

NG-Test CTX-M MULTI

Schnelltest zum Nachweis von β -Lactamasen CTX-M der Gruppen 1, 2, 8, 9, 25 in einer Bakterienkultur

Nur für die In-vitro-Anwendung durch Fachpersonal

Verwendung

NG-Test CTX-M MULTI ist ein schneller Immunoassay für den qualitativen Nachweis von CTX-M-Gruppen 1, 2, 8, 9 und 25 in einer Bakterienkultur. Dies ist ein *In-vitro* Diagnostikassay nur für den professionellen Gebrauch zur Erkennung von β -Lactamasen mit erweitertem Spektrum (ESBLs), die von *Enterobakterien* produziert werden.

Zusammenfassung

β -Lactam-Antibiotika sind Erstlinien-Antibiotika für die Behandlung von Infektionen durch *Enterobakterien*. Jedoch wurde seit Beginn ihrer Massenanwendung in den 1940er Jahren ihre Wirksamkeit mit der Produktion von Enzymen mit inaktivierender Wirkung konfrontiert: den β -Lactamasen. Dazu zählen β -Lactamasen mit erweitertem Spektrum (ESBLs), die die Mehrheit der β -Laktame hydrolysieren, nur Cephamicine (wie Cefoxitin) und Carbapeneme sind nicht betroffen.

Die Epidemiologie der ESBLs in *Enterobakterien* hat sich in jüngster Zeit mit der massiven Verbreitung von CTX-M-Enzymen verändert. In den 1990er Jahren wurden die wichtigsten ESBLs von Enzymen des TEM- und SHV-Typs abgeleitet und hauptsächlich in Krankenhauskolonien von *Klebsiella pneumoniae* und *Enterobacter sp.* verbreitet. Durch die Verbreitung von CTX-M innerhalb der *Escherichia coli*-Arten hat sich diese Situation verändert. Derzeit wurden mehr als 170 CTX-M Varianten identifiziert und in 5 Hauptgruppen (CTX-M Gruppen 1, 2, 8, 9 und 25) eingeteilt. Dominierende Varianten variieren geografisch. CTX-M-15 (Gruppe 1) und CTX-M-14 (Gruppe 9) sind jedoch weltweit am häufigsten nachgewiesen, gefolgt von CTX-M-2 (Gruppe 2).

CTX-Ms bilden heute die Mehrheit der ESBLs in allen Regionen der Welt und haben sich so stark verbreitet, dass sie als Pandemie eingestuft wurden. In Heimen und Krankenhäusern treten sie isoliert auf und scheinen in Langzeitpflegeeinrichtungen endemisch zu sein. Die zunehmende Prävalenz von ESBLs in Heimen schafft ein neues Problem, nämlich die Ausbreitung von multiresistenten Bakterien vom Heim- ins Krankenhausumfeld.

Prinzip

NG-Test CTX-M MULTI ist ein gebrauchsfertiger schneller Immunoassay zum Nachweis von CTX-M β -Lactamasen der Gruppen 1, 2, 8, 9 und 25, die von einer Agarplatte einer Bakterienkultur (über Nacht) entnommen und in einem Extraktionspuffer dispergiert werden.

Das Assay wird durch Dispensierung der Probe in der Probenvertiefung der Testkassette durchgeführt. Die Probe migriert zum Konjugat-Pad und falls CTX-M Enzyme vorhanden sind, reagieren sie mit markierten monoklonalen anti-CTX-M Maus-Antikörpern. Der Komplex migriert mittels Kapillarität durch die Nitrozellulosemembran und interagiert mit den anti-CTX-M mausmonoklonalen Antikörpern, die am Testbereich "T" der Membran immobilisiert sind.

Der Kontrollstreifen C mit markiertem Streptavidin und monoklonalen Antikörpern reagiert mit Biotin-BSA und Ziege-Anti-Maus polyklonalen Antikörpern, die an der Membran immobilisiert sind.

Das Vorhandensein von CTX-M der Gruppen 1, 2, 8, 9 oder 25 wird durch eine rote Linie im Testbereich "T" und im Kontrollbereich "C" der Membran angezeigt. Wenn die Probe kein CTX-M enthält, wird nur eine rote Linie im Kontrollbereich "C" angezeigt.

Reagenzien und mitgeliefertes Material

Jedes Testset enthält:

- 20 Testkassetten in Aluminiumbeutel mit Trockenmittel
- 20 Eppendorf-Röhrchen
- 20 Einmalpipetten 100 μ l
- 1 Extraktionspuffer-Lösung in Kunststoffflasche (4,5 ml)
- 1 Bedienungsanleitung

Erforderliche Materialien, nicht im Lieferumfang enthalten

- Stoppuhr
- Einweghandschuhe
- Öse
- Vortexmixer

Vorsichtsmaßnahmen

- *In-vitro* Diagnostikassay. Nur für den professionellen Gebrauch.
- Alle Maßnahmen sind gemäß guter Laborpraxis durchzuführen.
- Nach Ablauf des Verfalldatums nicht mehr verwenden.

- Die Produkte müssen bis zu ihrer Verwendung in den verschlossenen Beuteln aufbewahrt werden.
- Die Proben müssen als potenziell infektiös behandelt werden.
- Die gebrauchten Tests nach der Verwendung in einem Behälter für infektiöse Abfälle entsorgen.
- Die Produkte dürfen nicht wiederverwendet werden.

Lagerung und Stabilität

Die Produkte müssen im geschlossenen Beutel zwischen 4 und 30 °C aufbewahrt werden. Nicht einfrieren. Die Sets sind bis zu dem auf jedem Set angegebenen Verfallsdatum stabil.

Nährmedium und Probengewinnung

Die zu untersuchenden Proben müssen nach mikrobiologischen Standardverfahren gewonnen und behandelt werden. Eine Kolonie wird von einer Agarplatte entnommen und dann im Extraktionspuffer, der im Set enthalten ist, suspendiert. Um eine optimale Leistungsfähigkeit des Assays zu erzielen, wird dringend empfohlen, frische Bakterienkolonien zu verwenden.

Validierte Nährmedien

Mueller Hinton (MH) agar, URSelect-4 (URI-4), Columbia agar + 5 %Pferd Blut, ChromID ESBL agar, Drigalski (DRIG) agar.

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 Eppendorf-Röhrchen geben.
2. Von einer Kultur auf einer Agarplatte mithilfe einer Öse eine Kolonie entnehmen und dann im Eppendorf-Röhrchen mit 150 μ l Extraktionspuffer-Lösung suspendieren.
3. Mikroröhrchen schließen.
4. Mit dem Vortexmixer mischen, um die Mischung vor dem Gebrauch zu homogenisieren.

HINWEIS: Mukoide Kolonien können aufgrund ihrer hohen Viskosität zu Migrationsproblemen führen. Eine Kolonie in Extraktionspuffer 3 Minuten lang vortexen und vor der Durchführung des Tests 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.

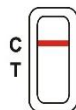
Durchführung des Tests

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

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

Interpretation der Ergebnisse

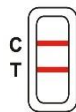
Negatives Ergebnis



Negativ

Wenn im Kontrollbereich (C) nur eine rote Linie erscheint: Die Probe enthält keine CTX-M Enzyme oder einen nicht nachweisbaren Pegel und muss daher als negatives Ergebnis gewertet werden.

Positives Ergebnis



Positiv

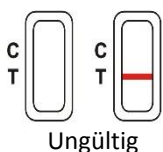
Wenn zwei rote Linien erscheinen, eine im Kontrollbereich (C) und eine im Testbereich (T): die Probe enthält CTX-M Enzyme und muss als positives Ergebnis gewertet werden.

HINWEIS: Die Intensität der roten Farbe der Testlinie (T) variiert je nach CTX-M-Enzymgehalt der Probe. Eine Linie mit geringer Farbintensität gilt als positives Ergebnis.

NG-Test CTX-M MULTI

Schnelltest zum Nachweis von β -Lactamase CTX-M der Gruppen 1, 2, 8, 9, 25 in einer Bakterienkultur
Nur für die In-vitro-Anwendung durch Fachpersonal

Ungültiges Ergebnis



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

Qualitätskontrolle

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

Einschränkungen

Dieser Test ist ein qualitativer Assay und kann daher keine quantitativen Ergebnisse liefern.
Dieser Erstinlinien-Test dient zur schnellen Stratifizierung der Patienten. 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:

- Gruppe 1 / CTX-M-15 250 pg/ml
- Gruppe 2 / CTX-M-2 600 pg/ml
- Gruppe 9 / CTX-M-14 100 pg/ml

NG-Test CTX-M MULTI weist die folgenden Varianten nach:
Gruppe 1: CTX-M-1, -3, -10, -15, -32, -37, -55, -57, -71, -82, -101, -182
Gruppe 2: CTX-M-2
Gruppe 8: CTX-M-8
Gruppe 9: CTX-M-9, -13, -14, -17, -18, -19, -24, -27, -65, -93
Gruppe 25: CTX-M-94, -100

Evaluierungsstudie

Der NG-Test CTX-M MULTI wurde anhand von 165 Isolaten (PCR-markierter ESBL-Gehalt) im NRC (Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques), Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Paris, Frankreich evaluiert.

Tabelle 1

NG-Test	Positive NG-Test CTX-M MULTI	Negative NG-Test CTX-M MULTI	Total
Positive result	149	0	149
Negative result	0	16	16
Total	149	16	165

Sensibilität: 100%
Spezifität: 100%

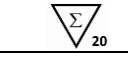








95% Konfidenzintervall [97,5%; 100%]
95% Konfidenzintervall [80,6%; 100%]

Bibliographie

- Hervé Boutal and Al. 2018. A multiplex lateral flow immunoassay for the rapid identification of CTX-Ms producing enterobacteriaceae. In: Poster ECCMID 2018.
- Hervé Boutal and Al. 2017. CTX-M-15 detection in clinical samples: evaluation of an immune chromatographic test. In: Poster ANSM 2017.
- Hasan Afzali and Al. 2016. Characterization of CTX-M-Type Extend-Spectrum β -Lactamase Producing Klebsiella spp. in Kashan, Iran. In: Jundishapur J Microbiol. 2015 Oktober; 8(10): e27967.
- R. Bonnet, 2004. Growing Group of Extended-Spectrum -Lactamases: the CTX-M Enzymes. In: Antimicrobial agents and chemotherapy, Jan. 2004, S. 1–14
- Etienne Ruppé, and Al. 2009. CTX-M β -Lactamases in Escherichia coli from Community-acquired Urinary Tract

- Infections, Cambodia. In: Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Bd. 15, Nr. 5, Mai 2009
- Wei-Hua Zhao and Zhi-Qing Hu, 2013. Epidemiology and genetics of CTX-M extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria. In: Critical Reviews in Microbiology, 2013; 39(1): 79–101 © 2013 Informa Healthcare USA, Inc
- Rafael Cantón, José María González-Alba and Juan Carlos Galán, 2012. CTX-M enzymes: origin and diffusion. In: Frontiers in microbiology, Band 3, Artikel 110.
- Hiran Dhanjia, Michel Doumitha, Olivier Clermont, Erick Denamur, Russell Hope, David M. Livermore, Neil Woodford. Real-time PCR for detection of the O25b-ST131 clone of Escherichia coli and its CTX-M-15-like extended-spectrum-lactamases; International Journal of Antimicrobial Agents 36 (2010) 355–358.
- David L. Paterson1 and Robert A. Bonomo. Extended-Spectrum-Lactamases: a Clinical Update. Clinical Microbiology reviews, Oct. 2005, S. 657–686 Bd. 18, Nr. 4.
- Martha Valiadi & Sumit Kalsi & Isaac G. F. Jones & Carrie Turner & J. Mark Sutton & Hywel Morgan. Simple and rapid sample preparation system for the molecular detection of antibiotic resistant pathogens in human urine. Biomed Microdevices (2016) 18: 18.
- Sridhar Rao P.N- Assistant Professor Dept.of Microbiology JMMMC, Davangere. CTX-M β -lactamases. www.microrao.com 3. Juli 2012.
- Sun Hee Park. Third-generation cephalosporin resistance in gram-negative bacteria in the community: a growing public health concern - Korean J Intern Med 2014;29:27-30
- Wei-Hua Zhao and Zhi-Qing Hu. Epidemiology and genetics of CTX-M extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria. Critical Reviews in Microbiology, 2013; 39(1): 79–101.
- Wageih S. El-Naghy, Amal A. Wafy, Nashwa N. Elfar, Atef Taha, Abeer Shahba, Nashwa M. Noor-eldeen and Nahla A. Nosair. Multiplex PCR for Detection of bla CTX-M Genes among the Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) Producing Gram-negative Isolates. Egyptian Journal of Medical Microbiology, July 2014 Vol. 23, Nr. 3.
- L. Dortet, L. Poirel, P. Nordmann. Rapid Detection of Extended-Spectrum-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae from Urine Samples by Use of the ESBL NDP Test. Journal of Clinical Microbiology- Oktober 2014 Band 52 Nummer 10.

Symbole

	Inhalt für 20 Assays		Mindesthaltbarkeitsdatum
	In-vitro Diagnostikum		Einmalige Verwendung
	Chargennummer		Katalogverweis
	Gebrauchsanleitung lesen		Temperaturgrenze
	Hersteller		

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.

*Die französische Behörde für Atomenergie und alternative Energien ist ein wichtiger Akteur in Forschung, Entwicklung und Innovation.

Ref: ENO008CTM
Rev: 181025