

NG-Test CARBA 5

Schnelltest zum Nachweis von Carbapenemase KPC, OXA, VIM, IMP und NDM in einer Bakterienkultur
Ausschließlich für den professionellen Gebrauch als In-vitro-Diagnostikum

Verwendung

NG-Test CARBA 5 ist ein qualitativer immunologischer Schnelltest zum Nachweis der Carbapenemase KPC, OXA, VIM, IMP, NDM in einer Bakterienkultur.

Dies ist ein diagnostisches *in vitro*-Testverfahren für ausschließlich professionellen Gebrauch für die schnelle Identifizierung von antibiotikaresistenten Bakterien.

Zusammenfassung

β -Lactamine sind First-Line-Antibiotika bei der Behandlung enterobakterieller Infektionen. Jedoch wurde seit Beginn ihrer Massenproduktion in den 1940er Jahren ihre Wirksamkeit mit der Produktion von Enzymen mit inaktivierender Wirkung konfrontiert: den β -Lactamasen. Unter diesen sind Carbapenemase in der Lage, Carbapenem-Antibiotika zu hydrolysieren.

Vor den 1990er Jahren waren die meisten Antibiotikaresistenzen mit der Produktion von β -Lactamasen mit Enlarged Spectrum (ESBL) der Klassen A, B, C und D Ambler-Klassifikation verbunden. Nachfolgende Untersuchungen ergaben einen Anstieg der Carbapenemase-Produktion bei Enterobakterien.

Unter diesen Carbapenemase hat sich die β -Lactamase KPC (Klasse A) in den 2000er Jahren weltweit verbreitet. Danach haben sich die metallo- β -Lactamine (MBL) vom Typ IMP, VIM und NDM (Klasse B) sowie OXA-48 (Klasse D) verbreitet.

Sie treten vor allem in Krankenhäusern auf und verursachen die meisten nosokomialen Erkrankungen. Sie stellen ein großes Problem für die globale Gesundheit dar, zumal sie schwer nachweisbar sind.

Prinzip

Monoklonale Maus-Antikörper gegen KPC (K), OXA (O), VIM (V), IMP (I) und NDM (N) werden auf den Testzonen der Nitrocellulosemembran K, O, V, I und N immobilisiert.

Der Test wird durch Verteilen der Probe in der Mulde der Kassette durchgeführt. Die Probe wandert durch das Konjugationspapier und die Enzyme, falls vorhanden, reagieren mit den monoklonalen Antikörpern gegen markierte Carbapenemase. Der Komplex wandert durch Kapillarwirkung durch die Nitrocellulose-Membran und interagiert mit den entsprechenden monoklonalen Antikörpern gegen markierte Carbapenemase, die membrangebunden sind.

Der Kontrollstreifen C wird durch markiertes Streptavidin und markierte monoklonale Antikörper gebildet, die mit membrangebundenen polyklonalen Ziegen-Antikörpern und Biotin-BSA reagieren.

Wenn die Probe für eine oder mehrere Carbapenemase positiv ist, erscheint ein roter Streifen auf der/den Testzone(n) und der Kontrollzone auf der Membran. Anderenfalls erscheint nur im Kontrollbereich eine rote Linie.

Reagenzien und mitgeliefertes Material

Jedes Testset enthält:

- 20 Testkassetten im Aluminiumbeutel mit Trockenmittel
- 20 Eppendorfgefäße
- 20 Pipetten 100 μ L
- 1 Extraktionspuffer-Lösung in Kunststoffflasche (4,5 mL)
- 1 Bedienungsanleitung

Erforderliche Materialien, nicht im Lieferumfang enthalten

- Stoppuhr
- Einweghandschuhe
- Öse
- Vortexmischer

Vorsichtsmaßnahmen

- Test für *In-Vitro*-Diagnostik für den professionellen Gebrauch.
- Alle Maßnahmen sind gemäß guter Laborpraxis durchzuführen.
- Nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Die Produkte müssen bis zur Verwendung in den verschlossenen Beuteln verbleiben.
- Proben müssen als potentiell infektiös behandelt werden.
- Die gebrauchten Tests in einem geeigneten Behälter für infektiöse Abfälle entsorgen.
- Die Produkte dürfen nicht wiederverwendet werden.

Lagerung und Stabilität

Die Produkte im geschlossenen Beutel bei 4-30°C aufbewahren. Die Kits sind bis zum dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nicht einfrieren.

Nährmedium und Probengewinnung

Die zu untersuchenden Proben müssen nach mikrobiologischen Standardmethoden gewonnen und behandelt werden. Eine Kolonie wird von einer Agarplatte entnommen. Um eine optimale Testleistung zu erzielen, wird dringend empfohlen, frische Bakterienkolonien zu verwenden.

Empfohlene Nährböden

Luria Broth (LB) und LB-Agar, Trypticase Soja-Agar (TSA), Mueller-Hinton-Agar und URI-4, Columbia-Agar mit 5% Pferdeblut, ChromIDTM ESBL-Agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski-Laktose-Agar (DRIG) CHROMagar™ mSuperCARBA™.

Arbeitsanweisungen

1. Schutzhandschuhe tragen.
2. Die Bestandteile des Sets für mindestens 10 Minuten auf Raumtemperatur bringen.

Probenvorbereitung

1. 5 Tropfen (150 μ L) des Extraktionspuffers in ein mitgeliefertes Eppendorfgefäß geben.
2. Von einer Kultur auf einer Agarplatte mithilfe einer Öse eine Kolonie entnehmen und dann im Eppendorfgefäß mit 150 μ L Extraktionspuffer-Lösung suspendieren.
3. Reaktionsgefäß schließen.
4. Mit dem Vortexmischer mischen, um die Mischung vor dem Gebrauch zu homogenisieren.

Durchführung des Tests

1. Den Beutel öffnen und das Produkt entnehmen. Den Test sofort nach dem Öffnen verwenden.
2. Mit Hilfe der mitgelieferten Pipette 100 μ L der vorbereiteten Mischung entnehmen (die Probe bis zum auf der Pipette angegebenen schwarzen Strich, genau 100 μ L ansaugen) und in die Probenmulde „S“ geben.
3. Das Ergebnis nach 15 Minuten wie unten angegeben ablesen.

HINWEIS: Die Testergebnisse nicht nach 20 Minuten interpretieren, da sie variieren und möglicherweise zu falsch positiven Ergebnissen führen können.

Interpretation der Ergebnisse

Negatives Ergebnis



Negativ

Im Kontrollbereich (C) erscheint nur eine rote Linie. Die Probe enthält keine Carbapenemase oder einen nicht nachweisbaren Pegel und sollte als negatives Ergebnis interpretiert werden.

Positives Ergebnis



VIM
Positiv

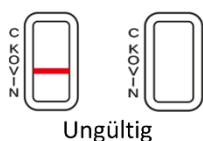
Wenn im Kontrollbereich (C) eine rote Linie oder mehrere Linien in den Bereichen K, O, V, I, N angezeigt werden, enthält die Probe eine oder mehrere Carbapenemase und ist als positives Ergebnis zu deuten.

HINWEIS: Die Intensität der roten Farbe der Testlinie (T) variiert je nach Konzentration der in der Probe enthaltenen Carbapenemase. Eine Linie mit geringer Farbintensität ist als positives Ergebnis zu deuten.

NG-Test CARBA 5

Schnelltest zum Nachweis von Carbapenemasen KPC, OXA, VIM, IMP und NDM in einer Bakterienkultur
Ausschließlich für den professionellen Gebrauch als In-vitro-Diagnostikum

Ungültiges Ergebnis



Wenn die Kontrolllinie (C) nicht angezeigt wird, ist das Testergebnis ungültig. Ein zu geringes Volumen der Probe oder falsche Handhabung sind die häufigste Ursache einer fehlenden Kontrolllinie. Das Set kann auch beschädigt worden sein. Wiederholen Sie den Vorgang mit einem neuen Test. Wenn das Problem weiterhin besteht, das Set nicht wiederverwenden und Händler kontaktieren.

Qualitätskontrolle

Im Test ist eine interne Kontrolle enthalten. Die Anzeige der Kontrolllinie „C“ im Display bestätigt ein ausreichendes Probenvolumen und eine korrekte Vorgehensweise.

Einschränkungen

Dieser Test ist qualitativ und kann daher keinen quantitativen Wert liefern. Dieser Test sollte als Hilfsmittel bei der schnellen Identifizierung von Patienten eingesetzt werden, die Träger einer Carbapenem-Antibiotikaresistenz sind. Die erzielten Ergebnisse müssen durch alternative oder zusätzliche Diagnoseverfahren bestätigt werden. Ein positiver oder negativer Test schließt das Vorhandensein anderer Antibiotika-Resistenz-Mechanismen nicht aus.

Testleistungen und Eigenschaften

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze wurde mittels gereinigter rekombinanter Enzyme festgestellt:

KPC	600 pg/mL
OXA	300 pg/mL
VIM	300 pg/mL
IMP	200 pg/mL
VIM	150 pg/mL

Klinische Validierung

Der NG-Test CARBA 5 wurde im CNR (Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Paris, Frankreich) während einer Prospektivstudie validiert. 116 Stämme wurden im Blindtest untersucht und die Ergebnisse wurden mit der PCR Sequenzierung verglichen. Ein Isolat, das IMI produziert, wurde von der Analyse ausgeschlossen, da dieser „Typ“ bei der Anwendung des Tests nicht vorgesehen ist.

NG-Test CARBA 5		PCR		
		Positiv	Negativ	Gesamt
	Positiv	70	0	70
	Negativ	0	45	45
	Gesamt	70	45	115

Sensitivität:	100%	CI 95% = 93,5 - 100%
Spezifität:	100%	CI 95% = 90,4 - 100%

Analytische Spezifität










Mit einer vom CNR durchgeführten retrospektiven Bewertung von 180 Stämmen mit der PCR konnten die folgenden Carbapenemasen Varianten vom NG-Test CARBA 5 detektiert werden:

NDM Typ: NDM-1 -4 -5 -6 -7 -9
KPC Typ: KPC-2 -3
IMP Typ: IMP-1 -8 -11
VIM Typ: VIM-1 -2 -4 -19
OXA-48-like: OXA-48 -162 -181 -204 -232 -244 -517 -519 -535
Nicht-Carbapenemasen (Kreuzreaktivität): OXA-163 und OXA-405 (OXA-48-ähnliche Extended Spectrum Oxacillinasen mit sehr geringer Carbapenemase-Aktivität)
Hinweis: Die obige Liste kann nicht vollständig sein.

Bibliographie

- Yohei D et al. Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Semin Respir Crit Care Med.* 2015; 36(1): 74–84.
- Nordmann P et al. Rapid Detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerging Infectious Diseases.* 2012; 18(9).
- Bush K et al. Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2010; 54(3):969-976.
- Nordmann P et al. Carbapenemasen in enterobacteriaceae. *Archives de Pédiatrie.* 2010;17:S154-S162.
- Demir Y et al. Investigation of VIM, IMP, NDM-1, KPC AND OXA-48 enzymes in Enterobacteriaceae strains. *Pak J Pharm Sci.* 2015; May;28(3 Suppl):1127-33.
- Oteo J et al. Evolution of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae at the global and national level: what should be expected in the future? *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014; 32 Suppl 4:17-23.
- Kulkarni MV et al. Use of imipenem to detect KPC, NDM, OXA, IMP, and VIM carbapenemase activity from gram-negative rods in 75 minutes using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2014; 52(7):2500-5.
- Boutal H et al. A multiplex lateral flow immunoassay for the rapid identification of NDM-, KPC-, IMP- and VIM-type and OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother.* 2018.

Symbole

	Inhalt		Mindesthaltbarkeitsdatum
	Für In-vitro-Diagnostik		Einmalige Verwendung
	Chargennummer		Referenznummer
	Bedienungsanleitung lesen		Lagerung
	An einem trockenen Ort lagern	Enthält NaN3	Natriumazid 0,01%

NG Biotech

Z.A. Courbouton, Secteur 1,
35480 Guipry Frankreich
Tel: +33 (0) 2 23 30 17 83 Fax: +33 (0) 9 71 70 53 10
E-Mail: info@ngbiotech.com



Dieser Test wurde in Zusammenarbeit mit CEA* entwickelt.

*Das Commissariat für Atomenergie und alternative Energien (Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives) ist ein wichtiger französischer Akteur in Forschung, Entwicklung und Innovation.

Ref: ENO009CAR
Rev: 180606