IVD Kit si se almacena a una temperatura comprendida entre -18 °C y -25 °C en el momento de su llegada.</p> <p>No utilice ningún componente caducado.</p>
---	---

4.3 Información sobre el almacenamiento tras la apertura o la disolución y la estabilidad



Algunos componentes del MBT STAR-Carba IVD Kit están diseñados para el uso reiterado o se deben disolver antes de utilizarlos.

Los componentes abiertos o disueltos del kit pueden requerir condiciones de almacenamiento diferentes. Asegúrese de almacenar los componentes abiertos o disueltos en las condiciones adecuadas.


 Kriina Valeria Traverso
 C.A. Directora Técnica / Apoderada
 M.N. 14.733 - M.P. 20.293
 Becton Dickinson Argentina SRL



MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent

Nota Después de abrir una bolsa que contiene el MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent, los tres tubos se deben utilizar en un **plazo de 4 horas**. Deseche los tubos sin utilizar después de 4 horas.

 <p>– 25 °C</p> <p>– 18 °C</p>	<p>MBT STAR Buffer; MBT STAR Matrix Solvent; MBT STAR Calibrator</p> <p>Una vez abierto, el MBT STAR Buffer es estable a una temperatura comprendida entre –18 °C y –25 °C, según se indica en la etiqueta. No realice más de 10 ciclos de congelación/descongelación.</p> <p>Una vez abierto, el MBT STAR Matrix Solvent es estable a una temperatura comprendida entre –18 °C y –25 °C, según se indica en la etiqueta. No realice más de 10 ciclos de congelación/descongelación.</p> <p>Una vez disuelto, el MBT STAR Calibrator es estable a una temperatura comprendida entre –18 °C y –25 °C durante hasta 6 meses o según se indica en la etiqueta. No realice más de 10 ciclos de congelación/descongelación.</p>
 <p>+20 °C</p> <p>+25 °C</p>	<p>MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent; MBT STAR Matrix</p> <p>Una vez disuelto, el MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent es estable a una temperatura ambiente controlada (20-25 °C) durante un máximo de 4 horas.</p> <p>Una vez disuelto, la MBT STAR Matrix es estable a una temperatura ambiente controlada (20-25 °C) en la oscuridad durante un máximo de 24 horas.</p>

5 Información de riesgo y seguridad

5.1 Riesgos químicos

	<p>La MBT STAR Matrix Solvent está considerada una sustancia química peligrosa:</p> <p>GHS02 + GHS07: PELIGRO; ADVERTENCIA (H: 225, H302 + H312 + H332; H319)¹</p>
	<p>La MBT STAR Matrix está considerada una sustancia química peligrosa:</p> <p>GHS07: ADVERTENCIA (H: 315, 319, 335)²</p>

Para obtener más información, lea la Hoja de datos de seguridad que puede descargar desde www.bruker.com/msds.

Es posible que sea necesario usar más sustancias químicas y materiales en los procedimientos descritos en estas *Instrucciones de uso*. Lea con atención las advertencias, instrucciones o las hojas de datos de seguridad suministradas por el proveedor y siga las normas generales de seguridad a la hora de manipular sustancias químicas, materiales biológicos peligrosos o materiales de otro tipo.

5.2 Riesgos biológicos

El MBT STAR-Carba IVD Kit y el sistema IVD MALDI Biotyper pueden tratar con materiales biológicos potencialmente peligrosos. Todas las personas que trabajan con estos sistemas son responsables de leer y cumplir con todas las precauciones de higiene y seguridad necesarias.

Todas las muestras y cultivos microbianos o materiales y equipo asociados se deben considerar potencialmente infecciosos. Solo el personal formado y cualificado del laboratorio debe trabajar con el

¹**Indicaciones de peligro:** H225: Líquido y vapores muy inflamables. H302 + H312 + H332: Nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación. H319 Provoca irritación ocular grave.

Indicaciones de prudencia: P210: mantener alejado de fuentes de calor, superficies calientes, chispas, llamas abiertas y otras fuentes de ignición. No fumar. P233: Mantener el recipiente herméticamente cerrado. P241: utilizar un material eléctrico, de ventilación, de iluminación, etc. antideflagrante. P243: Tomar medidas de precaución contra descargas electrostáticas. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P270: No comer, beber ni fumar durante su utilización. P271: Utilizar únicamente en exteriores o en un lugar bien ventilado. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse. P312: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/ médico/.../si la persona se encuentra mal. P330: Enjuagarse la boca. P362 + P364: Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P403 + P235: Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco. P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una empresa de eliminación autorizada.

²**Indicaciones de peligro:** H315: Provoca irritación cutánea. H319: Provoca irritación ocular grave. H335: Puede irritar las vías respiratorias.

Indicaciones de prudencia: P261: evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P312: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/ médico/.../si la persona se encuentra mal.


 Bruno Traverso
 Coordinador Técnico / Apoderada
 Lic. 14.733 - M.P. 26.293
 Becton Dickinson Argentina SRL

MBT STAR-Carba IVD Kit y el sistema IVD MALDI Biotyper, y es responsable de tomar y seguir todas las precauciones de seguridad necesarias para manipular materiales potencialmente infecciosos.

Es muy importante llevar equipo de protección individual adecuado (bata de laboratorio, guantes de protección y gafas de seguridad) en todo momento. Asegúrese de que su equipo de protección individual se encuentre siempre en perfecto estado.

Durante el Flujo de trabajo Carba, algunos reactivos se mezclan con los microorganismos y, por lo tanto, con material biológico potencialmente peligroso. Además, muchos de los accesorios y productos consumibles utilizados entran en contacto con los microorganismos. Es responsabilidad del usuario manipular cuidadosamente, desechar correctamente y descontaminar las sustancias, los accesorios y los consumibles pertinentes de acuerdo con las normativas de seguridad locales y nacionales.

Nota Manipule siempre el material biológico con cuidado en un entorno de seguridad adecuado. El material biológico y los microorganismos bacterianos pueden ser infecciosos.

6 Materiales y productos químicos necesarios (no suministrados)

Para obtener los mejores resultados, utilice disoluciones recién preparadas y productos químicos compatibles con MALDI (por ejemplo, disolventes LC-MS). Tenga en cuenta la fecha de caducidad indicada por el proveedor del disolvente.

Además de los componentes del MBT STAR-Carba IVD Kit, se necesitan los siguientes productos químicos y materiales. Algunos de ellos son necesarios únicamente para flujos de trabajo o procedimientos opcionales o alternativos (por ejemplo, la preparación de muestras derivadas de hemocultivos o ciclos de Control de ID).

Nota Asegúrese de que el recipiente de almacenaje del disolvente estándar se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

Reactivos

- IVD Matrix HCCA-portioned (n.º 8290200, Bruker) (denominado “IVD HCCA”)
- IVD Bacterial Test Standard (n.º 8290190, Bruker) (denominado “IVD BTS”)
- Disolvente estándar (acetonitrilo 50 %, agua 47,5 % y ácido trifluoroacético 2,5 %) de
 - Sigma-Aldrich¹ (Bruker standard solvent, n.º 900666) o
 - Honeywell Riedel-de Haen² (Acetonitrile 50%, Water 47.5% and Trifluoroacetic acid 2.5%, n.º 19182) o
 - VWR International³ (SOLUTION OS, n.º PRLS89449.230),

que ha probado Bruker Daltonics GmbH & Co. KG y se recomiendan para la disolución del IVD HCCA y IVD BTS.

¹<https://www.sigmaaldrich.com>

²<https://www.lab-honeywell.com>

³<https://vwr.com>

- Para el procesamiento de hemocultivos en los que se detectó crecimiento microbiano: MBT Sepsityper IVD Kit (n.º 1834338, Bruker) y sus respectivos reactivos y consumibles. Para obtener información detallada, consulte las instrucciones de uso del MBT Sepsityper IVD Kit.

IMPORTANTE Las muestras de hemocultivo del Flujo de trabajo Carba aquí descritas requieren el uso del MBT Sepsityper IVD Kit *nuevo*, identificado por el LOT n.º 0000321960 o superior. Póngase en contacto con su especialista de aplicaciones local de Bruker en caso de que haya presente otro MBT Sepsityper IVD Kit LOT o anterior.

Placas de muestras MALDI

Las siguientes placas de muestras MALDI son adecuadas para el análisis Carba y los ciclos de determinación de identificación:

- MSP 48 target polished steel BC (n.º 8281817, Bruker)
- MSP 96 target polished steel BC (n.º 8280800, Bruker)
- MBT Biotarget 96 IVD (n. 1839298, Bruker) junto con el MSP Biotarget Adapter (n.º 8267615, Bruker)

Productos consumibles

- Puntas de pipeta compatibles con MALDI-TOF: 0,5-20 µL, 2-200 µL, 50-1000 µL (por ejemplo, Eppendorf)
- Asas de siembra de 1 µL (por ejemplo, n.º L200-1, Simport)

Equipo estándar de laboratorio no suministrado

- Pipetas adecuadas para volúmenes de 1 µL a 1000 µL
- Gradillas para tubos
- Agitador vórtex
- Agitador con control de temperatura adecuado para la incubación de análisis a 35 (±2) °C (por ejemplo, Eppendorf Thermomixer comfort)
- Otros equipos de laboratorio generales u opcionales (por ejemplo, microcentrífugas de sobremesa con capacidad de 15 000 a 21 000 rcf, por ejemplo, Eppendorf 5424R)

Software y sistema IVD MALDI Biotyper

- Sistema IVD MALDI Biotyper (MBT)
- MBT Compass IVD Upgrade (n.º 1832771, Bruker)
- MBT STAR-BL IVD SW-Bundle (n.º 1850907, Bruker)

Cepas de control

Se recomienda utilizar cultivos de toda una noche frescos (18-24 horas) de cepas de control positivas y negativas adecuadas junto con las muestras desconocidas para cada preparación del ciclo de análisis Carba. Consulte el *Manual de usuario del MBT STAR-BL IVD Module* para obtener más información.

La selección, el mantenimiento y la utilización de cepas de control positivas y negativas adecuadas son responsabilidad del usuario. Se deben seguir las directrices o regulaciones nacionales o locales para el análisis de la betalactamasa y los controles de calidad. Los controles positivos (= actividad hidrolítica hacia los antibióticos carbapenémicos β- lactámicos) deben ser capaces de hidrolizar casi completamente el reactivo antibiótico de referencia proporcionado con el MBT STAR-Carba IVD Kit

con las condiciones de análisis y el tiempo de incubación respectivos. Los controles negativos (= antibióticos no hidrolizantes) no deben contener una actividad de carbapenemasa con respecto a los antibióticos carbapenémicos.

Se recomiendan *Klebsiella pneumoniae* ATCC® BAA-1705™¹ (control positivo) y *K. pneumoniae* ATCC® 700603™¹ (control negativo) para la realización del análisis Carba.

Medios de crecimiento y de selección compatibles

Los siguientes medios de crecimiento han sido validados para el cultivo de las muestras bacterianas que se deben utilizar en el Flujo de trabajo Carba:

BD Mueller Hinton II Agar (n.º 254032, Becton Dickinson), Columbia Agar con 5 % de sangre de cordero (por ejemplo, BD Columbia Agar con 5 % de sangre de cordero n.º 254005, Becton Dickinson), BD MacConkey II Agar (n.º 254025, Becton Dickinson), chromID CARBA SMART (n.º 414685, BioMérieux), CHROMagar mSuperCARBA (n.º 201473, CHROMagar).

Para los análisis de MBT Sepsityper IVD, se requieren frascos de hemocultivo (por ejemplo, n.º 442192 [aerobio] o n.º 442193 [anaerobio], Becton Dickinson).

El flujo de trabajo de MBT STAR-BL, que incluye un ciclo de Control de ID de transferencia directa, es aplicable por lo general para la mayoría de los tipos de medios disponibles. Sin embargo, para algunos medios selectivos cromogénicos, se conoce que los resultados de la identificación se pueden ver afectados por los respectivos tintes del agar, lo que da lugar, en algunos casos, a puntuaciones reducidas, resultados sin identificación fiable o, en casos aislados, sin identificación. Consulte también el *Manual de usuario de MBT Compass IVD* para obtener más información sobre la identificación de especies.

Nota Lea con atención las advertencias, instrucciones o las Hojas de datos de seguridad suministradas por el proveedor correspondiente y siga las normas generales de seguridad a la hora de manipular sustancias químicas, materiales biológicos peligrosos o materiales de otro tipo.

7 Procedimientos para la preparación de muestras con el MBT STAR-Carba IVD Kit

Se recomienda el uso de MBT Biotarget 96 IVD (n.º 1839298, Bruker).

Nota Para cada ciclo, utilice únicamente componentes del MBT STAR-Carba IVD Kit (por ejemplo, MBT STAR Matrix) de un lote en particular.

PRECAUCIÓN Algunos desinfectantes y detergentes contienen componentes que pueden interferir sustancialmente en el análisis del análisis Carba. Al utilizar una placa de muestras MALDI reutilizable, el procedimiento de limpieza de placas complementario se debe realizar directamente antes de la preparación de la placa de muestras MALDI (consulte la sección 13). Utilice únicamente placas de muestras MALDI² completamente limpias y evite el contacto con desinfectantes y detergentes.

¹ATCC: American Type Culture Collection; EE.UU. (<https://www.lgcstandards-atcc.org>)

²En el *Manual de usuario de MBT Compass IVD* se describen los procedimientos de limpieza habituales de las placas de muestras MALDI.

PRECAUCIÓN El MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent contiene un carbapenémico de referencia altamente sensible, susceptible para procesos autohidrolíticos. Asimismo, MALDI-TOF necesita la preparación de muestras homogéneas y la cristalización de matrices para conseguir el mejor rendimiento. Las condiciones ambientales, como la temperatura y la humedad, pueden afectar al rendimiento del MBT STAR-Carba IVD Kit. El Flujo de trabajo Carba se debe realizar bajo unas condiciones climáticas determinadas, como las especificadas habitualmente para las zonas climáticas I y II que no superan los 25 °C y con una humedad relativa del 60 %. Además, se deben respetar las condiciones de manipulación y almacenamiento.

Utilice guantes adecuados en todo momento cuando manipule las muestras, los reactivos y el equipo. Para obtener más información, póngase en contacto con su especialista local de aplicaciones.

7.1 Cultivo de muestras desconocidas y cepas de control

Muestras desconocidas

Utilice cultivos nuevos de toda una noche (18-24 horas) de las muestras desconocidas de análisis cultivadas en un medio de cultivo de agar adecuado y cultivos en los que se haya detectado crecimiento microbiano.

Cepas de controles positivos y negativos

Para garantizar una actividad bioquímica suficiente de las cepas de control, se recomienda volver a cultivarlas de nuevo durante la noche en un medio de cultivo de placa de agar adecuado tras el cultivo inicial a partir de cepas criógenas.

Utilice cultivos de control positivos y negativos de toda la noche (18-24 horas) tanto para las preparaciones desconocidas derivadas de cultivos de placas (MBT Sepsityper IVD Kit) como para las derivadas de hemocultivos.

Para garantizar el funcionamiento correcto del análisis Carba, se deben caracterizar las cepas de control positivo y negativo usando un método alternativo aceptado de manera periódica.

General

Los cultivos bacterianos y los hemocultivos en los que se haya detectado presencia de bacterias deben almacenarse durante un máximo de 12 horas adicionales a temperatura ambiente después de la incubación inicial.

7.2 Preparación de reactivos

A menos que se indique lo contrario, se deberán realizar los siguientes procedimientos a temperatura ambiente controlada (20-25 °C).

Sugerencia *Etiquete cada tubo con la fecha de preparación para garantizar que los reactivos son nuevos y que no han superado la fecha de caducidad.*

Preparación del MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent

1. Extraiga el MBT STAR Buffer y el número necesario de bolsas del MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent del congelador y espere hasta que alcancen la temperatura ambiente (20-25 °C). Mezcle el tampón brevemente utilizando un agitador vórtex.


K. Traverso
C.A. Controladora Técnica / Apoderada
P.N. 14.733 - M.P. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

Calcule el número necesario de bolsas utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Número de bolsas} = \frac{(\text{número de muestras de análisis} + \text{número de muestras de control})}{3}$$

Ejemplo: para analizar diez muestras bacterianas desconocidas, incluidos los controles positivos y negativos, en un solo ciclo, el número necesario de bolsas es $(10 + 2) / 3 = 4$ bolsas.

2. Abra las bolsas del MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent y agite el contenido de los tubos.
3. Añada 50 µL del MBT STAR Buffer a cada tubo del MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent y mézclelos usando un agitador vórtex (2500 [±500] rpm) durante 30 (±5) segundos. Agitar siempre en vórtex MBT STAR Buffer poco antes de su uso.
4. Deje que la solución repose durante 2,0 (±0,5) minutos y mézclela de nuevo durante 30 (±5) segundos.
5. Por último, agite el contenido.

Nota Después de abrir una bolsa que contiene el MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent, los tres tubos se deben utilizar en un plazo de 4 horas. Deseche los tubos sin utilizar después de 4 horas.

Disolución de MBT STAR Calibrator

1. Añada 25 µL de Water, deionized al gránulo del MBT STAR Calibrator y mézclelo con un agitador vórtex (2500 [±500] rpm) durante 30 (±5) segundos para disolverlo.
2. Deje reposar la solución durante 5,0 (±0,5) minutos y, a continuación, mézclela de nuevo con un agitador vórtex (2500 [±500] rpm) durante 30 (±5) segundos.
3. Finalmente, centrifúguela brevemente (10 [±5] segundos; 15 000- 21 000 rcf; temperatura ambiente).

Nota La solución congelada del MBT STAR Calibrator debe descongelarse hasta que llegue a la temperatura ambiente (20-25 °C) y mezclarse golpeando suavemente el microtubo con tapa roscada con el dedo. Antes de usarla, debe centrifugarla brevemente (10 [±5] segundos; 15 000-21 000 rcf; temperatura ambiente).


Nota ¡Los tubos de Water, deionized suministrados son de un solo uso! Desechar después de usar.

Preparación del MBT STAR Matrix

1. Saque el MBT STAR Matrix Solvent y un tubo de MBT STAR Matrix del congelador y espere hasta que los tubos alcancen la temperatura ambiente (20-25 °C). Mezcle siempre el MBT STAR Matrix Solvent bien con un mezclador vórtex antes de seguir usándolo.
2. Añada 50 µL del MBT STAR Matrix Solvent al tubo de MBT STAR Matrix y mézclelos usando un agitador vórtex (2500 [±500] rpm) durante 2,0 (±0,5) minutos.

Nota Asegúrese de que el tubo con tapa roscada que contiene solución de MBT STAR Matrix se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

3. Por último, agite el contenido.



María Traverso
Ingeniera Técnica / Apoderada
PLN. 14.735 - PLP. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

8 Flujo de trabajo Carba

8.1 Flujo de trabajo para cultivos de placas

►► Preparación de las muestras del ciclo de determinación de Control de ID opcional y realización del análisis Carba de los microorganismos derivados de la placa

1. Configure el análisis Carba empleando el MBT STAR-BL IVD Module. Consulte el *Manual de usuario del MBT STAR-BL IVD Module* para obtener información sobre cómo preparar el análisis Carba opcional junto con un ciclo de determinación de identificación de MBT.
2. Imprima el esquema de diseño de la placa de muestras MALDI de Informe de incubación de MBT STAR-BL y el de diseño de la placa de muestras MALDI proporcionado por el software, si es necesario.
3. Para cada muestra, recoja varias colonias bacterianas morfológicamente similares (si es posible) para evitar seleccionar una variante atípica llenando adecuadamente un (1) asa de siembra (1 µL). Tenga cuidado de garantizar una cantidad de muestra suficiente (consulte la Figura 2).

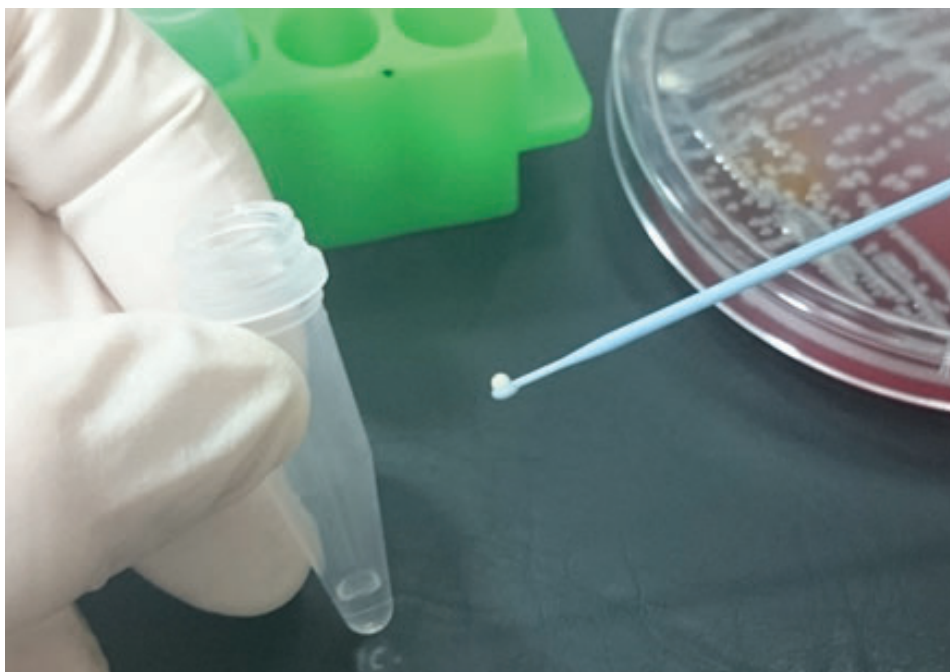


Figura 2 Ejemplo para ilustrar una cantidad típica suficiente de muestra

Realización del ciclo de Control de ID de determinación de identificación (opcional)

4. Opcionalmente, transfiera una pequeña cantidad del mismo material tocando la posición de la placa de muestras MALDI de Control de ID asignada por el MBT STAR-BL IVD Module (consulte el esquema de diseño de la placa de muestras MALDI de Control de ID) con el asa de siembra. Tenga cuidado de no transferir demasiado material. Consulte el *Manual de usuario de MBT Compass IVD* para conocer la cantidad adecuada. El uso de demasiado material puede dar lugar a resultados de determinación de identificación de baja calidad o fallidos. Dependiendo de la cepa y del comportamiento de crecimiento, puede ser necesario recoger el material excedente directamente de la placa de cultivo para evitar el exceso de material. Asegúrese de coger material de las mismas colonias. Consulte también las limitaciones descritas en la sección 10.

Para el ciclo de análisis Carba

5. Suspended las bacterias que permanecen en el asa en un tubo que contenga la solución de MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent.
6. Mezcle la suspensión celular brevemente (10 [±5] segundos) usando un agitador vórtex (2500 [±500] rpm).
7. Incube las muestras desconocidas y las cepas de control a 35 (±2) °C durante 30-35 minutos con agitación (600–900 rpm).

Nota En el caso de las bacterias de *Acinetobacter* spp., se debe aplicar un tiempo de incubación prolongado de 60-65 minutos para dar lugar a la detección de carbapenemasas.

Realización del ciclo de Control de ID de determinación de identificación (opcional)

8. Utilice un dispositivo de transferencia de colonias nuevo cada vez para distribuir con cuidado las bacterias situadas en el paso 4 en cada posición de la placa de muestras MALDI del ciclo de Control de ID a fin de conseguir una capa fina y homogénea. Y permitir que las muestras se sequen. Alternativamente, utilice un nuevo dispositivo de transferencia de colonias nuevo cada vez para transferir una pequeña cantidad del material de muestra desde la placa de cultivo respectiva a la placa de muestras MALDI.
9. Deposite 1 µL de solución de IVD BTS ¹ en la posición asignada por el MBT STAR-BL IVD Module (consulte el diseño de la placa de muestras MALDI del ciclo de Control de ID) y deje que la gota del pocillo IVD BTS se seque a temperatura ambiente.

Nota Asegúrese de que el tubo con tapa roscada que contiene solución de IVD BTS se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

IMPORTANTE Compruebe atentamente si las gotas presentan contaminación cruzada, errores de posición o bien mezcla de líquido entre dos muestras y deseche la preparación en caso necesario.

10. Recubra cada pocillo con 1 µL de solución de IVD HCCA².

PRECAUCIÓN Si no se agrega la disolución del IVD HCCA a las muestras durante los 30 minutos posteriores a su secado, no se pueden analizar estas posiciones.

IMPORTANTE Asegúrese de utilizar una solución de IVD HCCA preparada con disolvente ³ estándar.

Nota Asegúrese de que el tubo con tapa roscada que contiene solución de IVD HCCA se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

11. Deje secar las gotas a temperatura ambiente.
12. Realice la medición del ciclo de Control de ID utilizando el MBT STAR-BL IVD Module.
13. Después de finalizar el ciclo, revise los resultados de la identificación.

¹Preparada según se describe en las instrucciones de uso correspondientes.

²Preparada según se describe en las instrucciones de uso correspondientes.

³Disolvente estándar (acetonitrilo 50 %, agua 47,5 % y ácido trifluoroacético 2,5 %) de Sigma-Aldrich (Bruker standard solvent, n.º 900666), Honeywell Riedel-de Haen (Acetonitrile 50%, Water 47.5% and Trifluoroacetic acid 2.5%, n.º 19182), o VWR International (SOLUTION OS, n.º PRLS89449.230)

Lectura e interpretación del ciclo de Control de ID de determinación de identificación (opcional)

14. Consulte el *Manual de usuario del MBT STAR-BL IVD Module* para obtener información sobre la interpretación de los resultados.

Realización del ciclo del análisis Carba

IMPORTANTE Compruebe siempre si las gotas presentan contaminación cruzada, si hay errores de posición, si faltan gotas de muestra o si hay una mezcla de líquido entre dos muestras y deseche la preparación en caso necesario.

IMPORTANTE Cualquier pocillo de IVD HCCA superpuesto en la placa de muestras MALDI debe estar completamente seco antes de aplicar un punto en el análisis Carba para evitar la interferencia del contenido muy ácido.

15. El MBT STAR-BL IVD Module asigna dos posiciones de la placa de muestras MALDI a cada muestra desconocida / de control. Consulte el diseño de la placa de muestras MALDI del análisis Carba.

Después de la incubación del análisis, deposite 1 µL de la muestra desconocida / de control en cada una de las dos posiciones de la placa de muestras MALDI asignadas. No se requiere ningún paso de centrifugación.

Nota En caso de un rendimiento deficiente en la adquisición del espectro, puede ser necesaria la centrifugación de las muestras a 15 000-21 000 rcf durante 1-2 minutos y el uso posterior del sobrenadante en el flujo de trabajo Carba. Si el problema persiste, póngase en contacto con su especialista de aplicaciones local de Bruker.

16. Deposite 1 µL de solución de MBT STAR Calibrator en la posición de la placa de muestras MALDI definida en el esquema de diseño de la placa de muestras MALDI del análisis Carba.
17. Deje que las gotas se sequen a temperatura ambiente y cubra cada gota con 1 µL de la solución de MBT STAR Matrix.

Nota Asegúrese de que el tubo con tapa roscada que contiene solución de MBT STAR Matrix se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

18. Deje que las gotas se sequen a temperatura ambiente y realice la medición del ciclo del análisis Carba usando el MBT STAR-BL IVD Module.

PRECAUCIÓN Las placas de muestras MALDI de MBT STAR-BL preparadas deben medirse en un periodo máximo de 60 minutos tras la preparación.

19. Después de finalizar el ciclo, revise los resultados del análisis Carba.

Lectura e interpretación del ciclo de análisis Carba

20. El método de procesamiento MBT STAR-BL IVD Module automatizado determinará la actividad hidrolítica derivada de las carbapenemasas de cada muestra en comparación con las muestras del control de calidad seleccionadas.

La clasificación será:

a. Hidrolizado (H)	→	Actividad de carbapenemasas detectada / por encima de los umbrales
b. Sin hidrolizar (NH)	→	Actividad de carbapenemasas no detectada / por debajo de los umbrales
c. Resultado confuso. Por favor, analizar de nuevo.	→	Actividad de carbapenemasas confusa. Vuelva a procesar la placa de muestras MALDI o las muestras preparadas o repita el análisis, posiblemente utilizando una mayor cantidad de material bacteriano, un tiempo de incubación prolongado o un paso de centrifugación adicional después de la incubación. Además, puede ser necesario aplicar otras técnicas.
d. Mensaje de error debido a problemas técnicos o preparativos	→	Vuelva a procesar la placa de muestras MALDI o las muestras preparadas o repita el análisis.

Consulte el *Manual de usuario del MBT STAR-BL IVD Module* para obtener más información sobre la interpretación de los resultados del análisis Carba.

8.2 Flujo de trabajo para hemocultivos positivos

IMPORTANTE Comprobar la compatibilidad de los números de MBT Sepsityper IVD KitLOT (consulte la sección 6).

►► **Preparación de las muestras de determinación de identificación y realización del análisis Carba a partir de hemocultivos positivos obtenidos de un sedimento bacteriano (en lo sucesivo: «gránulo Sepsityper») obtenido según el flujo de trabajo de Sepsityper antes de inactivar la célula bacteriana con etanol**

Nota El análisis Carba requiere una cierta cantidad de masa bacteriana para detectar una actividad enzimática presente. Cuando se utiliza el gránulo Sepsityper obtenido de una muestra de hemocultivo, solo se puede aplicar adicionalmente el flujo de trabajo Sepsityper rápido utilizando el procedimiento de preparación de muestras de transferencia directa para realizar una identificación opcional o ciclo de Control de ID desde el mismo gránulo Sepsityper, ya que el material restante se consumirá por completo para el análisis Carba. En caso de que la biomasa obtenida del gránulo Sepsityper no sea suficiente, puede ser necesario un subcultivo, tiempos elevados de incubación de los hemocultivos antes de la recolección o un periodo de incubación prolongado de análisis Carba.

Para las repeticiones o para llevar a cabo el procedimiento de preparación de la muestra de extracción para la identificación de la muestra, se debe preparar un gránulo de Sepsityper separado a partir del mismo hemocultivo.

Nota Utilice solo el gránulo Sepsityper, antes de la inactivación, para realizar el análisis Carba. La inactivación y la extracción celular pueden inactivar una carbapenemasa presente y podría conducir a resultados falsos negativos. Las muestras de control necesarias deben prepararse a partir de muestras del cultivo de placas (consulte la sección 8.1).


Kirina Victoria Traverso
Cabeceadora Técnica / Apoderada
M.N. 14.733 - M.P. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

Nota Tenga cuidado de no intercambiar accidentalmente MBT Sepsityper Lysis Buffer por MBT STAR Buffer.

Flujo de trabajo para la preparación modificada de muestras de hemocultivo para el análisis Carba

Obtención de fluido de hemocultivo

1. Desinfectar el septum del frasco de toma de muestras de sangre con etanol al 70 % o similar.
2. Obtenga suficiente fluido del hemocultivo.

Preparación de los gránulos Sepsityper con el nuevo MBT Sepsityper IVD Kit

Nota Los pasos adicionales del procedimiento que deben realizarse al usar los frascos de hemocultivo bioMérieux® que incluyen carbón activado están escritos en cursiva.

3. Transfiera 1 mL de fluido de hemocultivo a un tubo de reacción de 1,5 mL.
4. Añada 200 µL de Lysis Buffer y mezcle utilizando un agitador vórtex (máxima velocidad) durante 10 (±5) segundos.
 - Aplique 800 µL de esta mezcla a una columna de centrifugación SigmaPrep™ (Sigma-Aldrich SC1000-1KT).
 - Centrifugue durante 2 minutos a 400 rcf y deseche el filtro.
 - Continúe con el paso 6.
5. Centrifugue el tubo durante 2 minutos a entre 15 000 y 21 000 rcf a temperatura ambiente.
6. Quite el sobrenadante pipeteando y deséchelo.
7. Añada 1 mL de Washing Buffer y vuelva a suspender el preparado pipeteando hacia arriba y abajo.
8. Centrifugue el tubo durante 1 minuto a entre 15 000 rpm y 21 000 rcf a temperatura ambiente.
9. Retire el sobrenadante del gránulo Sepsityper pipeteando y deséchelo.

Nota Utilice únicamente gránulos Sepsityper de pureza suficiente. Consulte la Figura 3 para ver un ejemplo. En caso de pureza insuficiente, realice un segundo paso de lavado utilizando el Washing Buffer del MBT Sepsityper IVD Kit del flujo de trabajo Sepsityper o repita la purificación completa a partir del hemocultivo positivo.

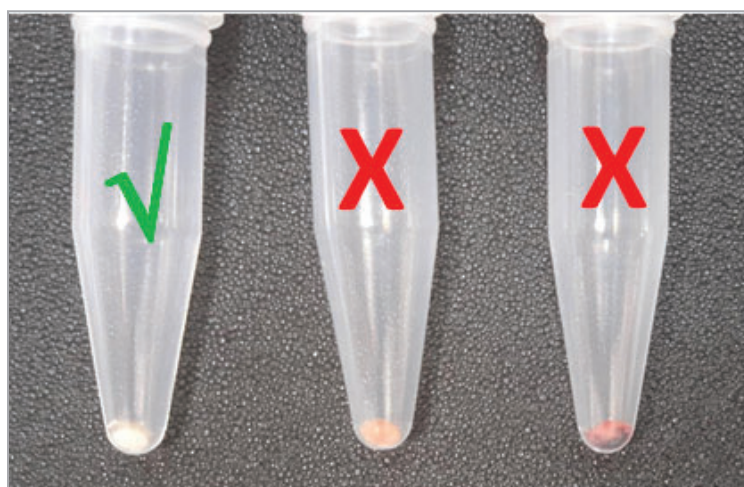


Figura 3 Ejemplo para ilustrar la pureza y cantidad requerida del gránulo Sepsityper. Utilice únicamente gránulos con una pureza comparable a la del gránulo con la marca verde. El gránulo Sepsityper no debe ser de color rojo ni rojizo.

Realización del flujo de trabajo Sepsityper rápido (opcional) para la determinación del Control de ID mediante el procedimiento de preparación de muestras de transferencia directa

10. Configure el análisis Carba empleando el MBT STAR-BL IVD Module. Consulte el *Manual de usuario del MBT STAR-BL IVD Module* para obtener información sobre cómo preparar el ciclo del análisis Carba junto con un ciclo de Control de ID de determinación de identificación de MBT Sepsityper. Imprima el esquema de diseño de la placa de muestras MALDI de Informe de incubación de MBT STAR-BL y el de diseño de la placa de muestras MALDI proporcionado por el software, si es necesario.
11. Con un dispositivo de transferencia, como un palillo de dientes, transfiera un poco de material del gránulo Sepsityper a cada posición de la muestra de la placa de muestras MALDI del ciclo de Control de ID para obtener una capa fina y homogénea.

Nota El resto del gránulo Sepsityper se consumirá en el Análisis MBT STAR-BL (ver el paso 19).

12. Seque la gota a temperatura ambiente.
13. Para validar el sistema, pipetee 1 µL de solución de IVD BTS en la posición asignada por el MBT STAR-BL IVD Module (consulte el diseño de la placa de muestras MALDI del ciclo de Control de ID) y deje que la gota del IVD BTS se seque a temperatura ambiente.

Nota Asegúrese de que el tubo con tapa roscada que contiene solución de IVD BTS se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

14. Recubra cada gota con 1 µL de solución de IVD HCCA.

PRECAUCIÓN Si no se agrega la disolución del IVD HCCA a las gotas de muestras y a las gotas del IVD BTS durante los 30 minutos posteriores a su secado, no se pueden analizar estas posiciones.

IMPORTANTE Asegúrese de utilizar una solución de IVD HCCA preparada con disolvente ¹ estándar.

Nota Asegúrese de que el tubo con tapa roscada que contiene solución de IVD HCCA se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

15. Deje secar las gotas a temperatura ambiente.
16. Realice la medición del ciclo de Control de ID utilizando el MBT STAR-BL IVD Module.
17. Después de finalizar el ciclo, revise el informe de verificación de identificación.

Lectura e interpretación del ciclo de Control de ID de determinación de identificación (opcional)

18. Consulte el *Manual de usuario del MBT STAR-BL IVD Module* para obtener información sobre la interpretación de los resultados.

¹Disolvente estándar (acetonitrilo 50 %, agua 47,5 % y ácido trifluoroacético 2,5 %) de Sigma-Aldrich (Bruker standard solvent, n.º 900666), Honeywell Riedel-de Haen (Acetonitrile 50%, Water 47.5% and Trifluoroacetic acid 2.5%, n.º 19182), o VWR International (SOLUTION OS, n.º PRLS89449.230).

Realización del ciclo del análisis Carba

19. Para las cepas de control y las muestras desconocidas, proceda de la siguiente manera:
 - Para las cepas de control derivadas de la placa, proceda como se ha descrito anteriormente para el flujo de trabajo de cultivo de placas (consulte la sección 8.1, paso «Para el ciclo del análisis Carba»).
 - En el caso de muestras desconocidas derivadas de hemocultivos, haga lo siguiente:
 - Transfiera 50 µL del MBT STAR- Carba Antibiotic Reagent disuelto (consulte la preparación del MBT STAR- Carba Antibiotic Reagent en la sección 7.2) al resto del gránulo Sepsityper obtenido con el flujo de trabajo de Sepsityper (consulte el paso 11).
 - Mezcle la suspensión celular brevemente (10 [±5] segundos) usando un agitador vórtex (2500 [±500] rpm).
20. Incube las muestras derivadas del hemocultivo a 35 (±2) °C durante 60-65 minutos con agitación (600-900 rpm).
21. Después de la incubación de las muestras, continúe como se ha descrito anteriormente para el flujo de trabajo de cultivo de placas (consulte la sección 8.1, paso «Realización del ciclo del Carba»).

Lectura e interpretación del ciclo de análisis Carba

22. El método de procesamiento del MBT STAR-BL IVD Module automatizado determinará la actividad hidrolítica de cada muestra en comparación con las muestras del control de calidad respectivas.

Para la descripción de los posibles resultados de la identificación, consulte el flujo de trabajo de cultivo de placas (consulte la sección 8.1 «Lectura e interpretación del ciclo de análisis Carba»).

9 Rendimiento

El rendimiento del MBT STAR-Carba IVD Kit se determinó en tres centros distintos de Europa que analizaron un conjunto de 200 cepas madre ciegas, cada una compuesta de las unidades taxonómicas *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. y *Acinetobacter* spp. de acuerdo con el flujo de trabajo de cultivo de placas descrito en 8.1. Consulte las Tablas 1 y 2 para ver un resumen detallado del panel de evaluación probado.

Antes de efectuar la prueba de rendimiento del análisis Carba, las cepas se cultivaron en agar sangre Columbia durante 18-24 horas a 35 (± 2) °C.

La incubación del análisis se realizó durante 30-35 minutos (60-65 minutos en el caso de las bacterias de *Acinetobacter* spp.).

Tabla 1 Unidades taxonómicas utilizadas para el estudio de evaluación del rendimiento por centro

Unidad taxonómica	Número total de especies	Microorganismo que no tiene actividad hidrolizante (NH)	Microorganismo que tiene actividad hidrolizante (H)
<i>Enterobacteriaceae</i>	151	74	77
<i>Acinetobacter</i> spp.	26	10	16
<i>Pseudomonas</i> spp.	23	10	13
Total	200	94	106

Tabla 2 Carbapenemasas principales caracterizadas genéticamente y presentes en el panel de evaluación

Mecanismo	OXA	IMP	NDM	VIM	GIM	GES	KPC	Negativo	Total
Número	24	16	20	22	3	1	20	94	200

Resultados del estudio de la evaluación del rendimiento

Los resultados del análisis de los tres centros del estudio se resumen en la Tabla 3. Todos los análisis revelaron resultados interpretables.

Tabla 3 Resumen de los resultados del estudio de evaluación (flujo de trabajo de cultivo de placas)

Unidad taxonómica	Fallo	% de exactitud	% de sensibilidad	% de especificidad
<i>Enterobacteriaceae</i>	13/453	97,1	95,2	99,1
<i>Acinetobacter</i> spp.	1/78	98,7	97,9	100
<i>Pseudomonas</i> spp.	3/69	95,7	94,9	96,7
Total	17/600	97,2	95,6	98,9

Opciones de procedimiento

En el caso de la opción de procedimiento de uso de muestras de hemocultivos en que se detectó crecimiento microbiano (= **flujo de trabajo de hemocultivos**), la evaluación del rendimiento se realizó en un solo centro a partir de una selección de cepas madre aisladas iniciales (N = 100). Los hemocultivos en los que se detectó crecimiento microbiano se prepararon y se analizaron según el flujo de trabajo de hemocultivos descrito en la sección 8.2 y la incubación del análisis tuvo una duración de unos 60 minutos.

Los resultados del análisis se resumen en la Tabla 4. Todos los análisis revelaron resultados interpretables.

Tabla 4 Resumen de los resultados del estudio de evaluación (solamente el flujo de trabajo de hemocultivos); 1 centro

Unidad taxonómica	Fallo	% de exactitud	% de sensibilidad	% de especificidad
<i>Enterobacteriaceae</i>	0/70	94,3	100	88,2
<i>Acinetobacter</i> spp.	6/17	64,7	45,5	100
<i>Pseudomonas</i> spp.	1/13	84,6	90,0	66,7
N.º total	7/100	88,0	87,7	88,4

Nota Los datos de rendimiento clínico presentados en este documento se obtuvieron mediante un procedimiento de flujo de trabajo inicial. Estas instrucciones de uso contienen un flujo de trabajo optimizado en cuanto a la aplicación y los componentes de accesorios disponibles. Se ha demostrado una equivalencia de rendimiento sustancial.

Se recomienda el uso de controles positivos y negativos en cada ciclo. Habilitar la opción de controles reducidos (control positivo válido hasta 7 días) puede resultar en una disminución de la sensibilidad general y la selectividad de entre 1-4 % por lo general.

10 Limitaciones del método

- Es posible que con el MBT STAR-Carba IVD Kit no se detecten algunas cepas que expresan carbapenemasas de tipo GES y de tipo OXA, que no sean OXA-48.
- Los análisis de microorganismos derivados de hemocultivos positivos pueden dar lugar a resultados negativos de hidrólisis de algunos organismos de crecimiento lento, como por ejemplo, algunas especies de *Acinetobacter* spp. debido al bajo recuento celular, la baja expresión de carbapenemasas y la inactivación de las carbapenemasas durante la preparación celular con el uso del MBT Sepsityper IVD Kit. Por lo tanto, estas especies requieren un tiempo de incubación de 60 a 65 minutos para el flujo de trabajo de hemocultivo.
- El aumento del tiempo de incubación recomendado puede dar lugar a falsas determinaciones positivas debido a los efectos autohidrolíticos y de otro tipo del antibiótico de referencia, como por ejemplo, la detección de cepas que contengan AmpC Ambler de clase C.
- En el caso de hemocultivos mixtos que comprendan microorganismos hidrolizados y sin hidrolizar, no puede garantizarse la detección de la actividad hidrolizante. La detección de una actividad presente depende de la relación impredecible de crecimiento *in vitro* de los organismos mixtos y de la velocidad de expresión y la actividad hidrolítica de las respectivas cepas. Los cultivos mixtos deberán purificarse antes de la realización del análisis Carba.

- El análisis Carba solamente puede detectar una actividad de carbapenemasas presente, y requiere de una carbapenemasa expresada y funcional en suficiente cantidad y disponibilidad. Un resultado negativo del análisis Carba se debe considerar como un posible “falso negativo” (sin hidrolizar) y no se puede utilizar para determinar una decisión terapéutica o diagnóstica debido a las razones mencionadas anteriormente o a la posible presencia de mecanismos de resistencia adicionales o alternativos. Entre estos mecanismos se pueden incluir, entre otros, la permeabilidad de la membrana y las porinas modificadas, las bombas de expulsión, la sobreexpresión de β -lactamasas (por ejemplo, AmpC) y otras modificaciones. El aumento del tiempo de incubación puede dar lugar a la determinación de resultados positivos falsos debido al efecto autohidrolítico y otros efectos del antibiótico de referencia. Solo un profesional experimentado en microbiología clínica debe evaluar los resultados definitivos del análisis.
- El procedimiento descrito de preparación de muestras por transferencia directa o el uso de material sobrante de la placa de cultivo para la preparación de los ciclos de Control de ID opcionales del Flujo de trabajo Carba debe considerarse meramente informativo, ya que el procedimiento de transferencia directa no es adecuado para una determinación de identificación de alta calidad en todos los casos. El uso de material celular que no sea el material directamente utilizado para el análisis Carba puede ser de una composición genética diferente. Para obtener más información, póngase en contacto con el especialista de aplicaciones de Bruker.

11 Curso de formación de la aplicación del análisis Carba

Un especialista de aplicaciones de Bruker con la formación adecuada le proporcionará formación específica sobre la aplicación del análisis Carba. Debe proporcionarse antes del uso inicial.

Para obtener más información, póngase en contacto con el representante local de ventas de Bruker.



Karina Alejandra Traverso
C.A. Asesoría Técnica / Apoyadora
R.N. 14.733 - M.P. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

12 Guía rápida de MBT STAR-Carba IVD Kit

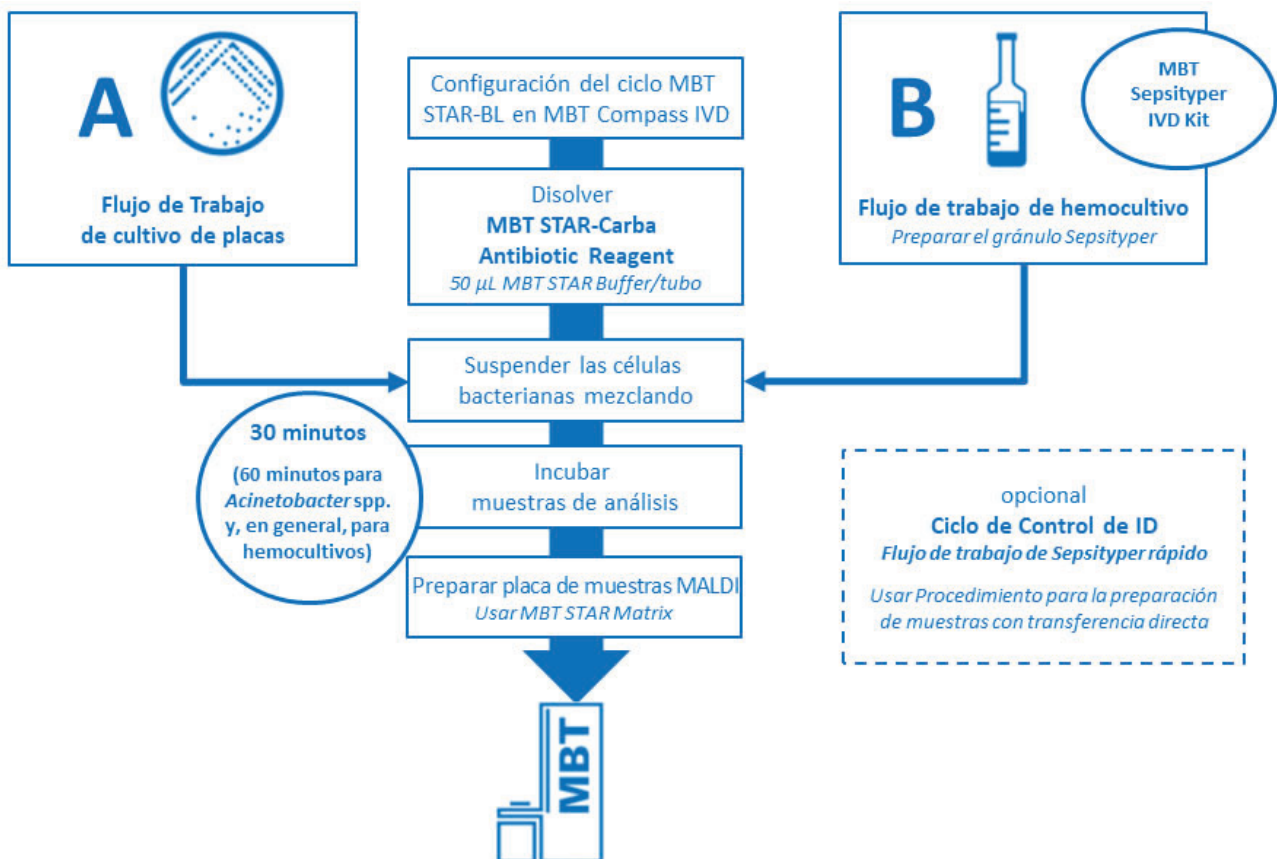
Antes de empezar

- Disuelva/descongele/prepare todos los componentes del análisis según las Instrucciones de uso correspondientes; utilice el MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent y prepare la placa de muestras MALDI en las 4 horas siguientes a la apertura de la bolsa.
- Preparación del Flujo de trabajo Carba con MBT STAR-BL IVD Module.

Preparación del análisis

1. Suspenda la muestra bacteriana en 50 µL de MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent disuelto.
2. Mezcle brevemente e incube durante 30-65 minutos (60-65 minutos para *Acinetobacter* spp. y, generalmente, para hemocultivos) a 35 (±2) °C con agitación (600-900 rpm).
3. Deposite 1 µL en cada una de las dos posiciones de la placa de muestras MALDI asignadas para cada muestra.
4. Deposite 1 µL de MBT STAR Calibrator en la posición indicada de la placa de muestras MALDI.
5. Deje que las gotas se sequen a temperatura ambiente y cubra cada gota con 1 µL de la solución de MBT STAR Matrix.
6. Deje que las gotas se sequen a temperatura ambiente y mida la placa de muestras MALDI en el plazo de 60 minutos.

Resumen del flujo de trabajo de Carba



13 Procedimiento de limpieza adicional de las placas de muestras MALDI

El MBT STAR-Carba IVD Kit requiere la adquisición del espectro de masas en el intervalo de masas bajo ($m/z = 100-1000$). Algunos detergentes y desinfectantes utilizados en laboratorios para la descontaminación, esterilización o limpieza contienen sustancias que interfieren en este intervalo de masas. Los contaminantes habituales muestran picos de $m/z = 298$, $m/z = 304$, y puede haber masas adicionales en todo el espectro.

Este protocolo describe un procedimiento de limpieza **adicional** para las placas de muestras MALDI de acero pulido utilizadas en el Flujo de trabajo Carba. Este procedimiento puede eliminar los contaminantes residuales y puede aumentar la fiabilidad y coherencia de los resultados del análisis Carba. Este procedimiento se debe realizar después del procedimiento de limpieza de las placas de muestras MALDI estándar y justo antes de empezar a usarlas.

Materiales y productos químicos necesarios (no suministrados)

Para conseguir los mejores resultados, use soluciones recién preparadas y productos químicos de la máxima pureza disponible.

- 1-propanol (por ejemplo, Honeywell Riedel-de Haen n.º 402893)
- 2-propanol (por ejemplo, Honeywell Riedel-de Haen n.º 34965)
- Agua de calidad HPLC (por ejemplo, Honeywell Riedel-de Haen n.º 39253 CHROMASOLV)
- Paño que no desprenda pelusas (por ejemplo, Kimtech Science n.º 7552)

►► Preparación de la solución de limpieza (50 mL)

En un recipiente de cristal limpio, mezcle lo siguiente:

- 15,0 mL de 1-propanol
- 22,5 mL de 2-propanol
- 12,5 mL de agua de calidad HPLC

Esto da lugar a una composición final de 1-propanol: 2-propanol : agua = 30 : 45 : 25 (v/v/v).

►► Procedimiento de limpieza para las placas de muestras MALDI MSP 48 o MSP 96 de acero pulido reutilizables

Después del procedimiento de limpieza de la placa de muestras MALDI estándar, almacénela en el envase suministrado. Evite el contacto con desinfectantes y detergentes.

1. Poco antes de preparar las muestras del análisis Carba, transfiera 100-200 μL de la solución de limpieza a la placa de muestras MALDI.
2. Limpie la placa de muestras MALDI con un paño que no desprenda pelusas hasta que el disolvente se haya evaporado.
3. Espere unos 5 minutos para asegurarse de que se ha evaporado completamente la solución de limpieza.
4. Deposite las muestras del Análisis MBT STAR-BL en la placa de muestras MALDI limpia y realice la medición.
5. Si se presentan problemas de contaminación, repita todo el procedimiento de limpieza (estándar y adicional).

14 Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en la etiqueta:

	Número de catálogo
	Marca CE
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Fabricante
	Límite de temperatura
	Inflamable
	Peligros para la salud
	Código de lote
	Utilizar antes del
	No usar si el envoltorio está dañado
	Mantener alejado de la luz solar
	No reutilizar
	Consulte las instrucciones de uso

15 Fabricante



Bruker Daltonics GmbH & Co. KG

Fahrenheitstraße 4
28359 Bremen
Alemania

Servicio de asistencia

Correo electrónico: biotyper.support@bruker.com

Teléfono: +49 421 2205-1401

Fax: +49 421 2205-106

Información de ventas

Para obtener información general, póngase en contacto con ms.sales.bdal@bruker.com

Correo electrónico: Para obtener información sobre pedidos, póngase en contacto con care@bruker.com

Teléfono: +49 421 2205-0

Página web: www.bruker.com/care

Las descripciones y especificaciones sustituyen toda información anterior.

© Copyright 2021 Bruker Daltonics GmbH & Co. KG


Klára Gabriela Traverso
Cadastrada Técnica / Apoderada
M.N. 14.733 - P.L.N. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

REF 1858555

Instrucciones de uso

MBT STAR-Cepha IVD Kit

Para la detección de la actividad de la cefalosporinasa hacia las cefalosporinas de 3^a generación mediante el MBT STAR-BL IVD Module

Para uso en diagnóstico *in vitro*

Los productos de CARE están diseñados para proporcionar a nuestros clientes de todo el mundo consumibles, accesorios y kits exclusivos de alta calidad.

www.bruker.com/care



Idioma: es


Karina Gabriela Traverso
Categoría Técnica / Apoderada
R.N. 14.733 - M.J. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

Historial del documento

Título:	Instrucciones de uso MBT STAR-Cepha IVD Kit
Revisión:	Revisión C (Mayo de 2021)
Primera revisión:	Septiembre de 2018

La siguiente tabla describe cambios importantes con respecto a la revisión anterior de este documento.

Sección	Cambios
-	Cambio del fabricante legal a Bruker Daltonics GmbH & Co. KG

Índice

Historial del documento	2
1 Uso previsto/finalidad prevista	3
2 Descripción del producto	4
3 Componentes del MBT STAR-Cepha IVD Kit	6
4 Inspección, almacenamiento y estabilidad	7
4.1 Inspección en el momento de llegada	7
4.2 Almacenamiento en el momento de llegada	7
4.3 Información sobre el almacenamiento tras la apertura o la disolución y la estabilidad	7
5 Información de riesgo y seguridad	9
5.1 Riesgos químicos	9
5.2 Riesgos biológicos	10
6 Materiales y productos químicos necesarios (no suministrados)	10
7 Procedimientos para la preparación de muestras con el MBT STAR-Cepha IVD Kit	13
7.1 Cultivo de muestras desconocidas y cepas de control	13
7.2 Preparación de reactivos	14
8 Flujo de trabajo de Cepha	16
8.1 Flujo de trabajo de cultivos de placas	16
8.2 Flujo de trabajo para hemocultivos positivos	20
9 Rendimiento	23
10 Limitaciones del método	24
11 Curso de formación de la aplicación del Análisis Cepha	25
12 Guía rápida de MBT STAR-Cepha IVD Kit	26
13 Símbolos	27
14 Fabricante	28

1 Uso previsto/finalidad prevista

Textos de las condiciones especiales de uso

Solo para uso profesional.

El MBT STAR-Cepha IVD Kit es un dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* cualitativo indicado para utilizarlo junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio para detectar con mayor rapidez la actividad prevalente de cefalosporinasa hacia cefalosporinas de 3^a generación presentes en enterobacterias subcultivadas a partir de muestras humanas mediante sistema IVD MALDI Biotyper basado en MALDI TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight; Desorción/Ionización Láser Asistida por Matrices-Tiempo de Vuelo) y el MBT STAR-BL IVD Module.

Instrucciones de uso

El MBT STAR-Cepha IVD Kit solamente puede detectar la actividad de la cefalosporinasa presente (cefalosporina hidrolítica) hacia cefalosporinas de 3^a generación en bacterias. No es una herramienta destinada a análisis de susceptibilidad. Un resultado de no hidrólisis en el análisis no descarta la resistencia por causa de otros mecanismos. Ciertos mecanismos de resistencia alternativos (como las mutaciones de porinas, la expresión de la bomba de expulsión u otras funciones) que enmascaran o retardan la actividad de la cefalosporinasa pueden provocar resultados negativos falsos.

El MBT STAR-Cepha IVD Kit está diseñado para utilizarse junto con el MBT STAR-BL IVD Module.

El MBT STAR-Cepha IVD Kit no se debe emplear como único método para tomar decisiones sobre el tratamiento de los pacientes. Se deben tener en cuenta otros resultados de investigación clínicos y de laboratorio.

Nota Se necesitan cultivos simultáneos a fin de recuperar bacterias para el tipado epidemiológico, el análisis adicional de la susceptibilidad antimicrobiana y la caracterización de microorganismos no detectados por el MBT STAR-Cepha IVD Kit, así como a fin de diagnosticar infecciones combinadas que puede que no se detectaran. Asimismo, los resultados los debe analizar un profesional con experiencia en microbiología clínica y la caracterización definitiva de los microorganismos se debe basar en toda la información relevante disponible. Esta información incluye, entre otras, la tinción de Gram, la morfología de la colonia, las características de crecimiento y la consideración de la matriz de muestras y los análisis adicionales.

Requisitos especiales

- **Sistema:** MALDI Biotyper / IVD MALDI Biotyper smart (con el MBT Compass / MBT STAR-BL IVD Module instalado y probado por un técnico de servicio de Bruker con la debida formación)


Kristina Valeria Traverso
C.A. Gestora Técnica / Apoderada
M.N. 14.733 - M.P. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

2 Descripción del producto

Principio del MBT STAR-Cepha IVD Kit

El MBT STAR-Cepha IVD Kit es un dispositivo que proporciona todos los reactivos y componentes necesarios para llevar a cabo el Análisis MBT STAR-BL (MALDI Biotyper Selective Testing of Antibiotic Resistance Beta Lactamase Assay = Prueba selectiva de MALDI Biotyper del análisis de betalactamasa de resistencia a antibióticos), al que se hace referencia como el Análisis Cepha.

Después de la incubación de un antibiótico cefalosporina de referencia de 3^a generación y de la muestra que se va a analizar, se monitoriza la hidrólisis causada por la actividad enzimática (de la β -lactamasa) hacia el antibiótico (división del anillo β -lactámico) mediante espectrometría de masas con un espectrómetro de masas MALDI-TOF, con el que se detecta un desplazamiento de masa específico en el rango de masas entre m/z 100 y 1000.

Entre las actividades detectables de la β -lactamasa se cuentan las actividades de ESBL (β -lactamasas de amplio espectro; por ejemplo, plasmídicas tipo TEM, tipo SHV, tipo OXA y tipo CTX) y AmpC (cromosómicas y plasmídicas; genes de resistencia inducibles o no reprimidos; por ejemplo, ampC, FOX, LAT, DHA y CMY) en un tiempo de incubación de 30 minutos. Debido a la amplia especificidad del sustrato, también se pueden detectar actividades de la carbapenemasa (por ejemplo, tipo KPC y OXA).

Nota El Análisis MBT STAR-BL solamente puede utilizarse para identificar una actividad presente de β -lactamasa en las bacterias. No es una herramienta destinada a análisis de susceptibilidad. Los mecanismos de resistencia alternativos, como mutaciones de porinas o expresión de la bomba de expulsión, que enmascaran la actividad de la β -lactamasa, pueden dar lugar a resultados negativos falsos. También puede estar presente una actividad retardada mediada por enzimas que no se expresan constitutivamente.

Los componentes se proporcionan listos para su uso, o bien necesitan disolverse antes. Todos los componentes del MBT STAR-Cepha IVD Kit deben conservarse tal como se indica. Algunos componentes necesitan (volver a) congelarse después de su uso.

El Análisis MBT STAR-BL precisa un sistema MBT totalmente optimizado con una instalación de MBT Compass IVD configurada y el módulo de software MBT STAR-BL. Póngase en contacto con su representante local de Bruker para obtener más información y una formación exclusiva en aplicaciones.

Flujo de trabajo del MBT STAR-Cepha IVD Kit

El flujo de trabajo del MBT STAR-Cepha IVD Kit (denominado Flujo de trabajo de Cepha) es un procedimiento basado en software que ayuda al usuario durante todo el proceso de preparación y análisis del Análisis Cepha. El MBT STAR-BL IVD Module proporciona varios enfoques para realizar el Flujo de trabajo de Cepha con y sin identificación de especies como se describe en el *Manual de usuario del MBT STAR-BL IVD Module*



Mariana Traverso
Ingeniera Técnica / Apodada
-R14: 14.733 - M3: 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

El Flujo de trabajo de Cepha se resume en Figura 1.

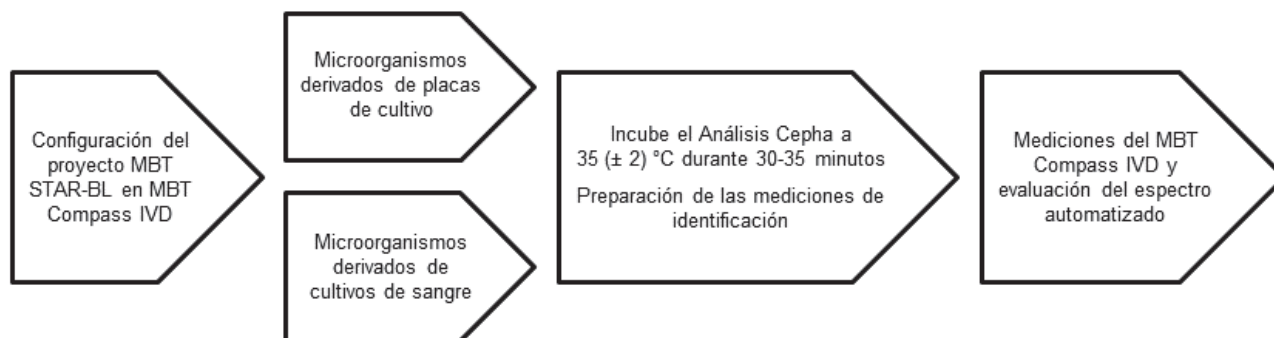


Figura 1 Resumen del Flujo de trabajo de Cepha semiautomatizado

Como primer paso del Flujo de trabajo de Cepha, el proyecto (ciclo) se define con el MBT STAR-BL IVD Module. El esquema de incubación resultante y el diseño de la preparación de las placas de muestras MALDI se utilizan para servir de guía en las tareas prácticas (procesamiento del Análisis Cepha) del laboratorio. El flujo de trabajo de **cultivo de placas** requiere la incubación conjunta de microorganismos con MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent y se realiza a 35 (\pm 2) °C durante 30-35 minutos bajo agitación en el caso de las enterobacterias. Los microorganismos derivados del **hemocultivo** pueden utilizarse después del aislamiento de las células del MBT Sepsityper IVD Kit. Consulte la sección 8 para obtener información sobre las limitaciones.

A continuación, las muestras se colocan en una placa de muestras MALDI, se secan al aire libre y se recubren con MBT STAR Matrix disuelta.

La adquisición del espectro y la evaluación automatizada de este se realizan bajo el control del MBT STAR-BL IVD Module.

El resultado de la identificación opcional y el estado de hidrólisis del microorganismo analizado se indican automáticamente.

Los principios de interpretación de los resultados se describen en detalle en el *Manual de usuario del MBT STAR-BL IVD Module*.

Información para pedidos

Producto	Número de referencia
MBT STAR-Cepha IVD Kit	1858555


 Karina Valeria Traverso
 Coordinadora Técnica / Apoderada
 M.N. 14.733 - M.P. 26.293
 Becton Dickinson Argentina SRL

3 Componentes del MBT STAR-Cepha IVD Kit

Según el uso concreto, un MBT STAR-Cepha IVD Kit (n.º 1858555) contiene suficientes reactivos como para preparar como mínimo 20 ciclos individuales de Análisis Cepha o hasta 94 muestras individuales de Análisis Cepha, incluidos los controles recomendados.

El MBT STAR-Cepha IVD Kit contiene los siguientes componentes:

- MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent (seco); 1 bolsa contiene una sola placa de microtitulación de 96 pocillos (a la que se denomina «placa de microtitulación de MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent»)

Nota La placa de microtitulación de MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent puede usarse en varios ciclos individuales hasta que se hayan utilizado los 96 pocillos, siempre y cuando entretanto se guarde del modo indicado (consulte la sección 4).

- MBT STAR Buffer; 5 tubos (1,75 mL cada uno; tapón de rosca azul)
- MBT STAR Matrix; 20 tubos (seco; tapón de rosca naranja)
- MBT STAR Matrix Solvent; 2 tubos (1,0 mL cada uno; tapón de rosca verde)
- MBT STAR Calibrator (Estándar de calibración de antibióticos); 2 tubos (secos; tapón de rosca púrpura)
- Water, deionized; 2 tubos (200 µL cada uno; tapón de rosca negro)
- Folleto de instrucciones Quick Guide (también disponible para descargar desde www.bruker.com/care)

Nota Las Instrucciones de uso y las Hojas de datos de seguridad se pueden descargar en la página web www.bruker.com/care.

Nota Tenga cuidado de no intercambiar accidentalmente MBT STAR Buffer por MBT Sepsityper Lysis Buffer al utilizar el MBT Sepsityper IVD Kit en paralelo.

4 Inspección, almacenamiento y estabilidad

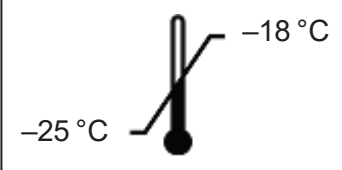
4.1 Inspección en el momento de llegada

Verifique el MBT STAR-Cepha IVD Kit a su llegada.

- Compruebe la integridad de todos los componentes del MBT STAR-Cepha IVD Kit. Asegúrese de que los tubos y la bolsa de vacío estén intactos. Si los tubos o la bolsa de vacío están dañados o abiertos, no se deben utilizar. Si el paquete presenta daños, póngase en contacto con el representante de ventas de Bruker.
- Deseche los componentes y el paquete del MBT STAR-Cepha IVD Kit siguiendo las directrices de las Hojas de datos de seguridad del producto.
- Las fechas de caducidad indicadas en el paquete y los componentes son válidas solo si se guardan estos de forma consecuyente.

4.2 Almacenamiento en el momento de llegada

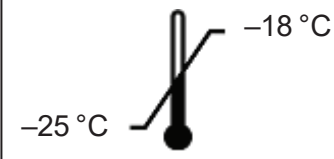
Los productos pueden alcanzar una estabilidad de al menos 12 meses a partir de la fecha de producción cuando se almacena según las instrucciones.

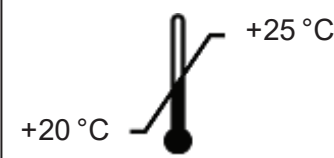
	<p>Placa de microtitulación MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent; MBT STAR Buffer; MBT STAR Matrix; MBT STAR Matrix Solvent; MBT STAR Calibrator; Water, deionized</p> <p>El MBT STAR-Cepha IVD Kit se puede enviar a temperatura ambiente.</p> <p>No obstante, los componentes de MBT STAR-Cepha IVD Kit, la placa de microtitulación MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent, MBT STAR Buffer, MBT STAR Matrix, MBT STAR Matrix Solvent, MBT STAR Calibrator y Water, deionized se deben guardar entre -18 y -25 °C inmediatamente después de la llegada, como indica en la etiqueta.</p> <p>La fecha de caducidad mencionada en el paquete es válida para los componentes del MBT STAR-Cepha IVD Kit si se almacena de forma consecuyente en el momento de su llegada.</p> <p>No utilice ningún componente caducado.</p>
--	---

4.3 Información sobre el almacenamiento tras la apertura o la disolución y la estabilidad

Algunos componentes del MBT STAR-Cepha IVD Kit están diseñados para el uso reiterado o se deben disolver antes de utilizarlos.



Los componentes abiertos o disueltos del kit pueden precisar de condiciones de almacenamiento diferentes. Asegúrese de almacenar los componentes abiertos o disueltos en las condiciones adecuadas.

 <p>-25 °C -18 °C</p>	<p>Placa de microtitulación MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent</p> <p>Una vez que lo haya sacado de la bolsa, el material sin usar (seco) de la placa de microtitulación MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent es estable a entre -18 y -25 °C (congelador) durante 6 meses como máximo o según se indica en la etiqueta. No realice más de treinta ciclos de congelación/descongelación.</p> <p>Utilice las bolsas de cierre a presión suministradas y etiquetadas para proteger la placa y evitar el derrame de solución antibiótica disuelta residual. Utilice siempre la cubierta de la placa para proteger la lámina de sellado; manipule y guarde la placa con la parte superior hacia arriba.</p> <p>MBT STAR Buffer; MBT STAR Matrix Solvent; MBT STAR Calibrator</p> <p>Una vez abierto, el MBT STAR Buffer es estable a una temperatura comprendida entre -18 °C y -25 °C, según se indica en la etiqueta. No realice más de 10 ciclos de congelación/descongelación.</p> <p>Una vez abierto, el MBT STAR Matrix Solvent es estable a una temperatura comprendida entre -18 °C y -25 °C, según se indica en la etiqueta. No realice más de 10 ciclos de congelación/descongelación.</p> <p>Una vez disuelto, el MBT STAR Calibrator es estable a una temperatura comprendida entre -18 °C y -25 °C durante 6 meses como máximo o según se indica en la etiqueta. No realice más de 10 ciclos de congelación/descongelación.</p>
---	--

 <p>+20 °C +25 °C</p>	<p>MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent; MBT STAR Matrix</p> <p>Una vez disuelto, el MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent es estable a una temperatura ambiente controlada (20-25 °C) durante un máximo de 8 horas.</p> <p>Una vez disuelto, la MBT STAR Matrix es estable a una temperatura ambiente controlada (20-25 °C) en la oscuridad durante un máximo de 24 horas.</p>
---	---

5 Información de riesgo y seguridad

5.1 Riesgos químicos

	<p>La MBT STAR Matrix Solvent está considerada una sustancia química peligrosa:</p> <p>GHS02 + GHS07: PELIGRO; ADVERTENCIA (H: 225, H302 + H312 + H332; H319)¹</p>
	<p>La MBT STAR Matrix está considerada una sustancia química peligrosa:</p> <p>GHS07: ADVERTENCIA (H: 315, 319, 335)²</p>

Para obtener más información, lea la Hoja de datos de seguridad que puede descargar desde www.bruker.com/msds.

Es posible que sea necesario usar más sustancias químicas y materiales en los procedimientos descritos en estas *Instrucciones de uso (IFU)*. Lea con atención las advertencias, instrucciones o las hojas de datos de seguridad suministradas por el proveedor y siga las normas generales de seguridad a la hora de manipular sustancias químicas, materiales biológicos peligrosos o materiales de otro tipo.

¹**Declaraciones de peligro:** H225: Líquido y vapores altamente inflamables. H302 + H312 + H332: Nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación. H319: Provoca irritación ocular grave.

Indicaciones de prudencia: P210: mantener alejado de fuentes de calor, superficies calientes, chispas, llamas abiertas y otras fuentes de ignición. No fumar. P233: Mantener el recipiente herméticamente cerrado. P241: Utilizar un material eléctrico, de ventilación o de iluminación /.../ antideflagrante. P243: Tomar medidas de precaución contra descargas electrostáticas. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/ los vapores/el aerosol. P270: No comer, beber ni fumar durante el uso de este producto. P271: Utilizar únicamente en exteriores o en un lugar bien ventilado. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse. P312: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/ médico/.../si la persona se encuentra mal. P330: Enjuagarse la boca. P362 + P364: Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P403 + P235: Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco. P501: Eliminar el contenido/el recipiente mediante una empresa de eliminación autorizada.

²**Indicaciones de peligro:** H315: Provoca irritación cutánea. H319: Provoca irritación ocular grave. H335: Puede irritar las vías respiratorias.

Indicaciones de prudencia: P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P312: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/ médico/.../si la persona se encuentra mal.


 Karina Valeria Traverso
 Responsable Técnica / Apoderada
 M.N. 14.733 - M.P. 26.293
 Becton Dickinson Argentina SRL

5.2 Riesgos biológicos

Es posible que el MBT STAR-Cepha IVD Kit y el sistema IVD MALDI Biotyper traten materiales biológicos potencialmente peligrosos. Todas las personas que trabajan con estos sistemas son responsables de leer y cumplir con todas las precauciones de higiene y seguridad necesarias.

Todas las muestras y cultivos microbianos o materiales y equipo asociados se deben considerar potencialmente infecciosos.

Solo el personal formado y cualificado del laboratorio debe trabajar con el MBT STAR-Cepha IVD Kit y el sistema IVD MALDI Biotyper, y es responsable de tomar y seguir todas las precauciones de seguridad necesarias para manipular materiales potencialmente infecciosos.

Es muy importante llevar equipo de protección individual adecuado (bata de laboratorio, guantes de protección y gafas de seguridad) en todo momento. Asegúrese de que su equipo de protección individual se encuentre siempre en perfecto estado.

Durante el Flujo de trabajo de Cepha, algunos reactivos pueden mezclarse con los microorganismos y, por lo tanto, con material biológico potencialmente peligroso. Además, muchos de los accesorios y productos consumibles utilizados entran en contacto con los microorganismos. Es responsabilidad del usuario manipular cuidadosamente, desechar correctamente y descontaminar las sustancias, los accesorios y los consumibles pertinentes de acuerdo con las normativas de seguridad locales y nacionales.

Nota Manipule siempre el material biológico con cuidado en un entorno de seguridad adecuado. El material biológico y los microorganismos bacterianos pueden ser infecciosos.

6 Materiales y productos químicos necesarios (no suministrados)

Para obtener los mejores resultados, utilice disoluciones recién preparadas y productos químicos compatibles con MALDI (por ejemplo, disolventes LC-MS). Tenga en cuenta la fecha de caducidad indicada por el proveedor del disolvente.

Además de los componentes del MBT STAR-Cepha IVD Kit, se necesitan los siguientes productos químicos y materiales. Algunos de ellos son necesarios únicamente para flujos de trabajo o procedimientos opcionales o alternativos (por ejemplo, la preparación de muestras derivadas de hemocultivos o de ciclos de Control de ID).

Nota Asegúrese de que el recipiente de almacenaje del disolvente estándar se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

Reactivos

- IVD Matrix HCCA-portioned (n.º 8290200, Bruker) (al que se denomina «IVD HCCA»)
- IVD Bacterial Test Standard (n.º 8290190, Bruker) (al que se denomina «IVD BTS»)

- Disolvente estándar (acetonitrilo 50 %, agua 47,5 % y ácido trifluoroacético 2,5 %) de
 - Sigma-Aldrich¹ (Bruker standard solvent, n.º 900666) o
 - Honeywell Riedel-de Haen² (Acetonitrile 50%, Water 47.5% and Trifluoroacetic acid 2.5%, n.º 19182) o
 - VWR International³ (SOLUTION OS, n.º PRLS89449.230),

que ha probado Bruker Daltonics GmbH & Co. KG y se recomiendan para la disolución del IVD HCCA y IVD BTS.

- Para el procesamiento de hemocultivos marcados positivamente: MBT Sepsityper IVD Kit (n.º 1834338, Bruker) y sus respectivos reactivos y consumibles; para obtener información detallada, consulte las instrucciones de uso del MBT Sepsityper IVD Kit.

Placas de muestras MALDI

Las siguientes placas de muestras MALDI son adecuadas para el Análisis Cepha y los ciclos de determinación de identificación:

- MSP 48 target polished steel BC (n.º 8281817, Bruker)
- MSP 96 target polished steel BC (n.º 8280800, Bruker)
- MBT Biotarget 96 (IVD) (n.º 1839298, Bruker) en combinación con MSP Biotarget Adapter (n.º 8267615, Bruker)

Productos consumibles

- Tubos de reacción compatibles con MALDI-TOF de 1,5 mL (por ejemplo, n.º 0030120.086, Eppendorf)
- Puntas de pipeta compatibles con MALDI-TOF: 0,5-20 µL, 2-200 µL, 50-1000 µL (por ejemplo, Eppendorf)
- Asas de siembra de 1 µL (por ejemplo, n.º L200-1, Simport)

Equipo estándar de laboratorio no suministrado

- Pipetas adecuadas para volúmenes de 1 µL a 1000 µL
- Gradillas para tubos
- Agitador vórtex
- Agitador con control de temperatura adecuado para la incubación de análisis a 35 (±2) °C (por ejemplo, Eppendorf Thermomixer comfort)
- Otros equipos de laboratorio generales u opcionales (por ejemplo, microcentrífugas de sobremesa con capacidad de 15 000 a 21 000 rcf, por ejemplo, Eppendorf 5424R)

Software y sistema IVD MALDI Biotyper

- Sistema IVD MALDI Biotyper (MBT)
- MBT Compass IVD Upgrade (n.º 1832771, Bruker)
- MBT STAR-BL IVD SW-Bundle (n.º 1850907, Bruker)

¹<https://www.sigmaaldrich.com>

²<https://www.lab-honeywell.com>

³<https://vwr.com>

Cepas de control

Se recomienda utilizar cultivos frescos que se hayan dejado reposar hasta el día siguiente (18-24 horas) de cepas de control positivas y negativas adecuadas junto con las muestras desconocidas en cada preparación del ciclo del Análisis Cepha. Consulte el Manual de usuario del *MBT STAR-BL IVD Module* para obtener más información.

La selección, el mantenimiento y la utilización de cepas de control positivas y negativas adecuadas son responsabilidad del usuario. Se deben seguir las directrices o normativas nacionales o locales de pruebas de β -lactamasa y de control de calidad¹. Los controles positivos (= actividad hidrolítica hacia los antibióticos cefalosporinas de 3^a generación) deben ser capaces de hidrolizar casi completamente el reactivo antibiótico de referencia suministrado con el MBT STAR-Cepha IVD Kit en las condiciones del análisis y el tiempo de incubación respectivos. Los controles negativos (= antibióticos no hidrolizados) no deben contener una actividad de cefalosporinasa hacia los antibióticos cefalosporinas de 3^a generación.

Las posibles cepas de control comercial incluyen, por ejemplo, CCUG62975 (para control positivo / control de calidad)² y ATCC[®] 25922[™] (para control negativo / control de calidad)³.

Nota De la cepa ATCC[®] 700603[™], también recomendada para el control de calidad de ESBL en varias directrices, se sabe que presenta una actividad enzimática variable y que no debe utilizarse con fines de control positivo / control de calidad en el Análisis Cepha.

Medios de crecimiento y de selección compatibles

Las muestras derivadas de cultivos en placa se validaron con agar Columbia con un 5 % de sangre de carnero (por ejemplo, Agar BD Columbia con un 5 % de sangre de carnero, n.º 254005, Becton Dickinson).

El Flujo de trabajo de Cepha también se puede procesar con subcultivos aislados en medios de cultivo estándar o selectivos, por ejemplo, BD Mueller Hinton II Agar (n.º 254032, Becton Dickinson), BD Trypticase Soy Agar II con 5 % de sangre de carnero (n.º 254053, Becton Dickinson), BD MacConkey II Agar (n.º 254025, Becton Dickinson), BBL CHROMagar Orientation Medium (n.º 257481, Becton Dickinson), BBL CHROMagar ESBL (Biplate) (n.º 257606, Becton Dickinson), Brilliance ESBL AGAR (n.º PO5302A, Oxoid), Brilliance UTI Agar (n.º PO5120A, Oxoid), chromID ESBL (n.º 43481, bioMérieux), chromID CPS Elite-Agar (n.º 418284, bioMérieux), agar BLSE (n.º AEB 5225770, bioMérieux), UriSelect 4 Medium (n.º 63726, BIO-RAD), RAPID'Enterobacteriaceae Medium (n.º 3554012, BIO-RAD), CHROMagar C3GR (n.º 15CGRT2, Mast Group), CHROMagar ESBL (n.º 201470, Mast Group), CHROMagar ESBL/VRE Bi-placas (n.º 202057, Mast Group), CHROMagar KPC / CHROMagar ESBL Bi-placas (n.º 202068, Mast Group), BD CLED Agar (n.º 254003, Becton Dickinson).

Para los análisis de MBT Sepsityper IVD, se requieren frascos de hemocultivo (por ejemplo, n.º 442192 [aerobio] o n.º 442193 [anaerobio], Becton Dickinson).

El Flujo de trabajo de MBT STAR-BL que incluye un Control de ID con un procedimiento de transferencia directa es aplicable generalmente para la mayoría de los tipos de medios disponibles. Sin embargo, para algunos medios selectivos cromogénicos, se conoce que los resultados de la identificación se pueden ver afectados por los respectivos tintes del agar, lo que da lugar, en algunos casos, a puntuaciones reducidas, resultados sin identificación fiable o, en casos aislados, sin identificación. Consulte también en el *Manual de usuario del MBT Compass IVD* una lista de medios de crecimiento validados para la identificación de MBT.

¹Por ejemplo: CLSI M100, M02, M07, M11 y M23 (www.clsi.org) o las directrices EUCAST (www.eucast.org).

²CCUG: Colección de cultivos de la Universidad de Gotemburgo (<http://www.ccug.se/>)

³ATCC: American Type Culture Collection; EE. UU. (<https://www.lgcstandards-atcc.org>)

- Nota** El uso de todos los medios que no estén en la lista de medios validados corre por cuenta y riesgo del usuario.
- Nota** Lea con atención las advertencias, instrucciones o las Hojas de datos de seguridad suministradas por el proveedor correspondiente y siga las normas generales de seguridad a la hora de manipular sustancias químicas, materiales biológicos peligrosos o materiales de otro tipo.

7 Procedimientos para la preparación de muestras con el MBT STAR-Cepha IVD Kit

Se recomienda el uso de MBT Biotarget 96 (IVD) desechable (n.º 1839298, Bruker).

- Nota** En cada ciclo, utilice únicamente componentes MBT STAR-Cepha IVD Kit (por ejemplo MBT STAR Matrix) de un lote determinado.

PRECAUCIÓN MALDI-TOF necesita la preparación de muestras homogéneas y la cristalización de matrices para conseguir el mejor rendimiento. Las condiciones ambientales, como la temperatura y la humedad, pueden afectar a la cristalización de la matriz y al rendimiento del MBT STAR-Cepha IVD Kit. El Flujo de trabajo de Cepha se debe realizar bajo unas condiciones climáticas determinadas, como las especificadas habitualmente para las zonas climáticas I y II que no superan los 25 °C y con una humedad relativa del 60 %. Además, se deben respetar las condiciones de manipulación y almacenamiento.

Utilice guantes adecuados en todo momento cuando manipule las muestras, los reactivos y el equipo. Para obtener más información, póngase en contacto con su especialista local de aplicaciones.

7.1 Cultivo de muestras desconocidas y cepas de control

Muestras desconocidas

Utilice cultivos frescos que se hayan dejado reposar hasta el día siguiente (18-24 horas) de las muestras de análisis cultivadas en un medio de cultivo de agar adecuado y hemocultivos marcados como positivos, respectivamente.

Cepas de control positivos y negativos

Para tener garantizada una actividad bioquímica suficiente de las cepas de control, se recomienda volver a cultivarlas durante la noche en un medio de cultivo de placa de agar adecuado tras el cultivo inicial a partir de cepas criogénicas.

Utilice cultivos de control frescos positivos y negativos que se hayan dejado reposar hasta el día siguiente (18-24 horas) tanto con preparados desconocidos derivados de placas como con preparados desconocidos derivados de hemocultivos (MBT Sepsityper IVD Kit).

Para que el Análisis Cepha funcione correctamente, se deben caracterizar las cepas de control positivo y negativo mediante un método alternativo aceptado de manera periódica.

General

Los cultivos bacterianos y los cultivos de sangre marcados como positivos deben almacenarse durante un máximo de 12 horas adicionales a temperatura ambiente después de la incubación inicial.

7.2 Preparación de reactivos

A menos que se indique lo contrario, se deberán realizar los siguientes procedimientos a temperatura ambiente controlada (20-25 °C).

Sugerencia *Etiquete cada tubo con la fecha de preparación para garantizar que los reactivos son nuevos y que no han superado la fecha de caducidad.*

Preparación del MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent

Nota Cada uno de los 96 pocillos de la placa de microtitulación de MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent contiene el material antibiótico necesario para una (1) muestra de incubación (muestra desconocida / muestra de control). Con cada muestra desconocida / muestra de control, se debe seleccionar un pocillo separado para la disolución del MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent.

1. Extraiga el MBT STAR Buffer y la placa de microtitulación MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent del congelador y espere a que alcancen la temperatura ambiente (20-25 °C). Mezcle el tampón brevemente utilizando un agitador vórtex.
2. Añada 75 µL de MBT STAR Buffer a cada pocillo de placa de microtitulación MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent necesario perforando la lámina de sellado con la punta de la pipeta. Agite siempre en vórtex el MBT STAR Buffer poco antes de su uso.

Nota Una vez que la placa de microtitulación del MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent se ha extraído de la bolsa, guarde la placa con los pocillos sin usar embalados en la parte superior de una bolsa con cierre de presión en un congelador por un período de hasta 6 meses o según se indica en la etiqueta. No realice más de 30 ciclos de congelación/descongelación.

3. Deje reposar la solución durante 1-2 minutos antes de continuar con la preparación de Análisis MBT STAR-BL.
4. Pipetee 50 µL del MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent disuelto de un solo pocillo a un tubo de reacción vacío de 1,5 mL.

Nota Use solamente material de un pocillo para preparar una muestra de incubación.

El flujo de trabajo esquemático aparece representado en Figura 2.



Karina Valeria Traverso
Coordinadora Técnica / Apoderada
H.N. 14.733 - M.P. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL



Figura 2 Flujo de trabajo esquemático de la preparación de MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent

Disolución de MBT STAR Calibrator

- Añada 25 μL de Water, deionized al sedimento de MBT STAR Calibrator y mézclelo con un agitador vórtex (2500 [\pm 500] rpm) durante 30 (\pm 5) segundos para disolverlo.
- Deje reposar la solución durante 5,0 (\pm 0,5) minutos y, a continuación, mézclela de nuevo con un vórtex (2500 [\pm 500]) durante 30 (\pm 5) segundos.
- Finalmente, centrifúguela brevemente (10 [\pm 5] segundos; 15 000- 21 000 rcf; temperatura ambiente).

Nota La solución MBT STAR Calibrator congelada debe descongelarse hasta que alcance la temperatura ambiente (20-25 $^{\circ}\text{C}$) y mezclarse golpeando suavemente el microtubo de tapa roscada con un dedo. Antes de usarla, debe centrifugarla brevemente (10 [\pm 5] segundos; 15 000-21 000 rcf; temperatura ambiente).

Nota ¡Los tubos de Water, deionized suministrados son de un solo uso! Deséchelos después de su uso.

Preparación del MBT STAR Matrix

- Extraiga el MBT STAR Matrix Solvent y un tubo de MBT STAR Matrix del congelador y espere a que los tubos alcancen la temperatura ambiente (20-25 $^{\circ}\text{C}$). Mezcle siempre bien el MBT STAR Matrix Solvent con un mezclador vórtex antes de seguir usándolo.

- Añada 50 μL del MBT STAR Matrix Solvent al tubo de la MBT STAR Matrix y mézclelos usando un agitador vórtex (2500 [\pm 500] rpm) durante 2,0 (\pm 0,5) minutos.

Nota Asegúrese de que el tubo con tapa roscada que contiene solución del MBT STAR Matrix se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

- Por último, agite el contenido.

8 Flujo de trabajo de Cepha

8.1 Flujo de trabajo de cultivos de placas

►► Preparación de las muestras opcionales del ciclo de determinación de Control de ID y realización del Análisis Cepha de los microorganismos derivados de la placa

- Configure el Análisis Cepha empleando el MBT STAR-BL IVD Module. Consulte el *Manual de usuario del MBT STAR-BL IVD Module* para obtener información sobre cómo preparar el Análisis Cepha junto con un ciclo de determinación de identificación de MBT (opcional).
- Imprimir el MBT STAR-BL Informe de incubación y el esquema de disposición de las placas de muestras MALDI proporcionado por el software, si es necesario.
- Con cada muestra, recoger varias colonias bacterianas morfológicamente similares (si es posible) a fin de no seleccionar una variante atípica llenando adecuadamente un (1) asa de inoculación (1 μL). Tenga cuidado de garantizar una cantidad de muestra suficiente (consulte la Figura 3).

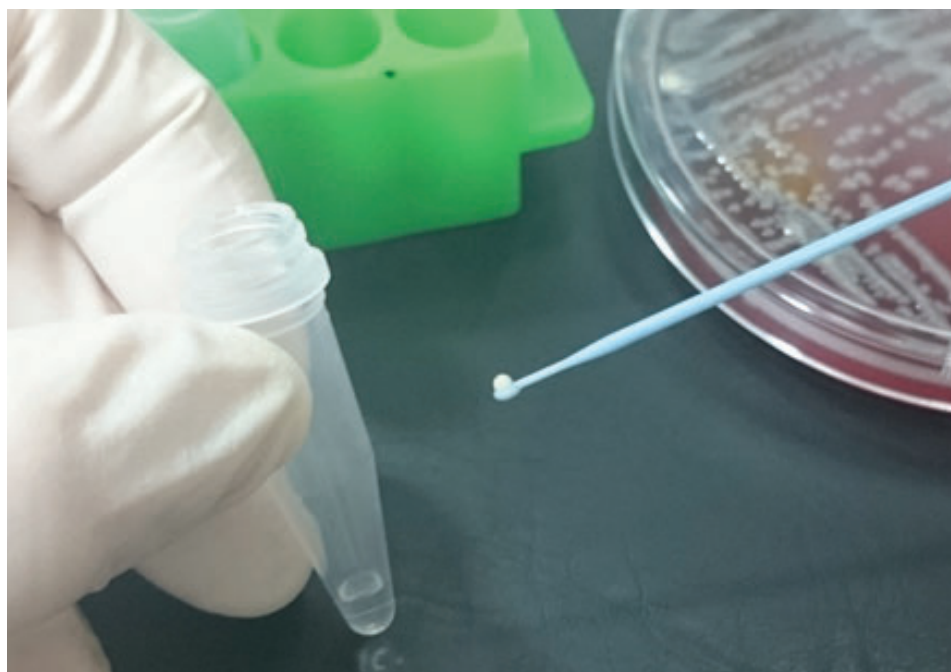


Figura 3 Ejemplo para ilustrar una cantidad típica suficiente de muestra

Para el ciclo de Control de ID de determinación de la identificación (opcional)

4. Opcionalmente, transfiera una pequeña cantidad del mismo material tocando la posición de las placas de muestras MALDI en Control de ID que ha asignado el MBT STAR-BL IVD Module (ver esquema de disposición de las placas de muestras MALDI en el ciclo de Control de ID) con el asa de inoculación. Tenga cuidado de no transferir demasiado material. Consulte en el *Manual de usuario del MBT Compass IVD* la cantidad adecuada. El uso de demasiado material puede dar lugar a resultados de determinación de identificación de baja calidad o ineficientes. Dependiendo del comportamiento de la cepa y del crecimiento, puede ser necesario recoger el material excedente directamente de la placa de cultivo para evitar el exceso de material. Asegúrese de escoger material de las mismas colonias. Consulte también la sección de limitaciones 10.

Para el ciclo del Análisis Cepha

5. Suspenda las bacterias que permanecen en el asa en un tubo que contenga una solución de 50 µL de MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent.
6. Mezcle la suspensión celular brevemente (10 [±5] segundos) usando un agitador vórtex (2500 [±500] rpm).
7. Incube las cepas desconocidas y las cepas de control a 35 (±2) °C durante 30 – 35 minutos con agitación (600-900 rpm).

Realización del ciclo de Control de ID de determinación de identificación (opcional)

8. Utilice un dispositivo de transferencia de colonias para distribuir con cuidado las bacterias colocadas en el paso 4 en cada posición de la placa de muestras MALDI del ciclo de Control de ID a fin de conseguir una capa fina y homogénea, y deje que se sequen las muestras. Otra opción consiste en usar un dispositivo de transferencia de colonias nuevo con cada una para transferir una pequeña cantidad del material de muestra respectivo desde la placa de cultivo correspondiente a la placa de muestras MALDI.
9. Deposite 1 µL de solución IVD BTS ¹ en la posición que asigne el MBT STAR-BL IVD Module (consulte el esquema de disposición de placas de muestras MALDI en el ciclo de Control de ID) y espere a que la gota de IVD BTS se seque a temperatura ambiente.

Nota Asegúrese de que el tubo con tapa roscada que contiene solución del IVD BTS se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

IMPORTANTE Compruebe atentamente si las gotas presentan contaminación cruzada, errores de posición o bien mezcla de líquido entre dos muestras y deseche la preparación en caso necesario.

¹Preparado según se describe en las instrucciones de uso correspondientes.

10. Recubra cada gota con 1 μ L de solución de IVD HCCA ¹.

PRECAUCIÓN Si no se agrega la disolución del IVD HCCA a las muestras durante los 30 minutos posteriores a su secado, no se pueden analizar estas posiciones.

IMPORTANTE Asegúrese de utilizar una solución de IVD HCCA preparada con disolvente² estándar.

Nota Asegúrese de que el tubo con tapa roscada que contiene solución del IVD HCCA se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

11. Deje secar las gotas a temperatura ambiente.
 12. Realice la medición del ciclo de Control de ID utilizando el MBT STAR-BL IVD Module.
 13. Después de finalizar el ciclo, revise los resultados de la identificación.

Lectura e interpretación del ciclo de Control de ID de determinación de identificación (opcional)

14. Consulte el *Manual de usuario del MBT STAR-BL IVD Module* para obtener información sobre la interpretación de los resultados.

Realización del ciclo del Análisis Cepha

IMPORTANTE Compruebe siempre si las gotas de las muestras de las placas de muestras MALDI presentan contaminación cruzada, si hay errores de posición, si faltan gotas de muestra o si hay una mezcla de líquido entre dos muestras y deseche la preparación en caso necesario.

IMPORTANTE Cualquier gota superpuesta de IVD HCCA en la placas de muestras MALDI debe secarse completamente antes de transferir las gotas al Análisis Cepha para evitar la interferencia del contenido ácido.

15. El MBT STAR-BL IVD Module asigna dos posiciones de la placa de muestras MALDI a cada muestra desconocida o de control. Consulte el esquema de disposición de placas de muestras MALDI del Análisis Cepha.

Después de la incubación del análisis, deposite 1 μ L de la muestra desconocida / muestra de control en cada una de las dos posiciones de la placas de muestras MALDI asignadas. No se requiere ningún paso de centrifugación.

Nota En caso de un rendimiento deficiente en la adquisición del espectro, puede ser necesaria la centrifugación de las muestras a 15 000-21 000 rccf durante 1 – 2 minutos y el uso posterior del sobrenadante en el Flujo de trabajo de Cepha. Si el problema persiste, póngase en contacto con su especialista de aplicaciones local de Bruker.

16. Deposite 1 μ L de solución de MBT STAR Calibrator en la posición definida en el esquema de disposición de placas de muestras MALDI del Análisis Cepha.

¹Preparado según se describe en las instrucciones de uso correspondientes.

²Disolvente estándar (acetoniitrilo al 50 %, agua al 47,5 % y ácido trifluoroacético al 2,5 %) de Sigma-Aldrich (Bruker standard solvent n.º 900666) o Honeywell Riedel-de Haen (Acetonitrile 50%, Water 47.5% and Trifluoroacetic acid 2.5% n.º 19182) o VWR International (SOLUTION OSn.º PRLS89449.230).

17. Deje que las gotas se sequen a temperatura ambiente y cubra cada gota con 1 µL de solución de MBT STAR Matrix.

Nota Asegúrese de que el tubo con tapa roscada que contiene solución del MBT STAR Matrix se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

18. Deje que las gotas se sequen a temperatura ambiente y realice la medición del ciclo del Análisis Cepha usando el MBT STAR-BL IVD Module.

PRECAUCIÓN Las placas de muestras MALDI de MBT STAR-BL preparadas deben analizarse en un período máximo de 60 minutos tras la preparación.

19. Después de finalizar el ciclo, revise los resultados del Análisis Cepha.

Lectura e interpretación del ciclo de Análisis Cepha

20. El método de procesamiento del MBT STAR-BL IVD Module automatizado determinará la actividad hidrolítica derivada de la cefalosporinasa de cada muestra, opcionalmente en comparación con muestras del control seleccionadas.

La clasificación será:

a. Hidrolizado (H)	→	Actividad de la cefalosporinasa hacia las cefalosporinas de 3 ^a detectadas / por encima de los umbrales.
b. Sin hidrolizar (NH)	→	Actividad de la cefalosporinasa hacia las cefalosporinas de 3 ^a generación no detectadas / por debajo de los umbrales.
c. Resultado confuso. Por favor, analizar de nuevo.	→	Actividad de la cefalosporinasa confusa. Vuelva a analizar las placas de muestras MALDI o las placas preparadas, o bien repita el análisis. Tiene la posibilidad de emplear una cantidad mayor de material bacteriano, un tiempo de incubación prolongado o un paso de centrifugación adicional tras la incubación. Además, puede ser necesario aplicar otras técnicas.
d. Mensaje de error debido a problemas técnicos o preparativos	→	Vuelva a analizar las placas de muestras MALDI o las muestras preparadas, o bien repita el análisis.

Consulte el *Manual de usuario del MBT STAR-BL IVD Module* para obtener más información sobre la interpretación de los resultados del Análisis Cepha.

8.2 Flujo de trabajo para hemocultivos positivos

- **Prepare las muestras de determinación de identificación y realice el Análisis Cepha a partir de los hemocultivos positivos obtenidos de un sedimento bacteriano (en lo sucesivo: «sedimento de Sepsityper») obtenido conforme el flujo de trabajo de Sepsityper antes de inactivar la célula bacteriana con etanol**

Nota El Análisis Cepha requiere una cierta cantidad de masa bacteriana para detectar una actividad enzimática presente. Cuando se utiliza el sedimento de Sepsityper obtenido de una muestra de hemocultivo, solamente se puede aplicar de forma adicional el flujo de trabajo rápido de Sepsityper con el procedimiento de preparación de muestras de transferencia directa a fin de realizar una identificación opcional o un ciclo del Control de ID con el mismo sedimento de Sepsityper, ya que el material restante se consumirá por completo en el Análisis Cepha. En caso de que la biomasa obtenida del sedimento de Sepsityper no sea suficiente, puede ser necesario un subcultivo, tiempos de incubación elevados de los hemocultivos antes de la recolección o un periodo de incubación prolongado del Análisis Cepha.

Para las repeticiones o para llevar a cabo el procedimiento de preparación de la muestra de extracción para una identificación de la muestra, se debe preparar un sedimento de Sepsityper preparado a partir del mismo hemocultivo.

Nota Utilice solamente el sedimento de Sepsityper (antes de la inactivación) para la realización del Análisis Cepha. La inactivación y la extracción de células pueden inactivar una cefalosporinasa presente, lo que podría dar lugar a resultados falsos negativos. Las muestras de control necesarias deben prepararse a partir de muestras de cultivo de placas (consulte la sección 8.1).

Nota Tenga cuidado de no intercambiar accidentalmente Sepsityper Lysis Buffer con MBT STAR Buffer.

Flujo de trabajo de preparación de muestras de hemocultivo del Análisis Cepha

Obtención de fluido de hemocultivo

1. Desinfectar el septum del frasco de toma de muestras de sangre con etanol al 70 % o similar.
2. Obtenga suficiente fluido del hemocultivo.

Preparación de sedimentos de Sepsityper con el MBT Sepsityper IVD Kit

Nota Los pasos adicionales del procedimiento que deben realizarse usando los frascos de hemocultivo de bioMérieux® que incluyen carbón activado están escritos en *cursiva*.

3. Transfiera 1 mL de fluido de hemocultivo a un tubo de reacción de 1,5 mL.
4. Añada 200 µL de Lysis Buffer y mezcle utilizando un agitador vórtex (máxima velocidad) durante 10 (±5) segundos.
 - a. Aplique 800 µL de esta mezcla a una columna de centrifugación SigmaPrep™ (Sigma-Aldrich SC1000-1KT).
 - b. Centrifugue durante 2 minutos a 400 rcf y deseche el filtro.
 - c. Continúe con el paso 6.
5. Centrifugue el tubo durante 2 minutos a entre 15 000 y 21 000 rcf a temperatura ambiente.
6. Quite el sobrenadante pipeteando y deséchelo.


 Kristina Alejandra Traverso
 Científica / Apoyada
 N.º. M.733 - M.P. 20.293
 Becton Dickinson Argentina SRL

7. Añada 1 mL de Washing Buffer y vuelva a suspender el preparado pipeteando hacia arriba y abajo.
8. Centrifugue el tubo durante 1 minuto a entre 15 000 rpm y 21 000 rcf a temperatura ambiente.
9. Retire el sobrenadante del sedimento de Sepsityper mediante pipeteado y deséchelo.

Nota Utilice únicamente sedimentos de Sepsityper de pureza suficiente. Consulte Figura 4 para ver un ejemplo. En caso de pureza insuficiente, realice un segundo paso de lavado utilizando el MBT Sepsityper IVD Kit del Washing Buffer conforme al flujo de trabajo de Sepsityper o bien repita la purificación completa a partir del cultivo de sangre positivo.

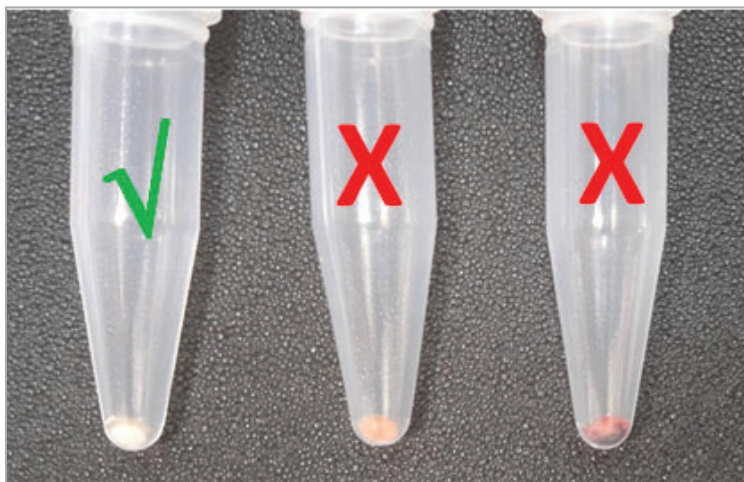


Figura 4 Ejemplo que ilustra la pureza y cantidad requeridas del sedimento de Sepsityper. Utilice únicamente sedimentos con una pureza comparable a la del sedimento con la marca verde. El sedimento de Sepsityper no debe ser de color rojo ni rojizo.

Realización del flujo de trabajo (opcional) rápido de Sepsityper para la determinación en el Control de ID mediante el procedimiento de preparación de muestras de transferencia directa

10. Configure el Análisis Cepha empleando el MBT STAR-BL IVD Module. Consulte el *Manual de usuario del MBT STAR-BL IVD Module* para obtener información sobre cómo preparar el ciclo del Análisis Cepha junto con un ciclo de determinación de identificación de MBT Sepsityper IVD (Control de ID). Imprima el Informe de Incubación MBT STAR-BL y el informe de preparación de las placas de muestras MALDI que proporciona el software, si es necesario.
11. Con un dispositivo de transferencia, como un palillo de dientes, transfiera un poco de material del sedimento de Sepsityper a cada posición de muestra de las placas de muestras MALDI del Control de ID para obtener una capa fina y homogénea.

Nota El sedimento de Sepsityper restante se consumirá para realizar el Análisis MBT STAR-BL (paso 19).

12. Seque la gota a temperatura ambiente.
13. Para la validación del sistema IVD, pipetee 1 μ L de la solución de IVD BTS en la posición asignada por el MBT STAR-BL IVD Module (consulte el esquema de disposición de las placas de muestras MALDI en el ciclo de Control de ID) y deje que la gota de IVD BTS se seque a temperatura ambiente.

Nota Asegúrese de que el tubo con tapa roscada que contiene solución del IVD BTS se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

Verónica Traverso
 Verónica Traverso
 Casadoro Técnica / Apoderada
 M.N. 14.733 - M.P. 26.293
 Becton Dickinson Argentina SRL

14. Recubra cada gota con 1 µL de solución de IVD HCCA.

PRECAUCIÓN Si no se agrega la disolución del IVD HCCA a las gotas de muestras y a las gotas del IVD BTS durante los 30 minutos posteriores a su secado, no se pueden analizar estas posiciones.

IMPORTANTE Asegúrese de utilizar una solución de IVD HCCA preparada con disolvente¹ estándar.

Nota Asegúrese de que el tubo con tapa roscada que contiene solución del IVD HCCA se cierra herméticamente después de utilizarlo con el fin de reducir al mínimo la evaporación del disolvente.

15. Deje secar las gotas a temperatura ambiente.

16. Realice la medición del ciclo de Control de ID utilizando el MBT STAR-BL IVD Module.

17. Después de finalizar el ciclo, revise el informe de verificación de identificación.

Lectura e interpretación del ciclo de identificación de control en la determinación de la identificación (opcional)

18. Consulte el *Manual de usuario del MBT STAR-BL IVD Module* para obtener información sobre la interpretación de los resultados.

Realización del ciclo del Análisis Cepha

19. Con las cepas de control y las muestras desconocidas, proceda de la siguiente manera:

- Con las cepas de control derivadas de la placa, proceda como se describe anteriormente para el flujo de trabajo de cultivo de placas (consulte en la sección 8.1 el paso «Para la ejecución del ciclo del Análisis Cepha»)
- En el caso de muestras desconocidas derivadas de hemocultivos, haga lo siguiente:
 - Transfiera 50 µL del MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent disuelto al resto del sedimento de Sepsityper obtenido con el flujo de trabajo de Sepsityper (consulte el paso 11).
 - Mezcle la suspensión celular brevemente (10 [±5] segundos) con un agitador vórtex (2300-3200 rpm).

20. Incube las muestras derivadas de hemocultivos a 35 (±2) °C durante 30–35 minutos con agitación (600-900 rpm).

21. Después de la incubación de las muestras, continúe como se describe anteriormente para el flujo de trabajo de cultivo de placas (consulte la sección 8.1, paso «Realización del Análisis Cepha»).

Lectura e interpretación del ciclo de Análisis Cepha

22. El método de procesamiento del MBT STAR-BL IVD Module automatizado determinará la actividad hidrolítica de cada muestra en comparación con las muestras del control de calidad respectivas.

Para la descripción de los posibles resultados de la clasificación, consulte el flujo de trabajo cultivo de lacas (véase la sección 8.1 «Lectura e interpretación del Análisis Cepha ciclo»).

¹Disolvente estándar (acetoniitrilo al 50 %, agua al 47,5 % y ácido trifluoroacético al 2,5 %) de Sigma-Aldrich (Bruker standard solvent n.º 900666) o Honeywell Riedel-de Haen (Acetonitrile 50%, Water 47.5% and Trifluoroacetic acid 2.5% n.º 19182) o VWR International (SOLUTION OSn.º PRLS89449.230).

9 Rendimiento

Las características de rendimiento del MBT STAR-Cepha IVD Kit se establecieron en un estudio retrospectivo multicéntrico de evaluación del rendimiento. Se analizó un panel común de muestras de cepas enmascaradas de enterobacterias (en total 150 cepas individuales; véase Tabla 1) con actividad conocida de cefalosporinasa hacia los antibióticos cefalosporinas de 3^a generación (por ejemplo, ninguno, ESBL, AmpC o Carbapenemasa) así como también aislamientos clínicos recientes o frescos específicos del centro (al menos 30 muestras por centro).

Se evaluó la reproducibilidad en un subconjunto de las muestras de cepas en tres centros, y la reproducibilidad intracentro osciló entre el 95,6 y el 100 %, mientras que la reproducibilidad intercentros se fue del 97,8 %.

Se analizaron hemocultivos derivados del panel de muestras de cepas siempre después del cultivo en paralelo de hemocultivos de aerobios y anaerobios y la limpieza posterior de muestras mediante el MBT STAR-Cepha IVD Kit.

Tabla 1 Muestras del panel de muestras de cepas de evaluación empleadas para el estudio de evaluación del rendimiento por centro

Panel de análisis	Número total de especies	Microorganismo que no tiene actividad hidrolizante (NH)	Microorganismo que tiene actividad hidrolizante (H)
<i>Cultivo de placas</i> Panel de muestras de cepas	30	15	15
<i>Hemocultivo* aerobios</i> Panel de muestras de cepas	120*	58*	62*
<i>Hemocultivo* anaerobios</i> Panel de muestras de cepas	120*	58*	62*
<i>Hemocultivo fresco/reciente</i> Aislados clínicos	≥ 30	varios	varios
Número total de muestras	≥ 300		

* Las especies del panel de muestras de cepas para hemocultivos se cultivaron tanto en condiciones aerobias como anaerobias.

La preparación de muestras y el análisis de las muestras de estudio se realizaron conforme a los flujos de trabajo descritos en la sección 8.1 en el caso de las muestras derivadas de cultivos en placas y los descritos en la sección 8.2 en el caso de las muestras derivadas de hemocultivos.

Resultados del estudio de la evaluación del rendimiento

En total se analizaron 964 muestras en tres centros independientes. Los principales resultados del análisis del rendimiento se resumen en Tabla 2.

Tabla 2 Resumen de los resultados del estudio de evaluación del rendimiento (3 centros europeos)

Tipo de muestra	Número total de muestras analizadas	Número de muestras finalmente sin resultados o con resultados poco claros	% de exactitud	% de sensibilidad	% de especificidad
Cultivo de placas	90	3	96,7	100	93,3
Hemocultivo* aerobios	429	27	93,7	95,8	91,1
Hemocultivo* anaerobios	445	41	90,8	90,9	90,7
Hemocultivo total* (aerobios + anaerobios)	874	68	92,2	93,3	90,9
Total (placa + hemocultivo)	964	71	92,6	93,8	91,2

* Las muestras de hemocultivo comprenden el panel de muestras de cepas y los aislados clínicos.

Nota Los datos de rendimiento clínico presentados aquí se obtuvieron mediante un procedimiento de flujo de trabajo inicial. Las instrucciones de uso contienen un flujo de trabajo optimizado en lo que respecta a la usabilidad y los componentes de accesorios disponibles. Se ha puesto de manifiesto una equivalencia de rendimiento sustancial.

Se aconseja emplear controles positivos y negativos en cada ciclo. Habilitar la opción de controles reducidos (control positivo válido hasta 7 días) puede dar lugar a un descenso de la sensibilidad y la selectividad generales de entre el 1 y 4 % por lo general.

10 Limitaciones del método

- Como el Análisis Cepha es un análisis bioquímico para detectar una actividad hidrolítica hacia un antibiótico, se podrán detectar todas las muestras que presenten actividad hidrolítica hacia el antibiótico de referencia cefalosporina de 3^a generación, lo cual incluye, por ejemplo, ESBL, AmpC y cepas que expresen carbapenemasa. No se detectarán las actividades enzimáticas de la β lactamasa que no pueda hidrolizar antibióticos cefalosporinas de 3^a generación.
- Es preferible emplear muestras derivadas de hemocultivos aerobios en vez de hemocultivos anaerobios para obtener los mejores resultados.
- En el caso de los hemocultivos mixtos que consten de microorganismos hidrolíticos y no hidrolíticos, no se puede garantizar la detección de la actividad hidrolizante. La detección de la actividad presente depende de la ratio de crecimiento *in vitro* impredecible de los organismos mezclados, así como del índice de expresión y la actividad hidrolítica de las cepas respectivas. Los cultivos mixtos deberán purificarse antes de procesarlos en el Análisis Cepha.

- El Análisis Cepha solamente puede detectar una actividad de cefalosporinasa presente, y requiere de la enzima respectiva expresada y funcional en suficiente cantidad y disponibilidad. Un resultado negativo del Análisis Cepha se debe considerar como un posible “falso negativo” (sin hidrolizar) y no se puede utilizar para determinar una decisión terapéutica o diagnóstica debido a las razones mencionadas anteriormente o a la posible presencia de mecanismos de resistencia adicionales o alternativos.

Nota Solo un profesional experimentado en microbiología clínica debe evaluar los resultados definitivos del análisis.

- El procedimiento de preparación de la muestra mediante transferencia directa descrito o el uso de material en exceso de la placa de cultivo para la preparación de los ciclos opcionales de Control de ID del Flujo de trabajo de Cepha deben considerarse meramente informativos, ya que el procedimiento de transferencia directa no es apto para una determinación de identificación de alta calidad en todos los casos. El uso de material celular que no sea el material usado directamente para el Análisis Cepha puede tener una composición genética diferente. Para obtener más información, póngase en contacto con el especialista de aplicaciones de Bruker.

11 Curso de formación de la aplicación del Análisis Cepha

Un especialista de aplicaciones de Bruker con la formación adecuada le proporcionará formación específica sobre la aplicación del Análisis Cepha. Debe proporcionarse antes del uso inicial.

Para obtener más información, póngase en contacto con el representante local de ventas de Bruker.



Kirina Valeria Traverso
Categoría Técnica / Apoderada
M.N. 14.733 - M.J. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL

12 Guía rápida de MBT STAR-Cepha IVD Kit

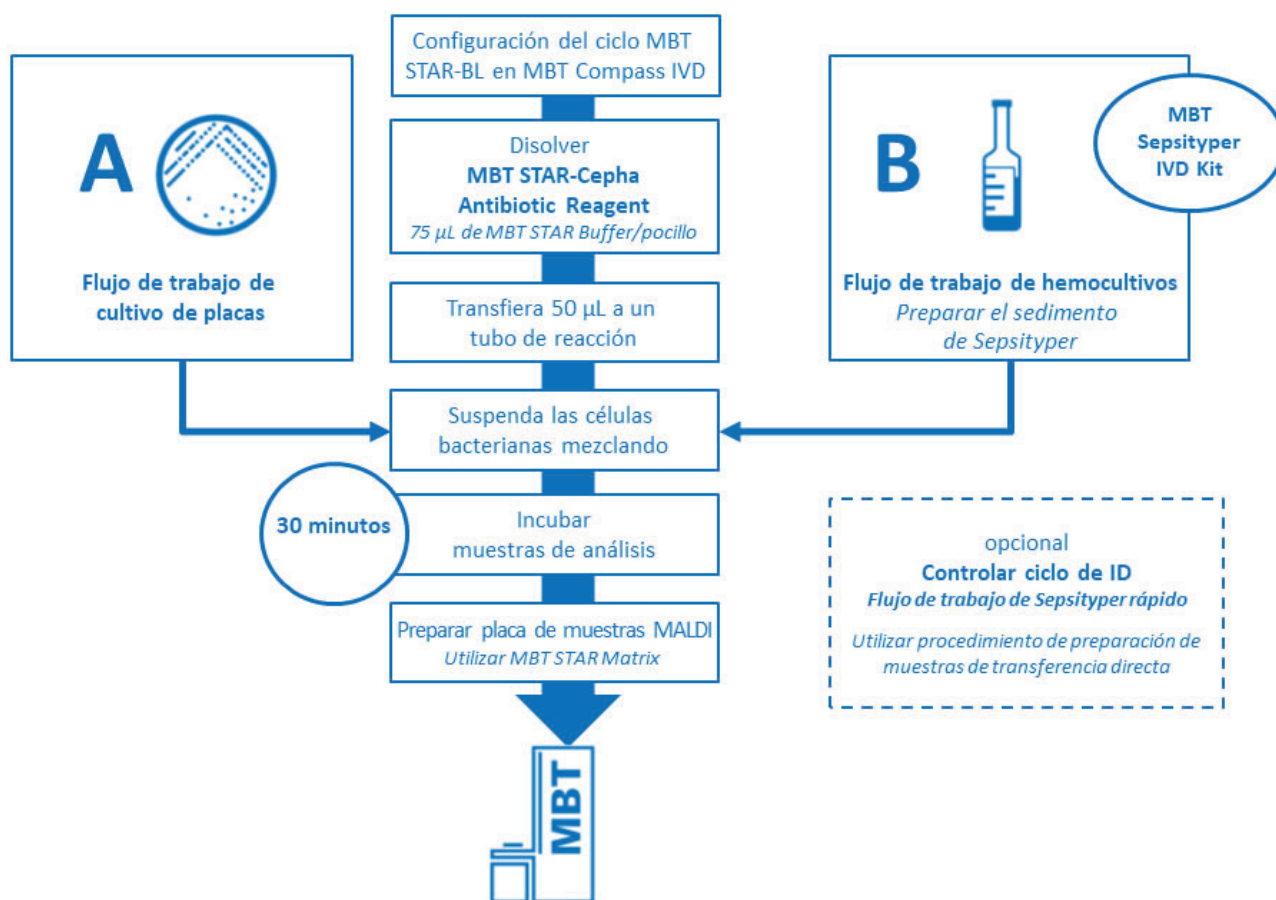
Antes de empezar

- Disuelva / descongele / prepare todos los componentes del análisis de acuerdo con las respectivas instrucciones de uso.
- Configure el Flujo de trabajo de Cepha mediante el MBT STAR-BL IVD Module.

Preparación del análisis

1. Suspenda muestra bacteriana en 50 μ L de MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent disuelto.
2. Mezcle brevemente e incube 30-35 minutos a 35 (\pm 2) °C en agitación (600-900 rpm).
3. Deposite 1 μ L en cada una de las dos posiciones de las placas de muestras MALDI por cada muestra.
4. Deposite 1 μ L de MBT STAR Calibrator en la posición indicada de la placa de muestras MALDI.
5. Deje que las gotas se sequen a temperatura ambiente y cubra cada gota con 1 μ L de solución de MBT STAR Matrix.
6. Deje que las gotas se sequen a temperatura ambiente y mida la placa de muestras MALDI en el plazo de 60 minutos.

Resumen del Flujo de trabajo de Cepha



13 Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en la etiqueta:

	Número de catálogo
	Marca CE
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Fabricante
	Límite de temperatura
	Inflamable
	Riesgos para la salud
	Código de lote
	Bolsa para guardar la placa de microtitulación del MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent abierta inicialmente
	Utilizar antes del
	No usar si el envoltorio está dañado
	Mantener alejado de la luz solar
	No reutilizar
	Contiene suficiente para <n> análisis
	Consulte las instrucciones de uso

14 Fabricante



Bruker Daltonics GmbH & Co. KG

Fahrenheitstraße 4
28359 Bremen
Alemania

Servicio de asistencia

Correo electrónico: biotyper.support@bruker.com

Teléfono: +49 421 2205-1401

Fax: +49 421 2205-106

Información de ventas

Para obtener información general, póngase en contacto con
ms.sales.bdal@bruker.com

Correo electrónico:

Para obtener información sobre pedidos, póngase en
contacto con care@bruker.com

Teléfono: +49 421 2205-0

Página web: www.bruker.com/care

Las descripciones y especificaciones sustituyen toda información anterior.

© Copyright 2021 Bruker Daltonics GmbH & Co. KG


Karina Gabriela Traverso
C.A. Representación Técnica / Apoderada
P.N. 14.733 - M.P. 20.293
Becton Dickinson Argentina SRL



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: BECTON DICKINSON ARGENTINA SRL. rótulos e instrucciones de uso

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 59 pagina/s.

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.01.11 08:20:38 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.01.11 08:20:38 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
1983/2023 - 40 AÑOS DE DEMOCRACIA

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-004018-22-7

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente Nº 1-0047-3110-004018-22-7

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por Becton Dickinson Argentina S.R.L. ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Comercial: Prueba de resistencia a antimicrobianos.

Indicación/es de uso:

1) MBT STAR-Carba IVD Kit está indicado para su uso junto con otros resultados clínicos y de laboratorio para ayudar a conseguir una detección rápida de la actividad de las carbapenemasas prevalentes de clase A, B o D en bacterias gramnegativas Enterobacteriaceae, Pseudomonas spp. y Acinetobacter spp. cultivadas a partir de muestras humanas con el sistema IVD MALDI Biotyper.

2) MBT STAR-Cepha IVD Kit está indicado para utilizarlo junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio

para detectar con mayor rapidez la actividad prevalente de cefalosporinasa hacia cefalosporinas de 3^a generación presentes en enterobacterias subcultivadas a partir de muestras humanas mediante sistema IVD MALDI Biotyper.

Forma de presentación: 1) MBT STAR-Carba IVD Kit: Contiene suficientes reactivos para preparar un mínimo de 20 ciclos de análisis. El MBT STAR-Carba IVD Kit contiene los siguientes componentes:

- MBT STAR-Carba Antibiotic Reagent: 20 bolsas (secas), cada una con 3 tubos de un solo uso.
- MBT STAR Buffer: 2 tubos (1,75 mL cada uno)
- MBT STAR Matrix: 20 tubos (secos)
- MBT STAR Matrix Solvent: 2 tubos (1,0 mL cada uno)
- MBT STAR Calibrator: 2 tubos (secos)
- Agua deionizada: 2 tubos (200 µL cada uno)

2) MBT STAR-Cepha IVD Kit: Contiene suficientes reactivos como para preparar como mínimo 20 ciclos individuales de Análisis Cepha. El MBT STAR-Cepha IVD Kit contiene los siguientes componentes:

- MBT STAR-Cepha Antibiotic Reagent (seco): 1 bolsa contiene una sola placa de microtitulación de 96 pocillos.
- MBT STAR Buffer: 5 tubos (1,75 mL cada uno)
- MBT STAR Matrix: 20 tubos (seco)
- MBT STAR Matrix Solvent: 2 tubos (1,0 mL cada uno)
- MBT STAR Calibrator: 2 tubos (secos)
- Agua deionizada: 2 tubos (200 µL cada uno)

Período de vida útil: 1) MBT STAR-Carba IVD Kit: 1 año, conservar entre -25° C y -18° C.

2) MBT STAR-Cepha IVD Kit: 1 año, conservar entre -25° C y -18° C.

Nombre del fabricante:

Bruker Daltonics GmbH & Co. KG.

Lugar de elaboración:

Fahrenheitstr 4, 28359 Bremen, Alemania.

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 634-616 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

Expediente N° 1-0047-3110-004018-22-7

N° Identificador Trámite: 40069

AM

Digitally signed by Gestion Documental Electronica
Date: 2023.01.25 13:33:41 -03:00

Digitally signed by Gestion Documental
Electronica
Date: 2023.01.25 13:33:42 -03:00