



ZA Courbouton, secteur 1
35480 GUIPRY - France

Phone: +33(0)2 23 30 17 83
Fax : +33(0)9 71 70 53 10
contact@ngbiotech.com

www.amr.ngbiotech.com

ENO037CAR/Rév. 220808



NG-TEST®/CARBA-5

NG-Test® CARBA-5 detects the presence of all the 3 classes of carbapenemase hydrolytic enzymes expressed by carbapenemase producing bacteria, identifying up to the 5 major types of carbapenemase enzymes in *enterobacterales* or NFGNB, from a bacterial colony. The NG-Test® CARBA-5 identifies the most prevalent carbapenemase families (NDM, IMP, VIM, OXA-48 and KPC) including their most clinically relevant variants, in the same cassette.

For professional use only.



- | | | | |
|----|--------------------------------|----|----------------------------------|
| FR | Instructions d'utilisation - 1 | HR | Upute za Korištenje - 37 |
| EN | Instructions for use - 7 | IT | Istruzioni per l'uso - 43 |
| CZ | Návod k použití - 13 | PT | Instruções de Utilização - 49 |
| DE | Gebrauchsanweisung - 19 | RU | Инструкции по использованию - 55 |
| EL | οδηγίες χρήσης - 25 | SK | Návod na použitie - 65 |
| ES | Instrucciones de uso - 31 | | |

UTILISATION

Le **NG-Test® CARBA-5** est un test de diagnostic rapide in vitro à usage professionnel exclusivement. Il s'agit d'un test qualitatif immunochromatographique multiplexe visuel (flux latéral) destiné à la détection et la différenciation des cinq familles de carbapénémases les plus courantes (KPC, OXA-48-like, VIM, IMP et NDM) à partir de colonies bactériennes pures et non sensibles, productrices de carbapénémases, d'*Entérobactéries* (notamment *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*) et de *Pseudomonas aeruginosa* dans les établissements de soins de santé.

RÉSUMÉ ET PRINCIPE

Les β -Lactamines sont des antibiotiques de première ligne utilisés dans le traitement des infections causées par les *entérobactéries*. Cependant, leur efficacité a été remise en question par la production d'enzymes bactériennes, connues sous le nom de β -lactamases, qui hydrolysent le cycle des β -lactamines et inactivent l'antibiotique. Les β -lactamases peuvent être catégorisées en quatre classes selon la classification d'Ambler : les classes A, C et D sont des β -lactamases dont le site actif est constitué de sérine, tandis que la classe B, également appelée métallo- β -lactamases ou LBM, possède un site actif dépendant du zinc. Depuis l'introduction des β -Lactamines dans la pratique clinique générale, le spectre d'activité des β -Lactamases s'est élargi. Les β -Lactamases à spectre d'activité étendu (capables d'hydrolyser les oxymino-céphalosporines et les monobactames, mais pas les céphamycines ni les carbapénèmes), connues sous le nom de β -lactamases à spectre étendu ou BLSE, sont apparues en milieu hospitalier dans les années 1980 et sont devenues plus courantes en milieu communautaire dans les années 1990 et au début des années 2000, associées à la famille CTX-M des BLSE. Récemment, les β -lactamases ayant la capacité d'hydrolyser les antibiotiques carbapénèmes de même que les pénicillines, les céphalosporines et les agents monobactames (connues sous le nom de carbapénémases) ont vu leur prévalence augmenter et se sont répandues dans le monde entier. Parmi les carbapénémases les plus répandues chez les *entérobactéries*, citons la KPC (classe A), les métallo β -lactamases IMP, VIM et NDM (classe B) et les enzymes de type OXA-48 (classe D).

Supplémentée par des informations cliniques et des procédures de diagnostic complémentaires, l'utilisation du **NG-Test® CARBA-5** en laboratoire permet d'obtenir des données pertinentes pour étayer les choix thérapeutiques antimicrobiens appropriés et favoriser une prise de décision et des interventions rapides en matière de contrôle des infections.

Le **NG-Test® CARBA-5** est un test in vitro immunochromatographique rapide et multiplexe visuel qui détecte un ou plusieurs des cinq types courants d'enzymes carbapénémases [KPC (K), OXA-48-like (O), IMP (I), VIM (V), NDM (N)] sur des colonies bactériennes. Le tampon d'extraction liquide est utilisé comme solution de lyse cellulaire lorsqu'il est mélangé aux colonies. Des anticorps monoclonaux de souris qui reconnaissent individuellement chacune des cinq carbapénémases sont immobilisés sur la membrane de nitrocellulose. Des anticorps monoclonaux libres sont présents dans le papier conjugué et marqués à l'or colloïdal. Lors de l'ajout de colonies mélangées au tampon d'extraction sur le papier échantillon, l'action capillaire de la nitrocellulose attire l'échantillon à travers les anticorps mobiles et les anticorps immobiles sur la bandelette de test. Les anticorps de contrôle immobilisés capturent alors tous les anticorps mobiles qui traversent le papier échantillon et la nitrocellulose sans se lier aux autres lignes de test. Un résultat positif se produit lorsqu'une ligne rouge apparaît au niveau de la région de contrôle (C) et qu'une ou plusieurs lignes apparaissent dans les régions test (K, O, V, I ou N) et indique que l'échantillon contient une ou plusieurs carbapénémases. Un résultat négatif se produit lorsque seule la ligne de contrôle est observée et indique que l'échantillon ne contient aucune des 5

carbapénémases. Si la ligne de contrôle n'apparaît pas, le résultat du test n'est pas valide.

RÉACTIFS ET MATÉRIEL FOURNIS

Chaque kit contient :

- 20 cassettes test en sachet aluminium avec dessicant
- 20 microtubes
- 20 pipettes de 100 μ L
- 1 solution de tampon d'extraction en flacon plastique (4,5 mL)
- 1 notice

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Chronomètre • Gants à usage unique • Boucle d'inoculation (1 μ L) • Vortex

PRÉCAUTIONS

- Test de diagnostic in vitro à usage professionnel.
- Toutes les opérations doivent être réalisées selon les bonnes pratiques de laboratoire.
- Ne pas utiliser après la date d'expiration.
- Les dispositifs doivent rester dans les sachets scellés jusqu'à leur utilisation.
- Manipuler les échantillons comme étant potentiellement infectieux.
- Après usage, jeter le dispositif dans un conteneur approprié pour déchets infectieux.
- Le dispositif ne doit pas être réutilisé.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Conserver les dispositifs dans leur sachet scellé entre 4 et 30°C. Ne pas congeler. Les coffrets sont stables dans leur emballage intact (sachet scellé avec dessicant) jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

CULTURE ET PRÉLÈVEMENT

Les échantillons à tester doivent être obtenus et manipulés selon les méthodes standardisées de microbiologie.

Milieux de culture validés :

Luria Broth (LB), LB agar, Trypticase soja agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar, UriSelect™ 4, Columbia agar + 5 % sang de cheval, Columbia agar + 5 % sang de mouton, ChromID® ESBL agar, ChromID® CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar, CHROMagar™ mSuperCARBAT™, TSA + 5 % sang de mouton, Mac Conkey, HardyCHROM™ CRE agar.

MODE OPÉRATEUR

- 1/ Porter des gants de protection à usage unique.
- 2/Ramener les composants du kit à température ambiante pendant au moins 10 minutes.

Préparation de l'échantillon

- 1/Déposer 5 gouttes (150 μ L) de tampon d'extraction dans un des microtubes fourni dans le kit.
- 2/Sur une culture solide sur gélose, remplir une boucle de 1 μ L en entrant en contact (mais sans prélever) 3 colonies, puis la mettre en suspension dans le microtube contenant 150 μ L de tampon d'extraction.
- 3/Fermer le microtube.
- 4 /Vortexer pour homogénéiser le mélange avant l'utilisation.

NOTE : Les colonies visqueuses/maquaises peuvent présenter des difficultés de migration en raison de leur viscosité élevée. Si les colonies sont visqueuses/maquaises, agiter une colonie au vortex pendant 3 minutes dans le tampon d'extraction et la laisser incuber pendant 10 minutes à température ambiante avant de réaliser le test.

Réalisation du test

- 1 / Ouvrir le sachet et retirer le dispositif. Une fois ouvert, le test doit être utilisé immédiatement.
- 2 / A l'aide de la pipette fournie, prélever 100µL du mélange préparé (faire monter l'échantillon jusqu'au trait noir indiqué sur la pipette pour aspirer précisément 100µL) et les déposer dans le puits échantillon marqué "S".
- 3 / Lire les résultats à 15 minutes et les interpréter comme indiqué ci-dessous.

NOTE : Ne pas interpréter les résultats du test après 20 minutes en raison du risque de résultats faux positifs

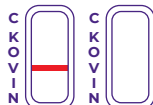
INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS**Résultat négatif**

Une seule bande de couleur rouge apparaît sur la zone de contrôle (C). L'échantillon ne contient pas de carbapénémases ou contient un niveau non détectable et doit être interprété comme un résultat négatif.

**VIM POSITIF****Résultat positif**

Si une bande de couleur rouge apparaît sur la zone de contrôle (C) et si une ou plusieurs bandes apparaissent au niveau des zones K, O, V, I, N, l'échantillon contient une ou plusieurs carbapénémases et doit être interprété comme un résultat positif.

NOTE : L'intensité de la couleur rouge de la ligne de test varie en fonction de la concentration des carbapénémases présentes dans l'échantillon. Une ligne d'intensité faible doit être considérée comme un résultat positif.

**INVALIDE****Résultat invalide**

Si la bande de contrôle (C) n'apparaît pas ou n'est pas alignée avec la lettre (C), le résultat du test n'est pas valide. Un volume d'échantillon insuffisant ou une procédure incorrecte sont les raisons les plus fréquentes de l'absence de ligne de contrôle. Une dégradation du kit peut avoir eu lieu. Répétez la procédure en utilisant un nouveau test. Si le problème persiste, ne pas réutiliser le coffret et contacter votre distributeur.

CONTRÔLE QUALITÉ

Un contrôle de qualité interne est inclus dans le test. L'apparition de la bande de contrôle confirme un volume d'échantillon suffisant et une procédure correcte.

LIMITATIONS

- 1 / Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'autres mécanismes de résistance aux antibiotiques carbapénèmes (par exemple, producteurs de SME, GES, IMI).
- 2 / Des résultats faussement négatifs peuvent se produire lors de multiples sous-cultures d'un isolat bactérien sans pression sélective.
- 3 / Quelques résultats faussement négatifs peuvent se produire avec *Proteus mirabilis* testé à partir de gélose au sang.
- 4 / Les *Proteus spp.* ont tendance à présenter une croissance en nappe sur gélose au sang, donc seule la surface de l'essaim doit être touchée avec une boucle au niveau de 3 colonies différentes.

- 5 / Ce test est qualitatif et ne peut en conséquence fournir un résultat quantitatif.
- 6 / Ce test doit être utilisé comme une aide pour l'identification rapide des patients porteur d'une résistance aux antibiotiques carbapénèmes. Les résultats obtenus doivent être confirmés par des procédures de diagnostic alternatives ou complémentaires.
- 7 / Un test positif ou négatif n'exclut pas la présence d'autres mécanismes de résistance aux antibiotiques.

PERFORMANCES ET CARACTÉRISTIQUES**Limite de détection :**

La limite de détection a été déterminée à l'aide d'enzymes purifiées recombinantes : KPC 600 pg/mL • OXA 300 pg/mL • VIM 300 pg/mL • IMP 200 pg/mL • NDM 150 pg/mL

Évaluation clinique :

Le **NG-Test® CARBA-5** a été évalué au CNR (Centre National de Référence pour la Résistance aux Antibiotiques, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Paris, France). 147 souches ont été testées en aveugle en comparaison aux résultats obtenus par séquençage du génome complet - whole genome sequencing (WGS). Parmi la collection évaluée, seuls 2 rares variants D179Y de KPC n'ont pas été détectés (KPC-31 et KPC-33). Cette mutation D179Y compromet l'activité hydrolytique de l'enzyme qui ne peut donc être considérée comme une carbapénémase, ce qui a également conduit à un résultat négatif lors des tests biochimiques de ces 2 variants. La sensibilité et la spécificité du test **NG-Test® CARBA-5** ont été calculées en considérant ces 2 variants comme des résultats négatifs.

Table 1 : Résultats obtenus au CNR Kremlin Bicêtre¹¹

		WGS		
		POSITIF	NÉGATIF	TOTAL
NG-TEST® CARBA-5	POSITIF	119	0	119
	NÉGATIF	0	28	28
	TOTAL	119	28	147
SENSIBILITÉ		100%	IC 95% = 96.9 - 100%	
SPÉCIFICITÉ		100%	IC 95% = 87.9 - 100%	

Spécificité analytique :

Groupe d'organisme	Cible	Variants détectés pendant les validations 8; 11; 12
<i>Enterobactérales*</i>	KPC	2,3,4,5,6,7,12,14,28,39
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 27, 31
	IMP	1, 4, 6, 8, 10, 11, 14, 26, 47, 58
	NDM	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 5, 7, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

Résumé des variants détectés par NG-Test® CARBA 5 dans les publications :

Groupe d'organisme	Cible	Variants détectés dans les publications 8; 9; 10; 11; 12; 13
<i>Enterobactérales*</i>	KPC	2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 14, 19, 23, 28, 35, 39, 78, 79.
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 26, 27, 31, 39, 46, 51, 52, 54, 56, 58, 59
	IMP	1, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 22, 26, 47, 58, 61
	NDM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	1, 2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 4, 5, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

*Dont des souches de: *Citrobacter braakii*, *C. freundii*, *C. koseri*, *C. sedlakii*, *Enterobacter aerogenes*, *E. asburiae*, *E. cloacae*, *E. cloacae* complex, *Escherichia coli*, *E. hermannii*, *Klebsiella aerogenes*, *K. variicola*, *K. ozaenae*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Kluyvera ascorbate*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *P. rettgeri*, *Pantoea species*, *Providencia alcalifaciens*, *Raoultella ornithinolytica*, *Salmonella enterica*, *S. senftenberg*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *S. sonnei*, *Shewanella sp.*, *S.bicestrii*, *Yersinia enterocolitica*...

BIBLIOGRAPHIE

La bibliographie se trouve à la fin du document.

SYMBOLES



Contenu suffisant pour 20 tests



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



N° de lot



Consulter les instructions d'utilisation



Fabricant



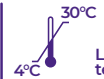
Date d'expiration



Ne pas réutiliser



Référence du produit



Limites de température de conservation (4°C-30°C)



Ce test a été développé en collaboration avec le CEA*.
*Le Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives est un acteur français majeur de la recherche technologique et de l'innovation.

INTRODUCTION

NG-Test® CARBA-5 is a rapid in vitro diagnostic assay, for professional use only. It is a visual multiplex immunochromatographic (lateral flow) qualitative assay for the detection and differentiation of the five most common carbapenemase families (KPC, OXA-48-like, VIM, IMP and NDM) from carbapenemase producing, non-susceptible pure bacterial colonies of *Enterobacteriales* (including *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*) and *Pseudomonas aeruginosa* in healthcare settings.

SUMMARY AND PRINCIPLE

β -Lactams are first-line antibiotics for the treatment of infections caused by *Enterobacteriales*; however, their efficacy has been challenged by the production of bacterial enzymes, known as β -lactamases, which hydrolyse the β -lactam ring and inactivate the antibiotic. β -Lactamases may be categorised into four classes according to Ambler's classification: classes A, C and D are β -lactamases with serine at the active site, whereas class B, also known as metallo- β -lactamases or MBLs, have a zinc-dependent active site. Since the introduction of β -Lactam antibiotics into widespread clinical practice, the range of activity of β -Lactamases has grown. β -Lactamases with an extended-spectrum of activity (able to hydrolyse oxyimino-cephalosporins, and monobactams, but not cephamycins or carbapenems), known as extended-spectrum β -lactamases or ESBLs, emerged in hospital setting in the 1980s and became more common in community settings in the 1990s and early 2000s associated with the CTX-M family of ESBLs. Recently, β -lactamases with the ability to hydrolyse carbapenem antibiotics plus penicillins, cephalosporins and monobactam agents (known as carbapenemases) have been increasing in prevalence and have spread worldwide. Examples of the most prevalent carbapenemases found in *Enterobacteriales* are KPC (Class A), the metallo β -lactamases IMP, VIM and NDM (Class B), and OXA-48-like enzymes (Class D).

Together with clinical information and complementary diagnostic procedures, the use of **NG-Test® CARBA-5** in the laboratory provides information that can support appropriate antimicrobial therapeutic choices, prompt infection control decision making and interventions.

NG-Test® CARBA-5 is an in vitro rapid and visual multiplex immunochromatographic assay that detects one or more of the five common types of carbapenemase enzymes (KPC (K), OXA-48-like (O), IMP (I), VIM (V), NDM (N)) from bacterial colonies. Extraction buffer is used as a cell lysing solution when mixed with colonies. Monoclonal antibodies that individually recognize each of the five carbapenemases are immobilized on a nitrocellulose membrane. Free monoclonal antibodies are present in the conjugate pad and labelled with colloidal gold. Upon addition of colonies mixed with extraction buffer to the sample pad, the capillary action of the nitrocellulose draws the sample through the mobile antibodies and immobile antibodies on the test strip. The immobilized control antibodies capture any mobile antibodies that run through the sample pad and nitrocellulose without binding to other test lines. A positive result occurs when a red line appears on the control region (C) and one or more lines appear in the test regions (K, O, V, I, or N) and indicates that the sample contains one or more carbapenemases. A negative result occurs when only the control line is observed and indicates that the sample does not contain any of the 5 carbapenemases. If the control line does not appear, the test result is invalid.

REAGENTS AND MATERIALS SUPPLIED**Each kit contains :**

- 20 Test cassettes in aluminium pouches with desiccant
- 20 Microtubes
- 20 Disposable pipettes of 100 μ L

- 1 Extraction buffer solution in a plastic bottle (4,5 mL)
- 1 Instructions for use

MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

Timer • Single use gloves • Inoculation loop (1 μ L) • Vortex

PRECAUTIONS

- *In vitro* diagnostic test. For professional use only.
- All the operations must be carried out according to good laboratory practices.
- Do not use after the expiry date.
- The devices must remain in the sealed pouches until they are used.
- Handle the samples as if they were potentially infectious.
- After use, discard the device in an infectious waste container.
- Do not reuse the device.

STORAGE AND STABILITY

Store the devices in their sealed pouches between 4°C and 30°C. Do not freeze. Kits are stable in their intact packaging (pouch with desiccant) until the expiry date indicated on every kit.

CULTURE AND SAMPLING

The samples to be tested shall be obtained and handled according to standard microbiology procedures.

Validated culture media:

Luria Broth (LB) and LB agar, Trypticase soja agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar, UriSelect™ 4, Columbia agar + 5 % horse blood, Columbia agar + 5% sheep blood, ChromID® ESBL agar, ChromID® CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar, CHROMagar™ mSuperCARBA™, TSA + 5 % sheep blood, Mac Conkey, HardyCHROM™ CRE agar.

OPERATING PROCEDURE

1 / Wear protective gloves.

2 / Bring the kit components at room temperature for at least 10 minutes.

Preparing the sample

1 / Dispense 5 drops (150 μ L) of extraction buffer in one of the microtubes provided into the kit.

2 / From a solid agar-based culture, fill a 1 μ L loop by touching on (not collecting) 3 colonies, and then suspend it in the microtube containing 150 μ L of extraction buffer.

3 / Close the microtube.

4 / Vortex to homogenise the mixture before use.

NOTE: Viscous/mucous colonies can lead to migration problems, due to their high viscosity. When starting from viscous/mucous colonies, vortex for 3 minutes a colony in the extraction buffer and leave it to incubate for 10 minutes at room temperature before performing the test.

Carrying out the test

1 / Open the pouch, and take out the device. Once opened, use the test immediately.

2 / Using the provided pipette, add 100 μ L of the prepared mixture (sample must reach the black line indicated on the pipette to accurately dispense 100 μ L) in the sample well labelled "S".

3 / Read the results at 15 minutes and interpret them as indicated below.

NOTE : Do not interpret the test results after 20 minutes, as they may very possibly be causing false positive results.

RESULT INTERPRETATION



NEGATIVE

Negative result

If only one red line appears in the control region (C); the sample does not contain any of the indicated carbapenemase (or a non-detectable level) and must be interpreted as a negative result.



VIM POSITIVE

Positive result

If one red line appears in the control region (C) and one or several lines appear in the test regions K, O, V, I, N; the sample contains one or several carbapenemases and must be interpreted as a positive result.

NOTE: The intensity of the red test line(s) may vary depending on the concentration of the carbapenemases present in the sample. A weak line should be considered as a positive result.



INVALID

Invalid result

If the control line (C) does not appear, or it is not aligned with the letter (C), the test result is invalid. Insufficient sample volume or an incorrect procedure are the most likely reasons for control line failure.

Deterioration of the test kit may have occurred. Repeat the procedure using a new test. If the problem persists, do not reuse the kit and contact your distributor.

QUALITY CONTROL

An internal quality control is included in the test. When the control line develops, it confirms the sample volume was sufficient and the procedure was correct.

LIMITATIONS

- 1/ A negative result does not preclude the presence of carbapenemase producing organisms (example: producing SME, GES, IMI).
- 2/ False negative results may occur with multiple subcultures of a bacterial isolate without any selective pressure.
- 3/ Some false negative results may occur with *Proteus mirabilis* tested from blood agar only.
- 4/ *Proteus* spp. tend to exhibit swarming growth on blood agar, thus only the surface of the swarming should be touched with a loop in 3 different colonies.
- 5/ This test is a qualitative assay and will not yield any quantitative result.
- 6/ This test should be used as an aid for the rapid identification of patients bearing a resistance to carbapenem antibiotics. The obtained results must be confirmed with alternative or complementary diagnostic procedures.
- 7/ A positive or a negative test does not rule out the presence of other mechanisms of antibiotic resistance.

PERFORMANCES AND CHARACTERISTICS

Detection limit:

The detection limit was determined using purified recombinant enzymes:
KPC 600 pg/mL • OXA 300 pg/mL • VIM 300 pg/mL • IMP 200 pg/mL • NDM 150 pg/mL

Clinical Evaluation:

NG-Test® CARBA-5 was evaluated at the NRC (National Reference Center for Antibiotic Resistance, Kremlin-Bicêtre Hospital, Paris, France). 147 strains were blind-tested with WGS-characterized β-lactamase content. Among the evaluated collection, only 2 rare D179Y KPC variants were not detected (KPC-31 and KPC-33). This D179Y impaired the carbapenem hydrolytic activity of the enzyme which cannot be considered as a carbapenemase, leading also to negative result by biochemical tests. The sensitivity and specificity of the NG-Test® CARBA-5 was calculated by considering the KPC-31 and KPC-33 variants as negative results.

Table 1: Results obtained at NRC Kremlin Bicêtre¹¹

		WGS		
		POSITIVE	NEGATIVE	TOTAL
NG-TEST® CARBA-5	POSITIVE	119	0	119
	NEGATIVE	0	28	28
	TOTAL	119	28	147

SENSITIVITY	100%	CI 95% = 96.9 - 100%
SPECIFICITY	100%	CI 95% = 87.9 - 100%

Analytical specificity:

Organism group	Target	Variants detected during validations 8; 11; 12
<i>Enterobacterales</i> *	KPC	2,3,4,5,6,7,12,14,28,39
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 27, 31
	IMP	1, 4, 6, 8, 10, 11, 14, 26, 47, 58
	NDM	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 5, 7, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

Summary of variants detected by NG-Test® CARBA 5 in publications:










Organism group	Target	Variants detected in publications 8; 9; 10; 11; 12; 13
<i>Enterobacterales</i> *	KPC	2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 14, 19, 23, 28, 35, 39, 78, 79.
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 26, 27, 31, 39, 46, 51, 52, 54, 56, 58, 59
	IMP	1, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 22, 26, 47, 58, 61
	NDM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	1, 2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 4, 5, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

*Including some: *Citrobacter braakii*, *C. freundii*, *C. koseri*, *C. sedlakii*, *Enterobacter aerogenes*, *E. asburiae*, *E. cloacae*, *E. cloacae* complex, ***Escherichia coli***, *E. hermannii*, *Klebsiella aerogenes*, *K. varicola*, *K. azoenae*, *K. oxytoca*, ***K. pneumoniae***, *Kluyvera ascorbate*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *P. rettgeri*, *Pantoea* species, *Providencia alcalifaciens*, *Raoultella ornithinolytica*, *Salmonella enterica*, *S. senftenberg*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *S. sonnei*, *Shewanella* sp, *S.bicestrii*, *Yersinia enterocolitica*...

BIBLIOGRAPHY

The bibliography can be found at the end of the document.

SYMBOLS

 Content for 20 assays	 Expiry date	 Temperature limit
 <i>in vitro</i> diagnostic medical device	 Do not re-use	 Consult instructions for use
 Batch number	 Catalogue reference	 Manufacturer

ÚVOD

NG-Test® CARBA-5 je rychlý diagnostický test in vitro pouze pro profesionální použití. Jde o vizuální multiplexní imunochromatografický (laterální průtok) kvalitativní test pro detekci a diferenciaci pěti nejběžnějších karbapenemázových rodin (KPC, OXA-48-like, VIM, IMP a NDM) z čistých bakteriálních kolonií rezistentních ke karbapenemázům. **Enterobacterales** (včetně *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae*) a *Pseudomonas aeruginosa* ve zdravotnických zařízeních.

SHRNUTÍ

β-Laktamy jsou antibiotika první volby pro léčbu infekcí způsobených *Enterobacterales*; jejich účinnost však byla narušena produkcí bakteriálních enzymů, známých jako β-laktamázy, které hydrolyzují β-laktamový kruh a inaktivují antibiotikum. β-laktamázy lze kategorizovat do čtyř tříd podle Amblerovy klasifikace: třídy A, C a D jsou β-laktamázy se serinem v aktivním místě, zatímco třída B, také známá jako metalo-β-laktamázy nebo MBL, která má zinek - závislé aktivní místo. Od zavedení β-laktamových antibiotik do rozšířené klinické praxe se rozsah aktivity β-laktamázy vzrostl. β-laktamázy s rozšířeným spektrem aktivity (schopné hydrolyzovat oxymino-cefalosporiny a monobaktamy, ale ne cefamyciny nebo karbapenemy), známé jako β-laktamázy nebo ESBL s rozšířeným spektrem, se objevily v nemocničním prostředí v 80. letech a staly se běžnějšími v komunitních prostředích v 90. letech a na počátku 21. století spojených s rodinou CTX-M ESBL. V poslední době narůstá prevalence β-laktamázy se schopností hydrolyzovat karbapenemová antibiotika plus peniciliny, cefalosporiny a monobaktamové látky (známé jako karbapenemázy), které se rozšířily po celém světě. Příklady nejrozšířenějších karbapenemáz nalezených v *Enterobacterales* jsou KPC (třída A), metalo β-laktamázy IMP, VIM a NDM (třída B) a enzymy podobné OXA-48 (třída D).

Spolu s klinickými informacemi a doplňkovými diagnostickými postupy poskytuje použití **NG-Test® CARBA-5** v laboratoři informace, které mohou podpořit vhodné antimikrobiální terapeutické volby, rychlé rozhodování o kontrole infekce a intervence.

NG-Test® CARBA-5 je in vitro, rychlý a vizuální multiplexní imunochromatografický test, který přímo z bakteriálních kolonií detekuje jeden nebo více z pěti běžných typů enzymů karbapenemázy (KPC (K), typ OXA-48 (O), IMP (I), VIM (V), NDM (N)). Smícháním extračního pufru s koloniemi, dojde k lýze buněk. Monoklonální protilátky, které rozpoznávají každou z pěti karbapenemáz, jsou imobilizovány na nitrocelulózové membráně. Volné monoklonální protilátky jsou přítomny v konjugáčném podložce a jsou označeny koloidním zlatem. Po aplikaci kolonií smíchaných s extračním pufrům do podložky prolíná vzorek díky kapilárnímu účinku nitrocelulózy mobilními a imobilními protilátkami na testovacím proužku. Imobilizované kontrolní protilátky zachytí veškeré mobilní protilátky, které procházejí skrze podložku a nitrocelulózu, bez toho, aniž by se vázaly na jiné testovací linie. Pozitivní výsledek nastane, když se v kontrolní oblasti (C) objeví červená linie a v testovacích oblastech (K, O, V, I nebo N) se objeví jedna nebo více linií. To naznačuje, že vzorek obsahuje jednu nebo více karbapenemáz. Negativní výsledek nastane, když se objeví pouze kontrolní linie, což znamená, že vzorek neobsahuje žádnou z 5 karbapenemáz. Pokud se kontrolní linie neobjeví, je výsledek testu neplatný.

DODÁVANÁ ČINIDLA A MATERIÁLY

Každá sada obsahuje:

- 20 kazet v hliníkových sáčcích s vysoušečem
- 20 mikrozkušavek
- 20 jednorázových pipet o objemu 100µL
- 1 extrační pufr v plastové lahvičce (4,5 mL)
- 1 návod k použití

POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

Časovač • Jednorázové rukavice • Inokulační klička (1µL) • Vortex

OPATŘENÍ

- Diagnostický test in vitro. Pouze pro profesionální použití.
- Všechny postupy je nutné provádět v souladu se správnou laboratorní praxí.
- Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti.
- Zařízení musí zůstat v uzavřených sáčcích, dokud nebudou použita.
- Se vzorky zacházejte tak, jako by byly potenciálně infekční.
- Po použití zařízení zlikvidujte v kontejneru na infekční odpad.
- Zařízení nepoužívejte opakovaně.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Skladujte kazety v uzavřených sáčcích při teplotě mezi 4 a 30 °C. Chraňte před mrazem. Sady jsou stabilní v neporušeném obalu (sáček s vysoušečem) do data expirace vyznačeného na každé z nich.

KULTURA A ODBĚR VZORKŮ

Testované vzorky je nutné odebírat a zacházet s nimi podle standardizovaných mikrobiologických postupů.

Validovaná kultivační média:

Luria bujón (LB) a LB agar, tryptikáza-sójový agar (TSA), Mueller-Hintonův agar (MH), UriSelect™ 4, agar Columbia + 5 % koňská krev, Columbia agar + 5 % ovcí krev, agar ChromID® ESBL, ChromID® CARBA SMART, Drigalski agar (DRIG), CHROMagar™ mSuperCARBA™, TSA + 5 % ovcí krev, Mac Conkey, HardyCHROM™ CRE agar.

PROVOZ

- 1 / Použijte ochranné rukavice.
- 2 / Komponenty soupravy ponechte před použitím alespoň 10 minut při pokojové teplotě.

Příprava vzorku

- 1 / Nakapejte 5 kapek (150µL) extračního pufru do jedné z mikrozkušavek dodávaných jako součást sady.
- 2 / Z kultury na pevném agaru naplňte 1µL kličku dotykem (nikoli odebráním) 3 kolonií a poté ji suspendujte v mikrozkušavce obsahující 150µL extračního pufru.
- 3 / Zavřete mikrozkušavku.
- 4 / Před použitím homogenizujte směs ve vortexu.

POZNÁMKA: Viskózní/slziční kolonie mohou vést k problémům s migrací kvůli jejich vysoké viskozitě. Vycházejte-li z viskózních/slzičních kolonií, vortexujte kolonii po dobu 3 minut v extračním pufru a před provedením testu ji nechte inkubovat 10 minut při pokojové teplotě.

Provedení testu

- 1 / Otevřete sáček a vyjměte kazetu. Po otevření testu ihned použijte.
- 2 / Pomocí dodané pipety přidejte 100µL připravené směsi (aby bylo možné přesně aspirovat 100µL, vzorek musí dosahovat k černé čáře vyznačené na pipetě) vzorku dobře označeného písmenem „S“.
- 3 / Výsledky vyhodnoťte po 15 minutách a interpretujte je dle níže uvedeného postupu.

POZNÁMKA: Neinterpretujte výsledky testu po 20 minutách, protože mohou velmi pravděpodobně způsobit falešně pozitivní výsledky.

INTERPRETACE VÝSLEDKU



NEGATIVNÍ

Negativní výsledek

Pokud se v kontrolní oblasti (C) objeví pouze jedna červená linka: vzorek neobsahuje žádnou z indikovaných karbapenemáz (nebo nedetekovatelnou hladinu) a musí být interpretován jako negativní výsledek.



VIM POZITIVNÍ

Pozitivní výsledek

Pokud se v kontrolní oblasti (C) objeví jedna červená čára a v testovacích oblastech K, O, V, I, N se objeví jedna nebo více čar: vzorek obsahuje jednu nebo několik karbapenemáz a výsledek musí být interpretován jako pozitivní.

POZNÁMKA: Intenzita červené čáry (čar) se může lišit v závislosti na koncentraci karbapenemáz přítomných ve vzorku. Tenká čára je považována za pozitivní výsledek.



NEPLATNÝ

Neplatný výsledek

Pokud se kontrolní linka (C) neobjeví nebo není zarovnána s písmenem (C), je výsledek testu neplatný. Nedostatečný objem vzorku nebo nesprávný postup jsou nejpravděpodobnějšími důvody selhání kontroly.

Mohlo by dojít k poškození testovací sady. Postup opakujte s novým testem. Pokud problém přetrvává, soupravu znovu nepoužívejte a kontaktujte svého distributora.

KONTROLA KVALITY

Součástí testu je interní kontrola kvality. Když se vytvoří kontrolní čára, je potvrzeno, že objem vzorku byl dostatečný a postup byl správný.

OMEZENÍ

- 1 / Negativní výsledek nevylučuje přítomnost organismů produkujících karbapenemázu (například: produkující SME, GES, IMI).
- 2 / Falešně negativní výsledky se mohou objevit u více subkultur bakteriálního izolátu bez jakéhokoli selektivního tlaku.
- 3 / U *Proteus mirabilis* testovaných pouze na krevním agaru se mohou objevit falešně negativní výsledky.
- 4 / *Proteus spp.* má tendenci vykazovat rojový růst na krevním agaru, proto by se mělo smýčkou dotknout pouze na povrchu rojení ve 3 různých koloniích. Tento test je kvalitativní test a nepřináší žádné kvantitativní výsledky.
- 5 / Tento test je kvalitativní test a nepřináší žádné kvantitativní výsledky.
- 6 / Tento test slouží jako pomůcka pro rychlou identifikaci pacientů s rezistencí na karbapenemová antibiotika. Získané výsledky je nutné potvrdit alternativními nebo doplňkovými diagnostickými postupy.
- 7 / Pozitivní ani negativní výsledek testu nevylučují přítomnost jiných mechanismů antibiotické rezistence.

VÝKON A VLASTNOSTI

Detekční limit:

Detekční limit byl stanoven pomocí purifikovaných rekombinantních enzymů:
KPC 600 pg/mL • OXA 300 pg/mL • VIM 300 pg/mL • IMP 200 pg/mL • NDM 150 pg/mL

Klinické hodnocení:

NG-Test® CARBA-5 byl hodnocen v NRC (Národní referenční středisko pro antibiotickou rezistenci, Nemocnice Kremlin-Bicêtre, Paříž, Francie). 147 kmenů bylo zaslepeno a testováno na obsah β -laktázy charakterizované WGS. V hodnoceném souboru nebyly detekovány pouze 2 vzácné varianty D179Y KPC (KPC-31 a KPC-33). Tato D179Y zhoršila hydrolytickou aktivitu karbapenemu u enzymu, který nelze považovat za karbapenemázu, což vedlo k negativním výsledkům biochemických testů.

Citlivost a specifita **NG-Test® CARBA-5** byla vypočtena tak, že byly varianty KPC-31 a KPC-33 považovány za negativní výsledky.

Tabulka 1: Výsledky získané v NRC Kremlin Bicêtre¹¹

		WGS		
		POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ	CELKEM
NG-TEST® CARBA-5	POZITIVNÍ	119	0	119
	NEGATIVNÍ	0	28	28
	CELKEM	119	28	147

SENZITIVITA	100%	CI 95% = 96,9 - 100%
SPECIFICITA	100%	CI 95% = 87,9 - 100%

Analytická specifita:

Bakterie	Cílová skupina	Varianty zjištěné analyticky a ve validacích 8; 11; 12
<i>Enterobacterales</i> *	KPC	2,3,4,5,6,7,12,14,28,39
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 27, 31
	IMP	1, 4, 6, 8, 10, 11, 14, 26, 47, 58
	NDM	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 5, 7, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
NDM	1	

Souhrn variant detekovaných pomocí NG-Test® CARBA-5 v publikacích:

Bakterie	Cílová skupina	Variety zjištěné v publikacích 8; 9; 10; 11; 12; 13
<i>Enterobacterales</i> *	KPC	2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 14, 19, 23, 28, 35, 39, 78, 79.
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 26, 27, 31, 39, 46, 51, 52, 54, 56, 58, 59
	IMP	1, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 22, 26, 47, 58, 61
	NDM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	1, 2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 4, 5, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

*včetně některých: *Citrobacter braakii*, *C. freundii*, *C. koseri*, *C. sedlakii*, *Enterobacter aerogenes*, *EE. asburiae*, *E. cloacae*, *E. cloacae complex*, ***Escherichia coli***, *E. hermannii*, *Klebsiella aerogenes*, *K. variicola*, *K. ozaenae*, *K. oxytoca*, ***K. pneumoniae***, *Kluyvera ascorbate*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *P. rettgeri*, *Pantoea species*, *Providencia alcalifaciens*, *Raoultella ornithinolytica*, *Salmonella enterica*, *S. senftenberg*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *S. sonnei*, *Shewanella sp.*, *S.bicestrii*, *Versinia enterolitica*...

BIBLIOGRAFIE

Bibliografii naleznete na konci dokumentu.

SYMBOLY



Obsah pro 20 testů



Datum expirace



Teplotní limit



diagnostické souprava *in vitro*



Nepoužívejte opakovaně



Viz návod k použití



Číslo šarže



Referenční katalogové číslo



Výrobce

VERWENDUNG

NG-Test® CARBA-5 ist ein in-vitro Schnelltest, der nur für den professionellen Gebrauch bestimmt ist. Es handelt sich um einen visuellen, multiplexen, immunchromatographischen (Lateral Flow) qualitativen Assay zum Nachweis und zur Differenzierung der fünf häufigsten Carbapenemasen (KPC, OXA-48-like, VIM, IMP und NDM) aus Carbapenemase-produzierenden, nicht-empfindlichen reinen Bakterienkolonien von *Enterobacterales* (einschließlich *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae*) und *Pseudomonas aeruginosa* im Gesundheitswesen.

ZUSAMMENFASSUNG UND PRINZIP

β-Lactame sind Antibiotika der ersten Wahl für die Behandlung von Infektionen, die durch *Enterobacterales* verursacht werden. Ihre Wirksamkeit wird jedoch durch die Produktion von bakteriellen Enzymen, den sogenannten β-Lactamase, in Frage gestellt, die den β-Lactamring hydrolysieren und das Antibiotikum inaktivieren. β-Lactamase können nach der Ambler-Klassifikation in vier Klassen eingeteilt werden: Die Klassen A, C und D sind β-Lactamase mit Serin am aktiven Zentrum, während die Klasse B, die auch als Metallo-β-Lactamase oder MBLs bezeichnet werden, ein zinkabhängiges aktives Zentrum haben. Seit der Einführung von β-Lactam-Antibiotika in die breite klinische Praxis ist das Aktivitätsspektrum von β-Lactamase gewachsen. β-Lactamase mit einem erweiterten Wirkungsspektrum (die in der Lage sind, Oximinocephalosporine und Monobactame, nicht aber Cephalosporine oder Carbapeneme zu hydrolysieren), bekannt als β-Lactamase mit erweitertem Wirkungsspektrum oder ESBL, tauchten in den 1980er Jahren in Krankenhäusern auf und wurden in den 1990er und frühen 2000er Jahren in Verbindung mit der CTX-M-Familie von ESBLs in der Bevölkerung häufiger.

In jüngster Zeit haben β-Laktamase, die in der Lage sind, Carbapenem-Antibiotika sowie Penicilline, Cephalosporine und Monobactam-Wirkstoffe zu hydrolysieren (sogenannte Carbapenemase), an Prävalenz zugenommen und sich weltweit verbreitet. Beispiele für die am weitesten verbreiteten Carbapenemase in Enterobacterales sind KPC (Klasse A), die Metallo-β-Laktamase IMP, VIM und NDM (Klasse B) und OXA-48-ähnliche Enzyme (Klasse D).

Die Verwendung von **NG-Test® CARBA-5** im Labor liefert zusammen mit klinischen Informationen und ergänzenden diagnostischen Verfahren Informationen, die die Auswahl geeigneter antimikrobieller Therapien unterstützen und Entscheidungen und Maßnahmen zur Infektionskontrolle beschleunigen können.

NG-Test® CARBA-5 ist ein visueller, multiplexer, immunchromatographischer In-vitro-Schnelltest, der einen oder mehr der fünf häufigsten Typen von Carbapenemase-Enzymen (KPC (K), OXA-48 (O), IMP (I), VIM (V), NDM (N)) in Bakterienkolonien detektiert. Beim Mischen mit Kolonien wird ein flüssiger Extraktionspuffer als zellsyrierende Lösung verwendet. Monoklonale Antikörper, die individuell jeweils die fünf Carbapenemase erkennen, werden auf einer Nitrozellulose-Membran immobilisiert. Auf dem Konjugat-Pad befinden sich freie monoklonale Antikörper, die mit kolloidalem Gold gekennzeichnet werden. Bei Hinzufügung der Kolonien, gemischt mit Extraktionspuffer auf dem Proben-Pad, zieht die Kapillarwirkung der Nitrozellulose die Probe durch die mobilen Antikörper und die immobilisierten Antikörper auf den Teststreifen. Die immobilisierten Kontroll-Antikörper erfassen sämtliche mobilen Antikörper, die das Proben-Pad und die Nitrozellulose durchwandern, ohne sich dabei an andere Testlinien zu binden. Ein positives Ergebnis tritt auf, wenn eine rote Linie im Kontrollbereich (C) erscheint und wenn eine Linie oder mehrere Linien im Testbereich (K, O, V, I, oder N) erscheinen – dies bedeutet, dass die Probe eine oder mehr Carbapenemase enthält. Ein negatives Ergebnis tritt auf, wenn nur die Kontrolllinie sichtbar ist – dies bedeutet, dass die Probe keine der 5 Carbapenemase enthält. Erscheint die Kontrolllinie nicht, ist das Testergebnis ungültig.

REAGENZIEN UND MITGELIEFERTES MATERIAL**Jedes Test-Set enthält:**

- 20 Testkassetten in Aluminiumbeuteln mit Trockenmittel
- 20 Mikroröhrchen
- 20 Einmalpipetten 100µL
- 1 Extraktionspufferlösung in Kunststoffflasche (4,5 mL)
- 1 Bedienungsanleitung

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN

Stoppuhr • Einweghandschuhe • Impöse (1µL) • Vortexmischer

VORSICHTSMASSNAHMEN

- *In vitro*-Diagnostiktest. Ausschließlich zur professionellen Anwendung.
- Alle Verfahren sind gemäß den Grundsätzen der Guten Laborpraxis durchzuführen.
- Nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Die Produkte müssen bis zur Anwendung in den verschlossenen Beuteln verbleiben.
- Sämtliche Proben sind als potenziell infektiös zu behandeln.
- Nach dem Gebrauch die Produkte im entsprechenden Behälter für infektiöse Abfälle entsorgen.
- Produkte nur einmal verwenden.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Die Produkte im geschlossenen Beutel bei 4 bis 30°C lagern. Nicht einfrieren. Die Sets sind bis zum jeweils aufgedruckten Verfallsdatum in ihrer unbeschädigten Verpackung (Beutel mit Trockenmittel) haltbar.

NÄHRMEDIUM UND PROBENENTNAHME

Die zu untersuchenden Proben sind gemäß den standardisierten mikrobiologischen Verfahren zu entnehmen und zu behandeln.

Empfohlene Nährmedien:

Luria Broth (LB) und LB-Agar, Trypticase-Soja-Agar (TSA), Müller-Hinton-Agar, UriSelect™ 4, Columbia-Agar mit 5 % Pferdeblut, Columbia-Agar mit 5 % Schafblut, chromID® ESBL-Agar, chromID® CARBA SMART, Drigalski-Agar, CHROMagar™ mSuperCARBA™, Trypticase-Soja-Agar (TSA) mit 5 % Schafblut, Mac Conkey-Agar, HardyCHROM™ CRE-Agar.

ARBEITSANWEISUNGEN

- 1/ Schutzhandschuhe tragen.
- 2/ Die Set-Bestandteile für mindestens 10 Minuten auf Raumtemperatur bringen.

Vorbereitung der Probenentnahme

- 1/ 5 Tropfen (150µL) des Extraktionspuffers in eines der mitgelieferten Mikroröhrchen geben.
- 2/ Befüllen Sie von einer festen Agarkultur eine 1 µL-Öse, indem Sie 3 Kolonien berühren (nicht einsammeln), und suspensieren Sie sie dann in das Mikroröhrchen mit 150µL Extraktionspuffer.
- 3/ Mikroröhrchen verschließen.
- 4/ Vor der Verwendung die Mischung im Vortexmischer homogenisieren.

HINWEIS: *Viskose/schleimige Kolonien können aufgrund ihrer hohen Viskosität zu Migrationsproblemen führen. Wenn Sie ähflüssige/schleimige Kolonien haben, schütteln Sie eine Kolonie 3 Minuten lang im Extraktionspuffer und lassen Sie sie 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, bevor Sie den Test durchführen.*

Durchführung des Tests

- 1/ Den Beutel öffnen und Inhalt entnehmen. Der Test muss unmittelbar nach dem Öffnen verwendet werden.
- 2/ Mithilfe der mitgelieferten Pipette 100µL der vorbereiteten Mischung entnehmen (die Probe bis zum auf der Pipette angegebenen schwarzen Strich ansaugen, um genau 100µL anzusaugen) und in die mit „S“ gekennzeichnete Probenmulde geben.
- 3/ Die Ergebnisse nach 15 Minuten ablesen und wie unten angegeben auswerten.

HINWEIS: Interpretieren Sie die Testergebnisse nicht nach 20 Minuten, da sie sehr wahrscheinlich zu falsch positiven Ergebnissen führen können.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE**NEGATIV****Negatives Ergebnis**

Erscheint nur eine rote Linie in der Kontrollregion (C): Die Probe enthält keine der angegebenen Carbapenemase (oder einen nicht nachweisbaren Gehalt) und ist als negatives Ergebnis zu werten.

**VIM POSITIV****Positives Ergebnis**

Erscheint eine rote Linie im Kontrollbereich (C) und eine oder mehrere Linien in den Testbereichen K, O, V, I oder N, enthält die Probe eine oder mehrere Carbapenemase. Die ist als positives Ergebnis zu werten.

HINWEIS: Die Intensität der roten Farbe der Testlinie(n) kann je nach Konzentration der in der Probe enthaltenen Carbapenemase variieren. Eine schwachrote Linie ist als positives Testergebnis zu betrachten.

**UNGÜLTIG****Ungültiges Ergebnis**

Erscheint die Kontrolllinie (C) nicht oder ist sie nicht an dem Buchstaben (C) ausgerichtet, ist das Testergebnis ungültig. Unzureichendes Probenvolumen oder eine falsche Durchführung sind die wahrscheinlichsten Gründe für das Ausbleiben der Kontrolllinie. Ggf. ist das Test-Set beschädigt. Wiederholen Sie den Vorgang mit einem neuen Test. Besteht das Problem weiter, verwenden Sie das Set nicht erneut und setzen Sie sich mit Ihrem Händler in Verbindung.

QUALITÄTSKONTROLLE

Der Test enthält eine interne Kontrolle. Das Erscheinen der Kontrolllinie bestätigt, dass das Probenvolumen ausreichend war und das Verfahren korrekt durchgeführt wurde.

EINSCHRÄNKUNGEN

- 1/ Ein negatives Ergebnis schließt nicht das Vorhandensein von Carbapenemase-produzierenden Organismen aus (z. B. SME, GES, IMI).
- 2/ Falsch-negative Ergebnisse können bei multiplen Subkulturen eines bakteriellen Isolats ohne Selektionsdruck auftreten.
- 3/ Einige falsch-negative Ergebnisse können bei *Proteus mirabilis* auftreten, wenn nur aus Blutagar getestet wurde.
- 4/ *Proteus spp.* neigen zu schwarmartigem Wachstum auf Blutagar, daher sollte nur die Oberfläche der Schwärme von 3 verschiedenen Kolonien mit einer Öse berührt werden.
- 5/ Dieser Test ist ein qualitativer Test und wird keine quantitativen Ergebnisse erzielen.

6/ Dieser Test sollte als Hilfsmittel zur schnellen Identifizierung von Patienten verwendet werden, bei denen eine Resistenz gegenüber Carbapenem-Antibiotika vorliegt. Die gewonnenen Ergebnisse müssen anhand von alternativen oder ergänzenden Diagnostikverfahren bestätigt werden.

7/ Ein positiver oder ein negativer Test schließt nicht das Vorhandensein anderer Mechanismen von Antibiotika-Resistenz aus.

LEISTUNGEN UND EIGENSCHAFTEN**Nachweisgrenze**

Die Nachweisgrenze wurde mittels gereinigter rekombinanter Enzyme bestimmt:
KPC 600 pg/mL • OXA 300 pg/mL • VIM 300 pg/mL • IMP 200 pg/mL • NDM 150 pg/mL

Klinische Validierung

NG-Test® CARBA-5 wurde am CNR (Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques - Nationales Referenzzentrum für Antibiotikaresistenz, Kremlin-Bicêtre Hospital, Paris, Frankreich) validiert. 147 Stämme wurden mittels Gesamtgenomsequenzierungs-charakterisiertem β-Lactamase-Gehalt im Blindtest untersucht. Unter der validierten Erhebung wurden nur 2 seltene D179Y-KPC-Varianten nicht nachgewiesen (KPC-31 und KPC-33). Diese D179Y-Variante beeinträchtigte die Carbapenem- Hydrolyseaktivität des Enzyms, das nicht als eine Carbapenemase betrachtet werden kann, was auch zu einem negativen Ergebnis bei biochemischen Tests führt. Die Sensitivität und Spezifität von **NG-Test® CARBA-5** wurden durch Berücksichtigung der KPC-31- und KPC-33-Varianten als negative Ergebnisse errechnet.

Tabelle 1: Am CNR Kremlin Bicêtre¹⁾ gewonnene Ergebnisse.

		GESAMTGENOMSEQUENZIERUNG		
		POSITIV	NEGATIV	GESAMT
NG-TEST® CARBA-5	POSITIV	119	0	119
	NEGATIV	0	28	28
	GESAMT	119	28	147
SENSITIVITÄT		100%	CI 95% = 96.9 - 100%	
SPEZIFITÄT		100%	CI 95% = 87.9 - 100%	

Analytische Spezifität:

Organismus Gruppe	Ziel	Analytisch und in Validierungen detektierte Varianten 8; 11; 12
<i>Enterobacterales</i> *	KPC	2,3,4,5,6,7,12,14,28,39
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 27, 31
	IMP	1, 4, 6, 8, 10, 11, 14, 26, 47, 58
	NDM	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 5, 7, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

Zusammenfassung der von NG-Test CARBA 5 in Veröffentlichungen detektierten Varianten:

Organismus Gruppe	Ziel	Detektierte Varianten in Publikationen 8; 9; 10; 11; 12; 13
<i>Enterobacterales</i> *	KPC	2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 14, 19, 23, 28, 35, 39, 78, 79.
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 26, 27, 31, 39, 46, 51, 52, 54, 56, 58, 59
	IMP	1, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 22, 26, 47, 58, 61
	NDM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	1, 2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 4, 5, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

*Darunter auch: *Citrobacter braakii*, *C. freundii*, *C. koseri*, *C. sedlakii*, *Enterobacter aerogenes*, *E. asburiae*, *E. cloacae*, *E. cloacae complex*, ***Escherichia coli***, *E. hermannii*, *Klebsiella aerogenes*, *K. variicola*, *K. ozaenae*, *K. oxytoca*, ***K. pneumoniae***, *Kluyvera ascorbate*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *P. rettgeri*, *Pantoea species*, *Providencia alcalifaciens*, *Raoultella ornithinolytica*, *Salmonella enterica*, *S. senftenberg*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *S. sonnei*, *Shewanella sp.*, *S.bicestrii*, *Yersinia enterocolitica*...

LITERATUR

Das Literaturverzeichnis befindet sich am Ende des Dokuments.

SYMBOLS

Inhalt ausreichend für 20 Tests



Verfalldatum



Lagerung



Für In-Vitro-Diagnostik



Einmalige Verwendung



Bedienungsanleitung lesen



Chargennummer



Referenznummer



Hersteller

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το **NG-Test® CARBA-5** είναι μια ταχεία *in vitro* διαγνωστική τεχνική, μόνο για επαγγελματική χρήση. Είναι μία οπτική, πολυεπιλεκτική ανοσοχρωματογραφική (πλευρικής ροής) ποσοτική διαδικασία για την ανίχνευση και διαφοροποίηση των πέντε πιο κοινών οικογενών καρβαπενεμάσων (KPC, OXA-48-like, VIM, IMP και NDM) από παραγόμενες καρβαπενεμάσες, των ανθεκτικών καθαρών αποικιών **Enterobacterales** (περιλαμβανομένου **Escherichia coli** και **Klebsiella pneumoniae**) και **Pseudomonas aeruginosa** σε νοσοκομειακό περιβάλλον.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΑΡΧΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Οι β-λακτάμες είναι αντιβιοτικά πρώτης γραμμής για την θεραπεία λοιμώξεων που προκαλούνται από *Enterobacterales*. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητά τους έχει αμφισβητηθεί από την παραγωγή βακτηριακών ενζύμων, γνωστών ως β-λακταμάσες, τα οποία υδrolούν τον δακτύλιο β-β-λακτάμης και αδρανοποιούν το αντιβιοτικό. Οι β-λακταμάσες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τέσσερις κατηγορίες σύμφωνα με την ταξινόμηση του Ambler: οι κατηγορίες A, C και D είναι β-λακταμάσες με σερίνη στο ενεργό κέντρο, ενώ η κατηγορία B, επίσης γνωστή και ως μεταλλο-β-λακταμάση ή MBLs, έχει ενεργό κέντρο εξαρτώμενο ψευδαργύρου. Ύστερα από την εισαγωγή των β-λακταμικών αντιβιοτικών σε ευρεία κλινική πρακτική, το εύρος λειτουργίας των β-λακταμασών έχει αυξηθεί. Β-λακταμάσες με εκτεταμένο φάσμα δράσης (ικανές να υδrolούν οξζιμνο-κεφαλοσπορίνες, και μονοβακτάμες, αλλά όχι κεφαμυσίνες ή καρβαπενέμες), γνωστές ως β-λακταμάσες εκτεταμένου φάσματος ή ESBLs, εμφανίστηκαν σε νοσοκομειακό περιβάλλον τη δεκαετία του 1980 και έγινε πιο συνηθισμένο στην κοινότητα τη δεκαετία του 1990 και στις αρχές της δεκαετίας του 2000 και σχετίζονται με την οικογένεια CTX-M των ESBLs. Πρόσφατα, οι β-λακταμάσες με την ικανότητα να υδrolούν τα αντιβιοτικά καρβαπενέμης και τις πενικιλίνες, τις κεφαλοσπορίνες και τους παράγοντες μονοβακτάμης (γνωστές ως καρβαπενεμάσες) έχουν αυξηθεί σε επιπολασμό και έχουν εξαπλωθεί παγκοσμίως. Παραδείγματα από τις πιο διαδεδομένες καρβαπενεμάσες που βρίσκονται στα *Enterobacterales* είναι οι KPC (κατηγορία A), οι μεταλλο-β-λακταμάσες IMP, VIM και NDM (κατηγορία B) και ένζυμα τύπου OXA-48 (Κλάση D).

Σε συνδυασμό με τις κλινικές πληροφορίες και τις συμπληρωματικές διαγνωστικές διαδικασίες, η χρήση του **NG-Test® CARBA-5** στο εργαστήριο παρέχει πληροφορίες για την ανεύρεση κατάλληλης αντιμικροβιακής θεραπευτικής αγωγής και στην έγκαιρη λήψη αποφάσεων και δράσεων που αφορούν στον έλεγχο λοιμώξεων.

Το **NG-Test® CARBA-5** είναι μια *in vitro* ταχεία και οπτική, πολυεπιλεκτική ανοσοχρωματογραφική δοκιμασία που ανιχνεύει έναν ή περισσότερους από τους πέντε κοινούς τύπους καρβαπενεμάσων (KPC (K), OXA-48-like (O), IMP (I), VIM (V), NDM (N), σε βακτηριακές αποικίες. Η λύση των κυττάρων γίνεται με υγρό ρυθμιστικό διάλυμα εκχύλισης, όταν αναμινύεται με τις αποικίες. Μονοκλωνικά αντισώματα που αναγνωρίζουν μεμονωμένα καθενιά από τις πέντε καρβαπενεμάσες ακινητοποιούνται σε μια μεμβράνη νιτροκυτταρίνης. Στο πλακίδιο σύζευξης υπάρχουν ελεύθερα μονοκλωνικά αντισώματα και είναι σημασμένα με κολλοειδή χρυσό. Με την προσθήκη των αποικιών οι οποίες έχουν αναμινύθει με το ρυθμιστικό διάλυμα εκχύλισης στο πλακίδιο του δείγματος, η τριχοειδής δράση της νιτροκυτταρίνης τραβά το δείγμα μέσα από τα κινητικά αντισώματα και ακινητοποιεί τα αντισώματα στη δοκιμαστική ταινία. Τα ακινητοποιημένα αντισώματα ελέγχου ακινητοποιούν τα κινητικά αντισώματα που διαποτίζουν το πλακίδιο του δείγματος και τη νιτροκυτταρίνη χωρίς να δεσμεύονται σε άλλες γραμμές της δοκιμής. Θετικό αποτέλεσμα προκύπτει όταν στην περιοχή ελέγχου (C) εμφανίζεται μια κόκκινη γραμμή και στις περιοχές της δοκιμής (K, O, V, I ή N) εμφανίζονται μία ή περισσότερες γραμμές, ενώ υποδεικνύει ότι το δείγμα περιέχει μία ή περισσότερες καρβαπενεμάσες. Αρνητικό αποτέλεσμα προκύπτει όταν παρατηρείται μόνο η γραμμή ελέγχου και υποδεικνύει ότι το δείγμα δεν περιέχει καμία από τις 5 καρβαπενεμάσες. Αν η γραμμή ελέγχου δεν εμφανιστεί, το αποτέλεσμα της δοκιμής είναι άκυρο.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ**Κάθε κιτ περιέχει:**

- 20 κασέτες δοκιμής σε σακουλάκι αλουμινίου με ξηραντική ουσία
- 20 μικροσωληνάρια
- 20 πιπέτες μίας χρήσης των 100μL
- 1 Ρυθμιστικό διάλυμα εκχύλισης σε πλαστική φιάλη (4,5 mL)
- 1 Οδηγίες χρήσης

ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Χρονόμετρο • Γάντια μιας χρήσης • Κρίκος ενοφθαλμισμού (1μL) • Vortex

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- *In vitro* διαγνωστική δοκιμή. Μόνο για επαγγελματική χρήση.
- Όλες οι διεργασίες πρέπει να διεξάγονται σύμφωνα με την ορθή εργαστηριακή πρακτική.
- Να μη χρησιμοποιείται μετά την ημερομηνία λήξης.
- Οι συσκευές πρέπει να παραμένουν στα σφραγισμένα σακουλάκια μέχρι να χρησιμοποιηθούν.
- Ο χειρισμός των δειγμάτων να γίνεται σαν αυτά να ήταν δυνητικά μολυσματικά.
- Μετά τη χρήση, απορρίψτε τη συσκευή σε δοχείο μολυσματικών αποβλήτων.
- Μην επαναχρησιμοποιείτε τη συσκευή.

ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Αποθηκεύστε τις συσκευές στα σφραγισμένα σακουλάκια τους μεταξύ 4 και 30 °C. Μην καταψύχετε. Τα kits είναι σταθερά στην άθικτη συσκευασία τους (φακελλίσκος με ξηραντική ουσία) μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται επάνω σε κάθε κιτ.

ΚΑΛΙΕΡΓΕΙΑ ΚΑΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Η λήψη και ο χειρισμός των δειγμάτων που θα ελεγχθούν θα πρέπει να γίνονται σύμφωνα με τις πρότυπες διαδικασίες της μικροβιολογίας.

Επικουρωμένα μέσα καλλιέργειας:

Θρεπτικό υλικό Luria (LB) και άγαρ LB, άγαρ με τρυπτικήση και σόγια (TSA), άγαρ Mueller Hinton (MH), UriSelect™ 4, άγαρ Columbia + αίμα αλόγου 5%, άγαρ Columbia + 5% αίμα προβάτου, ChromID® ESBL, ChromID® CARBA SMART, άγαρ Drigalski (DRIG), CHROMagar™ mSuperCARBA™, TSA + αίμα προβάτου 5%, Mac Conkey, άγαρ HardyCHROM™ CRE.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

- 1/ Φορέστε προστατευτικά γάντια.
- 2/ Αφίστε τα περιεχόμενα του κιτ να αποκτήσουν τη θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον 10 λεπτά.

Προετοιμασία του δείγματος

- 1/ Δοσομετρήστε 5 σταγόνες (150μL) ρυθμιστικού διαλύματος εκχύλισης σε έναν από τους μικροσωληνες που παρέχονται στο κιτ.
- 2/ Από στερεή - άγαρ καλλιέργεια, παίρνοντας δείγμα αγγίζοντας 3 αποικίες με τον κρίκο όγκου 1μL (όχι όλη την ποσότητα τους) και τις διαλύουμε στο μικροσωληνά που περιέχει 150μL διάλυμα εκχύλισης.
- 3/ Κλείστε τον μικροσωληνά.
- 4/ Αναμείξτε σε αναμείκτη τύπου vortex.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Οι *εξιδρώσεις/ βλενωδίες αποικίες μορφαί να οδηγούνται σε προβλήματα μετακίνησης, λόγω του υψηλού ιξώδους τους. Όταν ξεκινάτε από εξιδρώσεις/βλενωδίες αποικίες, αναθεύστε για 3 λεπτά μια αποικία στο ρυθμιστικό διάλυμα εκχύλισης και αφήστε την να επωαστεί για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου πριν εκτελέσετε τη δοκιμή.*

Διεξαγωγή δοκιμής

1 / Ανοίξτε τον φάκελο και βγάλτε τη συσκευή. Μετά τον άνοιγμα, χρησιμοποιήστε αμέσως τη δοκιμή.

2 / Με χρήση της παρεχόμενης πιπέτας, προσθέστε 100μL του παρασκευασμένου μείγματος (το δείγμα πρέπει να φτάνει στη μαύρη γραμμή που φαίνεται στην πιπέτα για ακριβή αναρρόφηση 100μL) στο βιοθρίο του δείγματος με την ένδειξη «S».

3 / Διαβάστε τα αποτελέσματα σε 15 λεπτά και ερμηνεύστε τα σύμφωνα με τα παρακάτω.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Μην ερμηνεύετε τα αποτελέσματα των δοκιμών μετά το πέρας των 20 λεπτών, καθώς είναι πολύ πιθανόν να προκαλούν ψευδώς θετικά αποτελέσματα

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ**ΑΡΝΗΤΙΚΟ****Αρνητικό αποτέλεσμα**

Αν φαίνεται μόνο μία κόκκινη γραμμή στην περιοχή ελέγχου (C): το δείγμα δεν περιέχει οποιαδήποτε από τις ενδεικνυόμενες καρβαπενεμάσες (ή βρίσκονται σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα) και πρέπει να ερμηνευτεί ως αρνητικό αποτέλεσμα.

**VIM ΘΕΤΙΚΟ****Θετικό αποτέλεσμα**

Αν φαίνεται μία κόκκινη γραμμή στην περιοχή ελέγχου (C) και μία ή αρκετές γραμμές στις περιοχές της δοκιμής K, O, V, I, N: το δείγμα περιέχει μία ή αρκετές καρβαπενεμάσες και το αποτέλεσμα πρέπει να ερμηνευτεί ως θετικό

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η ένταση της (των) γραμμής(-ών) της δοκιμής μπορεί να ποικίλει ανάλογα με τη συγκέντρωση της καρβαπενεμάσης που υπάρχει στο δείγμα. Μια ασθενής γραμμή θα πρέπει να θεωρείται θετικό αποτέλεσμα.

**ΑΚΥΡΟ****Άκυρο αποτέλεσμα**

Αν στην περιοχή ελέγχου (C) δεν εμφανίζεται ένδειξη ή δεν ευθυγραμμίζεται με το γράμμα (C), το αποτέλεσμα της δοκιμασίας είναι μη έγκυρο. Ο ανεπαρκής όγκος δείγματος ή η εσφαλμένη διαδικασία είναι οι πιο πιθανοί λόγοι για την αστοχία της γραμμής ελέγχου. Μπορεί να έχει επέλθει αλλοίωση του kit της δοκιμής. Επαναλάβετε τη διαδικασία χρησιμοποιώντας μια νέα δοκιμή. Αν το πρόβλημα εμμένει, μην επαναχρησιμοποιείτε το kit και επικοινωνήστε με τον τοπικό διανομέα.

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Η δοκιμή περιλαμβάνει εσωτερικό έλεγχο ποιότητας. Με την ανάπτυξη της γραμμής ελέγχου, επιβεβαιώνεται η επάρκεια του όγκου του δείγματος και η ορθότητα της διαδικασίας.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1 / Ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει την ύπαρξη οργανισμών που παράγουν καρβαπενεμάσες (παράδειγμα: να παράγουν SME, GES, IMI).

2 / Εσφαλμένα αρνητικά αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν με πολλαπλές ανακαλλιέργειες ενός απομονωθέντος βακτηρίου χωρίς επιλεκτική πίεση.

3 / Κάποια εσφαλμένα αρνητικά αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν κατά τη δοκιμή του *Proteus mirabilis* μόνο από αιματούχο άγαρ.

4 / Τα βακτήρια του είδους *Proteus* τείνουν να εμφανίζουν ερπυσμό σε αιματούχο άγαρ, οπότε μόνο η επιφάνεια των ομάδων θα πρέπει να αγγίζεται με τον κρίκο, σε 3 διαφορετικές θέσεις.

5 / Αυτή η δοκιμή αποτελεί ποιοτική δοκιμασία και δεν αποδίδει κανένα ποσοτικό αποτέλεσμα.

6 / Αυτή η δοκιμή θα πρέπει να χρησιμοποιείται επικουρικά για την ταχεία αναγνώριση ασθενών με αντοχή σε αντιβιοτικά της καρβαπενεμής. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν πρέπει να επιβεβαιώνονται με εναλλακτικές ή συμπληρωματικές διαγνωστικές διαδικασίες.

7 / Μια θετική ή μια αρνητική δοκιμή δεν αποκλείει την παρουσία άλλων μηχανισμών αντοχής σε αντιβιοτικά.

ΕΠΙΔΟΣΕΙΣ ΚΑΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ**Όριο ανίχνευσης:**

Το όριο ανίχνευσης προσδιορίστηκε με χρήση καθαρισμένων ανασυνδυασμένων ενζύμων:

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

Κλινική αξιολόγηση:

Το NG-Test® CARBA-5 αξιολογήθηκε στο NRC (Εθνικό Κέντρο αναφοράς για την Αντοχή στα Αντιβιοτικά, Νοσοκομείο Kremlin-Bicêtre, Παρίσι, Γαλλία). Έγινε τυφλή δοκιμή 147 στελεχών για περιεχόμενες β-λακταμάσες, οι οποίες χαρακτηρίστηκαν με WGS. Από την αξιολογηθείσα συλλογή, μόνο 2 σπάνιες παραλλαγές D179Y παραλλαγή, μειώνει της KPC δεν ανιχνεύτηκαν (KPC-31 και KPC-33). Αυτή η D179Y απομειώνει την υδρολυτική δράση του ενζύμου επί της καρβαπενεμής και το ένζυμο δεν μπορεί να θεωρηθεί καρβαπενεμάση και επίσης οδηγεί σε αρνητικό αποτέλεσμα σε βιοχημικές δοκιμές. Η ευαισθησία και η ειδικότητα του NG-Test® CARBA-5 υπολογίστηκαν θεωρώντας τις παραλλαγές KPC-31 και KPC-33 ως αρνητικά αποτελέσματα.

Πίνακας 1: Αποτελέσματα που ελήφθησαν στο NRC Kremlin Bicêtre¹¹

		WGS		
		ΘΕΤΙΚΟ	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΣΥΝΟΛΟ
NG-TEST® CARBA-5	ΘΕΤΙΚΟ	119	0	119
	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	0	28	28
	ΣΥΝΟΛΟ	119	28	147

ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ	100%	ΔΕ 95% = 96.9 - 100%
ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ	100%	ΔΕ 95% = 87.9 - 100%

Πίνακας 1: Αποτελέσματα που ελήφθησαν στο:

Ομάδες οργανισμών	Στόχος	Παραλλαγές που εντοπίστηκαν αναλυτικά και σε ταυτοποιήσεις 8; 11; 12
<i>Enterobacterales</i> *	KPC	2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 14, 28, 39
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 27, 31
	IMP	1, 4, 6, 8, 10, 11, 14, 26, 47, 58
	NDM	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 5, 7, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

Σύνοψη των παραλλαγών που ανιχνεύονται από το NG-Test® CARBA-5 σε δημοσιεύσεις:

Ομάδες οργανισμών	Στόχος	Στελέχη που ανιχνεύθηκαν σε δημοσιεύσεις 8; 9; 10; 11; 12; 13
<i>Enterobacterales</i> *	KPC	2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 14, 19, 23, 28, 35, 39, 78, 79.
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 26, 27, 31, 39, 46, 51, 52, 54, 56, 58, 59
	IMP	1, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 22, 26, 47, 58, 61
	NDM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	1, 2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 4, 5, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

*περιλαμβάνει: *Citrobacter braakii*, *C. freundii*, *C. koseri*, *C. sedlakii*, *Enterobacter aerogenes*, *E. asburiae*, *E. cloacae*, *E. cloacae complex*, ***Escherichia coli***, *E. hermannii*, *Klebsiella aerogenes*, *K. variicola*, *K. ozaenae*, *K. oxytoca*, ***K. pneumoniae***, *Kluyvera ascorbate*, *Morganella morgannii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *P. rettgeri*, *Pantoea species*, *Providencia alcalifaciens*, *Raoultella ornithinolytica*, *Salmonella enterica*, *S. senftenberg*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *S. sonnei*, *Shewanella sp.*, *S.bicestrii*, *Yersinia enterocolitica*...

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Η βιβλιογραφία βρίσκεται στο τέλος του εγγράφου.

ΣΥΜΒΟΛΑ



Περιεχόμενο για 20 δοκιμασίες



in vitro
διαγνωστικό
ιατροτεχνολογικό
προϊόν



Αριθμός παρτίδας



Ημερομηνία
λήξης



Να μην
επαναχρησιμοποιείται



Αναφορά
καταλόγου



30°C
Όριο
θερμοκρασίας



Συμβουλευτείτε τις
οδηγίες χρήσης



Κατασκευαστής

INTRODUCCIÓN

NG-Test®/CARBA-5 es un ensayo de diagnóstico in vitro rápido, solo para uso profesional. Es un inmunoensayo (lateral flow) visual, y múltiple para la detección cualitativa y la diferenciación de las cinco familias de carbapenemasas más comunes (KPC, OXA-48-like, VIM, IMP y NDM) desde colonias bacterianas puras, no susceptibles, productoras de carbapenemasas en *Enterobacterales* (incluyendo *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*) y *Pseudomonas aeruginosa* en centros sanitarios.

RESUMEN

Los antibióticos β-lactámicos son antibióticos de primera línea para el tratamiento de las infecciones causadas por Enterobacterales; sin embargo, su eficacia se ha visto reducida por la producción de enzimas bacterianas conocidas como β-lactamasas, los cuales hidrolizan el anillo β-lactam e inactivan el antibiótico. Las β-lactamasas se pueden clasificar en cuatro clases según la clasificación Ambler: clase A, C y D, son β-lactamasas con serina en el sitio activo. Por otro lado, la clase B, también conocida como metalo-β-lactamasas o MBLs, tienen dependencia de zinc en el sitio activo.

Desde la introducción de los antibióticos β-lactámicos en la práctica clínica, el rango de actividad de las β-lactamasas se ha incrementado. β-lactamasas con espectro extendido de actividad (capaces de hidrolizar oxymimino-cefalosporinas y monobactams, pero no cefamicina ni carbapenems), conocidas como β-lactamasas de espectro extendido o ESBLs, aparecieron en el apareo hospitalario en 1980 y se convirtió en algo más común en el ámbito comunitario en 1990 y a principios de 2000 se asoció con la familia CTX-M de ESBLs. Recientemente, las β-lactamasas capaces de hidrolizar los antibióticos de tipo carbapenem, además de penicilinas, cefalosporinas y monobactams (conocidas como carbapenemasas) han aumentado en prevalencia y se han extendido por todo el mundo. Ejemplos de carbapenemasas encontradas en Enterobacterales son: KPC (Clase A), las metalo β-lactamasas IMP, VIM y NDM (Clase B), y OXA-48-like enzimas (Clase D).

Junto con información clínica y otros procedimientos diagnósticos complementarios, el uso del **NG-Test® CARBA-5** proporciona información necesaria para la selección de la opción terapéutica antimicrobiana y apoya la toma de decisiones e intervención rápida para el control de infecciones.

NG-Test® CARBA-5 es un inmunoensayo rápido in vitro y múltiple visual que detecta al menos uno de los cinco tipos comunes de enzimas carbapenemasas (KPC (K), OXA-48-like (O), IMP (I), VIM (V), NDM (N)) en colonias bacterianas. Se utiliza un tampón de extracción líquido como solución de lisis celular cuando está mezclado con colonias. Unos anticuerpos monoclonales que reconocen de manera individual cada una de las cinco carbapenemasas son inmovilizados en una membrana de nitrocelulosa. Unos anticuerpos monoclonales libres están presentes en la almohadilla de conjugado y marcados con oro coloidal. Tras la adición de colonias mezcladas con el tampón de extracción a la almohadilla de muestra, la muestra migra por capilaridad a través de los anticuerpos móviles e inmóviles en la tira reactiva. Los anticuerpos de control inmovilizados capturan los eventuales anticuerpos móviles que migran por la almohadilla de muestra y la nitrocelulosa sin unirse a otras líneas de prueba. El resultado es positivo cuando una línea roja aparece en la zona de control (C) y cuando al menos una línea aparece en las zonas de prueba (K, O, V, I o N) e indica que la muestra contiene al menos una carbapenemasa. El resultado es negativo cuando sólo aparece la línea de control e indica que la muestra no contiene ninguna de las 5 carbapenemasas. Si no aparece la línea de control, el resultado de la prueba no es válido.

REACTIVOS Y MATERIALES PROPORCIONADOS**Cada kit contiene:**

- 20 cartuchos de prueba en bolsas de aluminio con desecante
- 20 microtubos
- 20 pipetas desechables de 100µL
- 1 solución tampón de extracción en un frasco de plástico (4,5 mL)
- 1 modo de empleo

MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO PROPORCIONADOS

Temporizador • Guantes desechables • Asa de inoculación (1µL) • Agitador vortical

PRECAUCIONES

- Prueba de diagnóstico *in vitro*. Para uso profesional exclusivamente.
- Todas las operaciones se deben llevar a cabo según las buenas prácticas de laboratorio.
- No utilice después de la fecha de caducidad.
- Se deben mantener los dispositivos en las bolsas selladas hasta su utilización.
- Manipule las muestras como si fueran potencialmente infecciosas.
- Después de la utilización, deseche el dispositivo en un recipiente especial para desechos infecciosos.
- No reutilice el dispositivo.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Conservar los dispositivos en su bolsa sellada entre 4 y 30°C. No congelar. Los kits son estables en su envase intacto (bolsa con desecante) hasta la fecha de caducidad indicada en cada kit.

CULTIVO Y TOMA DE MUESTRAS

Las muestras que analizar se deben obtener y manipular según los procedimientos normalizados de microbiología.

Medios de cultivo validados:

Caldo Luria (LB) y agar LB, agar tripticosa de soya (ATS), agar Mueller Hinton (MH), UriSelect™ 4, agar Columbia + 5% de sangre de caballo, agar Columbia + 5% de sangre ovina, agar ChromID® ESBL, ChromID® CARBA SMART, agar Drigalski (DRIG), CHROMagar™ mSuperCARBATM, ATS + 5% de sangre de carnero, Mac Conkey, agar HardyCHROM™ CRE.

PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN

1 / Lleve guantes de protección.

2 / Lleve los componentes del kit a temperatura ambiente durante al menos 10 minutos.

Preparación de la muestra

1 / Distribuya 5 gotas (150µL) de tampón de extracción en uno de los microtubos proporcionados en el kit.

2 / De un cultivo de agar sólido, rellene un asa de 1µL tocando (no cogiendo) 3 colonias, y suspéndalas en el microtubo conteniendo 150µL de tampón de extracción.

3 / Cierre el microtubo.

4 / Mezcle con el agitador para homogeneizar la mezcla antes de la utilización.

NOTA: Colonias viscosas/mucosas pueden causar problemas de migración debido a su alta viscosidad. Cuando use colonias viscosas/mucosas, mezcle con el agitador vortex durante 3 minutos una colonia en el tampón de extracción e incube durante 10 minutos a temperatura ambiente antes de realizar la prueba.

Realización de la prueba

1 / Abra la bolsa y saque el dispositivo. Una vez abierta la bolsa, utilice la prueba inmediatamente.

2/ Utilizando la pipeta proporcionada, añada 100µL de la mezcla preparada (la muestra debe alcanzar la línea negra indicada en la pipeta para aspirar con exactitud 100µL) en el pozo de muestra marcado "S".

3/ Lea los resultados a los 15 minutos e intérpretelos como indicado abajo.

NOTA: No interprete los resultados de la prueba después de 20 minutos, ya que esto podría causar falsos positivos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS



NEGATIVO

Resultado negativo

Si sólo aparece una línea roja en la zona de control (C); la muestra no contiene ninguna carbaenemasa de las indicadas (o contiene una concentración indetectable) y se debe interpretar como resultado negativo.



VIM POSITIVO

Resultado positivo

Si aparece una línea roja en la zona de control (C) y si aparecen una o varias líneas en las zonas de prueba K, O, V, I, N: la muestra contiene una o varias carbaenemasas y se debe interpretar como resultado positivo.

NOTA: la intensidad de la(s) línea(s) de prueba roja(s) puede variar según la concentración de las carbaenemasas que está presente en la muestra. Una línea de intensidad débil se debe interpretar como resultado positivo.



NO VÁLIDO

Resultado no válido

Si no aparece la línea de control (C), o si no está alineada con la letra (C), el resultado de la prueba no es válido. Las razones más probables de que la línea de control no aparece son un volumen de muestra insuficiente o un procedimiento incorrecto.

Puede haberse deteriorado el kit de prueba. Repita el procedimiento utilizando una nueva prueba. Si el problema persiste, no reutilice el kit y comuníquese con su distribuidor.

CONTROL DE CALIDAD

Un control de calidad interno está incluido en la prueba. Cuando aparece la línea de control, eso confirma que el volumen de la muestra era suficiente y que el procedimiento era correcto.

LIMITACIONES

- 1 / Un resultado negativo no excluye la presencia de organismos productores de carbaenemasas (por ejemplo: productoras SME, GES, IMI).
- 2 / Resultados falsos negativos pueden ocurrir con varios subcultivos de un aislamiento bacteriano sin ninguna presión selectiva.
- 3 / Unos resultados falsos negativos pueden ocurrir con *Proteus mirabilis* analizado de agar sangre únicamente.
- 4 / *Proteus* spp. tienden a crecer de manera concentrada en agar sangre. Así, sólo se debe tocar la superficie de la aglomeración con un asa en 3 colonias distintas.
- 5 / Esta prueba es un ensayo cualitativo y no produce resultados cuantitativos.
- 6 / Se debe utilizar esta prueba como una ayuda para la identificación rápida de los pacientes resistentes a los antibióticos carbaenémicos. Se deben confirmar los resultados obtenidos con otros procedimientos de diagnóstico o procedimientos de diagnóstico complementarios.

7 / Un resultado positivo o negativo no excluye la presencia de otros mecanismos de resistencia a los antibióticos.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

Límite de detección:

El límite de detección fue determinado utilizando enzimas recombinantes purificadas: KPC 600 pg/mL • OXA 300 pg/mL • VIM 300 pg/mL • IMP 200 pg/mL • NDM 150 pg/mL

Evaluación clínica:

NG-Test® CARBA-5 fue evaluado en el Centro nacional de referencia Kremlin-Bicêtre (Centro nacional de referencia de resistencia a los antibióticos, Hospital Kremlin-Bicêtre, Paris, Francia). 147 cepas fueron analizadas a ciegas con un contenido de β-lactamasa caracterizado por secuenciación completa del genoma (WGS). Entre las cepas analizadas, sólo 2 variantes raras D179Y KPC no se detectaron (KPC-31 y KPC-33). Esta mutación D179Y afectó la actividad de hidrólisis de los carbaenemas de la enzima, la que no se puede considerar como carbaenemasa, llevando también a un resultado negativo con pruebas bioquímicas. La sensibilidad y la especificidad de NG-Test CARBA-5 fueron calculadas considerando las variantes KPC-31 y KPC-33 como resultados negativos.

Tabla 1: Resultados obtenidos en el Hospital NRC Kremlin Bicêtre¹¹

		WGS		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® CARBA-5	POSITIVO	119	0	119
	NEGATIVO	0	28	28
	TOTAL	119	28	147
SENSIBILIDAD		100%	CI 95% = 96,9 - 100%	
ESPECIFICIDAD		100%	CI 95% = 87,9 - 100%	

Especificidad analítica:

Grupo de organismos	Objetivo	Variantes detectadas en las publicaciones 8; 11; 12
<i>Enterobacterales</i> *	KPC	2,3,4,5,6,7,12,14,28,39
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 27, 31
	IMP	1, 4, 6, 8, 10, 11, 14, 26, 47, 58
	NDM	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 5, 7, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

Resumen de las variantes detectadas por NG-Test® CARBA 5 en publicaciones:

Grupo de organismos	Objetivo	Variantes detectadas en las publicaciones 8; 9; 10; 11; 12; 13
Enterobactéras*	KPC	2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 14, 19, 23, 28, 35, 39, 78, 79.
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 26, 27, 31, 39, 46, 51, 52, 54, 56, 58, 59
	IMP	1, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 22, 26, 47, 58, 61
	NDM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 19
Pseudomonas aeruginosa	KPC	1, 2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 4, 5, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

*Incluyendo algunas: *Citrobacter braakii*, *C. freundii*, *C. koseri*, *C. sedlakii*, *Enterobacter aerogenes*, *E. asburiae*, *E. cloacae*, *E. cloacae* complex, ***Escherichia coli***, *E. hermannii*, *Klebsiella aerogenes*, *K. variicola*, *K. ozaenae*, *K. oxytoca*, ***K. pneumoniae***, *Kluyvera ascorbate*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *P. rettgeri*, *Pantoea species*, *Providencia alcalifaciens*, *Raoultella ornithinolytica*, *Salmonella enterica*, *S. senftenberg*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *S. sonnei*, *Shewanella sp.*, *S.bicestrii*, *Yersinia enterocolitica*...

REFERENCIAS

La bibliografía se encuentra al final del documento.

SÍMBOLOS

 Contenido para 20 ensayos	 Fecha de caducidad	 Límite de temperatura
 Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 No reutilice	 Consulte el modo de empleo
 Número de lote	 Referencia del catálogo	 Fabricante

UVOD

NG-Test® CARBA-5 je brzi in-vitro dijagnostički test, samo za profesionalnu upotrebu. Riječ je o vizualnom multipleksnom imunokromatografskom (lateralni protok) kvalitativnom testu za otkrivanje i diferencijaciju pet najčešćih obitelji karbapenemaze (KPC, OXA-48 sličan, VIM, IMP i NDM) iz proizvodnje karbapenemaze, nesenzibilnih čistih bakterijskih kolonija *Enterobacterales* (uključujući *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae*) i *Pseudomonas aeruginosa* bolničkim okružju.

SAŽETAK I NAČELO

β-laktami su antibiotici prve linije za liječenje infekcija koje uzrokuje *Enterobacterales*; međutim, njihovu učinkovitost dovodi u pitanje proizvodnja bakterijskih enzima, poznatih kao β-laktamaze, koji hidroliziraju β-laktamski prsten i inaktiviraju antibiotik. β-laktamaze mogu se kategorizirati u četiri klase prema Amblerovoj klasifikaciji: klase A, C i D su β-laktamaze sa serinom na aktivnom mjestu, dok klasa B, poznata i kao metalo-β-laktamaze ili MBLs, imaju aktivno mjesto ovisno o cinku. Od uvođenja β-laktamskih antibiotika u široku kliničku praksu, raspon aktivnosti β-laktamaza je porastao. β-laktamaze s produženim spektrom aktivnosti (koje mogu hidrolizirati oksimiino-cefalosporine, i monobaktame, ali ne i cefamicine ili karbapeneme), poznate kao β-laktamaze iz proširenog spektra ili ESBL-a, pojavile su se u bolnicama tijekom 1980-ih i postale češće u komunalnim okružjima 1990-ih i početkom 2000-ih, a povezano su s CTX-M-ovima iz obitelji ESBLs-a. Nedavno su β-laktamaze sa sposobnošću hidrolize antibiotika karbapenema plus penicilini, cefalosporini i monobaktamski agensi (poznati kao karbapenemaze) povećavale prevalenciju i širile se širom svijeta. Primjeri najčešćih karbapenemaza koje se nalaze u *Enterobacterales* su KPC (klasa A), metalo β-laktamaze IMP, VIM i NDM (klasa B) i enzimi sličnih OXA-48 (klasa D).

Zajedno s kliničkim informacijama i komplementarnim dijagnostičkim postupcima, korištenje **NG-Test® CARBA-5** u laboratoriju pruža informacije koje mogu podržati odgovarajuće antimikrobne terapijske izbore, brze odluke o kontroli infekcija i intervencije

NG-Test® CARBA-5 je brzi i vizualno multipleksni imunokromatografski in vitro test kojim se otkriva jedna ili više od pet najčešćih vrsta karbapenemaza (KPC (K), slična OXA-48 (O), IMP (I), VIM (V), NDM (N)) u bakterijskim kolonijama. Tekući ekstrakcijski pufer upotrebljava se kao otopina za lizu stanica u kombinaciji s kolonijama. Monoklonska protutijela koja pojedinačno prepoznaju svaku od pet karbapenemaza imobilizirana su na nitroceluloznoj membrani. Slobodna monoklonska protutijela prisutna su u podlozi za konjugate i označena koloidnim zlatom. Kad na podlogu s uzorkom dodate kolonije pomiješane s ekstrakcijskim puferom, kapilarno djelovanje nitroceluloze povlači uzorak kroz mobilna protutijela i imobilna protutijela na testnoj traci. Imobilizirana kontrolna protutijela hvataju mobilna protutijela koja prolaze kroz podlogu s uzorkom i nitrocelulozu bez vezivanja za druge testne crte. Pozitivan rezultat pokazuje crvena crta koja se pojavi na kontrolnoj regiji (C) i jedna ili više crta u testnim regijama (K, O, V, I ili N), što znači da uzorak sadržava jednu ili više karbapenemaza. Negativan rezultat pokazuje samo kontrolna crta, što znači da uzorak ne sadržava nijednu od pet karbapenemaza. Ako se kontrolna crta ne pojavi, rezultat testa nije važeći.

ISPORUČENI REAGENS I MATERIJALI

U svakom kompletu sadržano je sljedeće:

- 20 testnih kaseti u aluminijским vrećicama s desikantom
- 20 mikroepreveta
- 20 jednokratnih pipeta od 100µL
- 1 ekstrakcijska puferska otopina u plastičnoj bočici (4,5 mL)
- 1 upute za upotrebu

POTREBNI MATERIJALI KOJI NISU ISPORUČENI

Brojač vremena • Rukavice za jednokratnu upotrebu • Štapić za inokulaciju (1µL)
• Vrtložna miješalica

MJERE OPREZA

- Test za *in vitro* dijagnostiku. Samo za stručnu uporabu.
- Izvršite sve radnje u skladu s dobrom laboratorijskom praksom.
- Ne upotrebljavajte nakon isteka roka valjanosti.
- Proizvodi moraju ostati u zatvorenim vrećicama sve do upotrebe.
- Rukujte uzorcima kao da su potencijalno zarazni.
- Nakon upotrebe bacite proizvod u spremnik za infektivni otpad.
- Nemojte ponovno upotrebljavati proizvod.

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Čuvajte proizvode u zatvorenim vrećicama između 4 i 30 °C. Ne zamrzavajte. Kompleti su stabilni u netaknutom pakiranju (vrećica s desikantom) do roka valjanosti navedenog na pojedinom kompletu.

KULTURA I UZORKOVANJE

Uzorci za testiranje moraju se dobiti i upotrebljavati u skladu sa standardiziranom mikrobiološkom praksom.

Potvrđeni mediji za uzgoj kultura:

Luria Broth (LB) i LB agar, triptička-soja-agaru (TSA), Mueller Hinton (MH) agar, UriSelect™ 4, Columbia agar + 5 %-tna konjska krv, Columbia agar + 5 % ovčje krvi, ChromID® ESBL agar, ChromID® CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar, CHROMagar™ M SuperCARBA™, TSA + 5 %-tna ovčja krv, Mac Conkey, HardyCHROM™ CRE agar.

RADNI POSTUPAK

- 1 / Nosite zaštitne rukavice.
- 2 / Držite dijelove kompleta na sobnoj temperaturi barem 10 minuta.

Priprema uzorka

- 1 / Ukupajte 5 kapi (150µL) ekstrakcijskog pufera u jednu od mikroepreveta iz kompleta.
- 2 / Iz solidne kulture na bazi agara napunite štapić od 1µL dođirom na 3 kolonije (ali ne sakupljajući ih), a zatim je suspendirajte u mikroeprevetu koja sadrži 150µL pufera za ekstrakciju. Zatvorite mikroeprevetu.
- 3 / Zatvorite mikroeprevetu.
- 4 / Zamiješajte vrtložnom miješalicom da biste homogenizirali prije upotrebe.

NAPOMENA: Viskozne / mukozne kolonije mogu dovesti do problema s migracijom zbog velike viskoznosti. Kada započnete od viskoznih/mukoznih kolonija, vrtite koloniju tijekom 3 minute u puferu za ekstrakciju i ostavite ga da inkubira 10 minuta na sobnoj temperaturi prije obavljanja testa.

Provođenje testa

- 1 / Otvorite vrećicu i izvadite proizvod. Nakon otvaranja upotrijebite test odmah.
- 2 / Isporučenom pipetom dodajte 100µL pripremljene mješavine (za ispravnu aspiraciju 100µL uzorak mora dosegnuti crnu crtu na pipeti) u jačicu za uzorke označenu slovom „S“.
- 3 / Očitajte rezultate za točno 15 minuta i protumačite ih kako je navedeno u nastavku.

NAPOMENA: Ne tumačite rezultate ispitivanja nakon 20 minuta, jer vrlo vjerojatno mogu uzrokovati lažno pozitivne rezultate.

TUMAČENJE REZULTATA



NEGATIVAN

Negativan rezultat

Ako se u kontrolnoj regiji (C) pojavi samo jedna crvena linija: uzorak ne sadrži nijednu od naznačenih karbapenemaza (ili su na razini koja se ne može otkriti) i mora se tumačiti kao negativan rezultat.



VIM POZITIVAN

Pozitivan rezultat

Ako se u kontrolnoj regiji (C) pojavi jedna crvena crta, a u testnim regijama K, O, V, I, N jedna ili više crta: uzorak sadržava jednu ili više karbapenemaza i mora se tumačiti kao pozitivan rezultat.

NAPOMENA: intenzitet crvene testne crte (ili crta) može se razlikovati ovisno o koncentraciji karbapenemaza u uzorku. Slaba crta treba se smatrati pozitivnim rezultatom.



NEVAŽEĆI

Nevažeći rezultat

Ako se kontrolna crta (C) ne pojavi, ili ako nije poravnana sa slovom (C), rezultat testna nije važeći. Razlog za nedostatak kontrolne crte najčešće je nedovoljan volumen uzorka ili neispravan postupak. Možda je došlo do propadanja testnog kompleta. Ponovite postupak s pomoću novog testa. Ako problem i dalje postoji, ne upotrebljavajte više komplet i obratite se distributeru.

KONTROLA KVALITETE

U test je uključena interna kontrola kvalitete. Kad se razvije kontrolna crta, to znači da je volumen uzorka dovoljan i da je postupak ispravan.

OGRANIČENJA

- 1 / Negativan rezultat ne isključuje prisutnost organizama koji proizvode karbapenemaze (npr.: SME, GES, IMI).
- 2 / Mogu se pojaviti lažni negativni rezultati ako postoji više supkultura bakterijskog izolata bez selektivnog pritiska.
- 3 / Neki lažni negativni rezultati mogu se pojaviti kad se *Proteus mirabilis* testira samo iz krvnog agara.
- 4 / *Proteus spp.* imaju tendenciju rasta u obliku spruda na krvnom agaru, pa bi samo površinu spruda trebalo dodirnuti štapićem u 3 različite kolonije.
- 5 / Ovaj je test kvalitativna analiza i neće dati kvantitativne rezultate.
- 6 / Test je namijenjen kao pomoć pri brzom identifikaciji pacijenata otpornih na karbapenemske antibiotike. Dobivene rezultate treba potvrditi alternativnim ili komplementarnim dijagnostičkim postupcima.
- 7 / Pozitivan ili negativan rezultat testa ne isključuje prisutnost drugih mehanizama otpornosti na antibiotike.

RADNA SVOJSTVA I KARAKTERISTIKE

Granica otkrivanja:

Granica otkrivanja utvrđena je pročišćenim rekombinantnim enzimima:
KPC 600 pg/mL • OXA 300 pg/mL • VIM 300 pg/mL • IMP 200 pg/mL • NDM 150 pg/mL

Klinička procjena:

NG-Test® CARBA-5 procijenjen je u NRC-u (Nacionalni istraživački centar za antibiotsku otpornost, bolnica Kremlin-Bicêtre, Pariz, Francuska). Slijepo je testirano 147 sojeva sa sadržajem β-laktamaze karakteriziranim kao WGS. U procijenjenoj skupini nisu otkrivene samo dvije rijetke varijante D179Y KPC (KPC-31 i KPC-33). Varijanta D179Y utjecala je na aktivnost enzima pri hidrolizi karbapenema koji se ne može smatrati karbapenemazom, što je također dovelo do negativnog rezultata u biokemijskim testovima. Osjetljivost i specifičnost testa **NG-Test® CARBA-5** izračunata je uzimajući u obzir varijante KPC-31 i KPC-33 kao negativne rezultate.

Tablica 1: Rezultati dobiveni u NRC-u Kremlin-Bicêtre¹¹

		WGS		
		POZITIVNO	NEGATIVNO	UKUPNO
NG-TEST® CARBA-5	POZITIVNO	119	0	119
	NEGATIVNO	0	28	28
	UKUPNO	119	28	147

OSJETLJIVOST	100%	95 %-tni interval pouzdanosti (CI) = 96.9 – 100 %
SPECIFIČNOST	100%	95 %-tni interval pouzdanosti (CI) = 87.9 – 100 %

Analitička specifičnost:

Grupa organizama	Ciljne	Varijante otkrivene analitički i tijekom validacija 8; 11; 12
<i>Enterobacterales</i> *	KPC	2,3,4,5,6,7,12,14,28,39
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 27, 31
	IMP	1, 4, 6, 8, 10, 11, 14, 26, 47, 58
	NDM	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 5, 7, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

Sažetak varijanti otkrivenih testom NG-Test Carba 5 u publikacijama:

Grupa organizama	Ciljne	Variants détectés dans les publications 8; 9; 10; 11; 12; 13
<i>Enterobacterales*</i>	KPC	2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 14, 19, 23, 28, 35, 39, 78, 79.
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 26, 27, 31, 39, 46, 51, 52, 54, 56, 58, 59
	IMP	1, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 22, 26, 47, 58, 61
	NDM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	1, 2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 4, 5, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

*Uključujući neke: *Citrobacter braakii*, *C. freundii*, *C. koseri*, *C. sedlakii*, *Enterobacter aerogenes*, *E. asburiae*, *E. cloacae*, *E. cloacae* complex, ***Escherichia coli***, *E. hermannii*, *Klebsiella aerogenes*, *K. variicola*, *K. ozonae*, *K. oxytoca*, ***K. pneumoniae***, *Kluyvera ascorbate*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *P. rettgeri*, *Pantoea species*, *Providencia alcalifaciens*, *Raoultella ornithinolytica*, *Salmonella enterica*, *S. senftenberg*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *S. sonnei*, *Shewanella sp.*, *S.bicestrii*, *Yersinia enterocolitica*...

BIBLIOGRAFIJA

Bibliografija se nalazi na kraju dokumenta.

SIMBOLI



Sadržaj za 20 analiza



Rok valjanosti



30°C

Granična
vrijednost
temperature

4°C

IVD

In vitro dijagnostički
medicinski proizvod



Nije za ponovnu
upotrebu



Pogledajte
upute
za upotrebu

LOT

Broj šarže

REF

Kataloška
referencija



Proizvođač

INTRODUZIONE

NG-Test® CARBA-5 è un test rapido diagnostico in vitro, esclusivamente per uso professionale. È un test qualitativo immunocromatografico multiplex (flusso laterale) a lettura visiva per la ricerca e la differenziazione delle cinque famiglie più comuni di carbapenemasi (KPC, OXA-48-like, VIM, IMP e NDM), provenienti da colonie batteriche di *Enterobacteriales* (incluse *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*) e di *Pseudomonas aeruginosa* non sensibili e produttrici di carbapenemasi, isolate in ambito sanitario.

SINTESI E PRINCIPIO

I β-lattamici sono antibiotici di prima linea per il trattamento delle infezioni causate dalle *Enterobacteriales*; tuttavia, la loro efficacia è stata messa in discussione dalla produzione di enzimi batterici, noti come β-lattamasi, che idrolizzano l'anello β-lattamico e inattivano l'antibiotico. Le β-lattamasi possono essere classificate in quattro classi secondo la classificazione di Ambler: le classi A, C e D sono β-lattamasi con serina nel sito attivo, mentre la classe B, nota anche come metallo-β-lattamasi o MBL, ha uno zinco- sito attivo dipendente. Dall'introduzione degli antibiotici β-lattamici nella pratica clinica diffusa, il range di attività delle β-lattamasi è cresciuto. Le β-lattamasi con un'attività a spettro esteso (in grado di idrolizzare le ossimino-cefalosporine e i monobattami, ma non le cefamicine o i carbapenemi), note come β-lattamasi a spettro esteso o ESBL, sono emerse in ambiente ospedaliero negli anni '80 e sono diventate più comuni in contesti comunitari negli anni '90 e all'inizio degli anni 2000, associate alla famiglia delle ESBL CTX-M. Recentemente, la prevalenza delle β-lattamasi con la capacità di idrolizzare gli antibiotici carbapenemici più le penicilline, le cefalosporine e gli agenti monobattamici (note come carbapenemasi) è in aumento e le resistenze si sono diffuse in tutto il mondo. Esempi delle carbapenemasi più diffuse presenti nelle *Enterobacteriales* sono KPC (Classe A), le metallo β-lattamasi IMP, VIM e NDM (Classe B) e gli enzimi OXA-48-like (Classe D).

L'uso di **NG-Test® CARBA-5** nei laboratori, insieme alle informazioni cliniche e alle procedure diagnostiche complementari, fornisce indicazioni che possono supportare scelte terapeutiche antimicrobiche appropriate, nonché decisioni e interventi tempestivi per il controllo delle infezioni.

NG-Test® CARBA-5 è un test immunocromatografico multiplo rapido per la rilevazione di uno dei cinque, o più, tipi comuni di carbapenemasi (KPC (K), OXA-48-like (O), IMP (I), VIM (V), NDM (N)) nelle colonie batteriche. Il tampone di estrazione liquido viene utilizzato come soluzione di lisi cellulare quando viene miscelato con le colonie. Gli anticorpi monoclonali che riconoscono singolarmente ciascuna delle cinque carbapenemasi sono immobilizzati su una membrana di nitrocellulosa. Gli anticorpi monoclonali liberi sono presenti nel coniugato e sono marcati con oro colloidale. Quando le colonie risospese nel tampone di estrazione vengono dispensate nel dispositivo, l'azione capillare della nitrocellulosa consente la migrazione del campione attraverso gli anticorpi mobili e gli anticorpi immobilizzati sulla striscia reattiva. Gli anticorpi di controllo immobilizzati catturano gli anticorpi mobili che migrano attraverso la membrana senza essersi legati ad altre linee Test. Si verifica un risultato positivo quando una linea rossa appare in corrispondenza dell'area di controllo (C) e una o più linee appaiono nelle aree Test (K, O, V, I o N), e indica che il campione contiene uno o più carbapenemasi. Si verifica un risultato negativo quando viene osservata solo la linea di controllo e ciò indica che il campione non contiene nessuno delle 5 carbapenemasi. Se la linea di controllo non appare, il risultato del test non è valido.

REAGENTI E MATERIALI FORNITI**Ogni kit contiene:**

- 20 cassette Test in sacchetti di alluminio con essiccante
- 20 microprovette
- 20 Pipette monouso da 100µL
- 1 Soluzione tampone di estrazione in una provetta di plastica (4,5 mL)
- 1 Istruzioni per l'uso

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Timer • Guanti monouso • Ansa da 1µL • Vortex

PRECAUZIONI

- Test diagnostico in vitro. Solo per uso professionale.
- Tutte le operazioni devono essere eseguite secondo le buone pratiche di laboratorio.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza.
- I dispositivi devono rimanere nelle buste sigillate fino al momento dell'utilizzo.
- Maneggiare i campioni come se fossero potenzialmente infettivi.
- Dopo l'uso, eliminare il dispositivo in un contenitore per rifiuti infettivi.
- Non riutilizzare il dispositivo.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare i dispositivi nelle loro buste sigillate tra 4 e 30°C. Non congelare. I kit sono stabili nella loro confezione intatta (bustina con essiccante) fino alla data di scadenza indicata su ogni kit.

COLTURA E CAMPIONAMENTO

I campioni da testare devono essere ottenuti e manipolati secondo le procedure microbiologiche standardizzate.

Terreni di coltura validati:

Agar Luria Broth (LB) e agar LB, Trypticase soya agar (TSA), agar Mueller Hinton (MH), UriSelect™ 4, agar Columbia + 5 % di sangue di cavallo, Columbia agar + 5 % sangue di montone, agar ChromID® ESB, ChromID® CARBA SMART, agar Drigalski (DRIG), CHROMagar™ mSuperCARBA™, TSA + 5 % di sangue di montone, Mac Conkey, agar HardyCHROM™ CRE.

PROCEDURA OPERATIVA

- 1 / Indossare guanti protettivi.
- 2 / Portare i componenti del kit a temperatura ambiente per almeno 10 minuti.

Preparazione del campione

- 1 / Versare 5 gocce (150µL) di tampone di estrazione in una delle provette fornite con il kit.
- 2 / Da una coltura solida a base di agar, riempire un'ansa da 1µL toccando (non raccogliendo) 3 colonie, quindi risospenderle nella microprovetta contenente 150µL di tampone di estrazione.
- 3 / Chiudere la provetta.
- 4 / Prima dell'uso, omogeneizzare la miscela con il Vortex.

NOTA: Le colonie di aspetto viscosa/mucoso possono ingenerare problemi di migrazione, a causa della loro elevata viscosità. Prima di eseguire il test, omogeneizzare con il vortex per 3 minuti una colonia stemperata nel tampone di estrazione e successivamente incubarla per 10 minuti a temperatura ambiente.

Esecuzione del test

- 1 / Aprire il sacchetto ed estrarre il dispositivo. Una volta aperto, utilizzare immediatamente il test.
- 2 / Utilizzando la pipetta in dotazione, aggiungere 100µL della miscela preparata (il campione deve raggiungere la linea nera indicata sulla pipetta per aspirare accuratamente 100µL) nel pozzetto del campione etichettato "S".
- 3 / Leggere i risultati a 15 minuti e interpretarli come indicato di seguito.

NOTA: Non interpretare il risultato dopo che siano trascorsi 20 minuti, poiché molto probabilmente si potrebbero verificare risultati falsi positivi.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**NEGATIVO****Risultato negativo**

Se compare solo una linea rossa nella regione di controllo (C): il campione non contiene nessuna delle carbapenemasi indicate (o un livello non rilevabile) e deve essere interpretato come risultato negativo.

**VIM POSITIVO****Risultato positivo**

Se nella regione di controllo (C) appare una linea rossa e nelle regioni Test K, O, V, I, N appaiono una o più linee rosse: il campione contiene uno o più carbapenemasi e va interpretato come risultato positivo.

NOTA: l'intensità della linea/e rossa/e del test può variare a seconda della concentrazione delle carbapenemasi presenti nel campione. Una linea debole deve essere considerata come un risultato positivo.

**NON VALIDO****Risultato non valido**

Se la linea di controllo (C) non appare, o non è allineata alla lettera (C), il risultato del test non è valido. Le ragioni più probabili per l'assenza della linea di controllo possono riguardare un volume di campione insufficiente o una procedura non corretta. Può essersi verificato un deterioramento del kit di prova. Ripetere la procedura utilizzando un nuovo test. Se il problema persiste, non riutilizzare il kit e contattare il distributore locale.

CONTROLLO QUALITÀ

Il test prevede un controllo di qualità interno. Lo sviluppo della linea di controllo sta ad indicare che il volume del campione era sufficiente e che la procedura era corretta.

LIMITI

- 1 / Un risultato negativo non esclude la presenza di microrganismi produttori di carbapenemasi (esempio: produttori SME, GES, IMI).
- 2 / Risultati falsi negativi possono verificarsi con sottocolture eterogenee di un isolato batterico senza alcuna pressione selettiva.
- 3 / Alcuni risultati falsi negativi possono verificarsi con *Proteus mirabilis* testato solo da agar sangue.
- 4 / *Proteus spp.* tende a mostrare una crescita a sciame su agar sangue, quindi dovrebbe essere toccata con un'ansa in 3 diverse colonie solo la superficie della sciamatura.

5 / Questo test è un test qualitativo e non fornirà alcun risultato quantitativo.

6 / Questo test deve essere utilizzato come ausilio per una rapida identificazione dei pazienti che presentano una resistenza agli antibiotici carbapenemi. I risultati ottenuti devono essere confermati con procedure diagnostiche alternative o complementari.

7 / Un test positivo o negativo non esclude la presenza di altri meccanismi di resistenza agli antibiotici.

PRESTAZIONI E CARATTERISTICHE**Limite di rilevazione:**

Il limite di rilevazione è stato determinato utilizzando enzimi ricombinanti purificati: KPC 600 pg/mL • OXA 300 pg/mL • VIM 300 pg/mL • IMP 200 pg/mL • NDM 150 pg/mL

Valutazione clinica:

NG-Test® CARBA-5 è stato valutato presso l'NRC (Centro nazionale di riferimento per la resistenza agli antibiotici, Ospedale Kremlin-Bicêtre, Parigi, Francia). 147 ceppi sono stati sottoposti a test in cieco con un contenuto di β-Lattamasi caratterizzato con WGS. All'interno della collezione sottoposta a valutazione, solo 2 rare varianti di D179Y KPC non sono state rilevate (KPC-31 e KPC-33). La variante D179Y indebolisce l'attività idrolitica carbapenemica dell'enzima, quindi non può essere considerata come una carbapenemasi, e genera risultati negativi anche con test biochimici. La sensibilità e la specificità di **NG-Test® CARBA-5** è stata calcolata considerando le varianti KPC-31 e KPC-33 come risultati negativi.

Tabla 1: Resultados obtenidos en el Hospital NRC Kremlin Bicêtre¹¹

		WGS		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTALE
NG-TEST® CARBA-5	POSITIVO	119	0	119
	NEGATIVO	0	28	28
	TOTALE	119	28	147

SENSIBILITÀ	100%	CI 95% = 96,9 - 100%
SPECIFICITÀ	100%	CI 95% = 87,9 - 100%

Specificità analitica:

Gruppo di microrganismi	Bersaglio	Varianti rilevate analiticamente e nelle validazioni 8; 11; 12
<i>Enterobacterales*</i>	KPC	2,3,4,5,6,7,12,14,28,39
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 27, 31
	IMP	1, 4, 6, 8, 10, 11, 14, 26, 47, 58
	NDM	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 5, 7, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

Riepilogo delle varianti rilevate da NG-Test® CARBA 5 nelle pubblicazioni:

Gruppo di microrganismi	Bersaglio	Varianti rilevate nelle pubblicazioni 8; 9; 10; 11; 12; 13
<i>Enterobacterales*</i>	KPC	2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 14, 19, 23, 28, 35, 39, 78, 79.
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 26, 27, 31, 39, 46, 51, 52, 54, 56, 58, 59
	IMP	1, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 22, 26, 47, 58, 61
	NDM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	1, 2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 4, 5, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

*Incluse alcune: *Citrobacter braakii*, *C. freundii*, *C. koseri*, *C. sedlakii*, *Enterobacter aerogenes*, *E. asburiae*, *E. cloacae*, *E. cloacae* complex, ***Escherichia coli***, *E. hermannii*, *Klebsiella aerogenes*, *K. variicola*, *K. ozaenae*, *K. oxytoca*, ***K. pneumoniae***, *Kluyvera ascorbate*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *P. rettgeri*, *Pantoea species*, *Providencia alcalifaciens*, *Raoultella ornithinolytica*, *Salmonella enterica*, *S. senftenberg*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *S. sonnei*, *Shewanella sp.*, *S.bicestii*, *Yersinia enterocolitica*...

BIBLIOGRAFIA

La bibliografia si trova alla fine del documento.

SIMBOLI

 Quantità sufficiente per 20 tests	 Data di scadenza	 Limite di temperatura
 Dispositivo medico per test diagnostici <i>in vitro</i>	 Non riutilizzare	 Consultare le istruzioni per l'uso
 Numero di lotto	 Riferimento catalogo	 Produttore

INTRODUÇÃO

O **NG-Test® CARBA-5** é um teste rápido de diagnóstico *in vitro*, apenas para uso profissional. É um ensaio multiplex qualitativo imunocromatográfico visual para a detecção e diferenciação das cinco famílias de carbapenemases mais comuns (KPC, OXA-48-like, VIM, IMP e NDM) a partir de colónias bacterianas puras não-suscetíveis produtoras de carbapenemases, com **Enterobacterales** (incluindo **Escherichia coli** e **Klebsiella pneumoniae**) e **Pseudomonas aeruginosa** em ambientes de saúde.

SÍNTESE E PONTOS PRINCIPAIS

Os β-lactâmicos são antibióticos de primeira linha para o tratamento de infeções causadas por *Enterobacteriaceae*; no entanto, sua eficácia tem sido contestada pela produção de enzimas bacterianas, conhecidas como β-lactamases, que hidrolisam o anel β-lactâmico e inativam o antibiótico. As β-lactamases podem ser categorizadas em quatro classes de acordo com a classificação de Ambler: as classes A, C e D são β-lactamases com serina no sítio ativo, enquanto a classe B, também conhecida como metalo-β-lactamases ou MBLs, possui sítio ativo dependente. Desde a introdução dos antibióticos β-lactâmicos na prática clínica generalizada, a gama de atividade das β-lactamases cresceu. As β-lactamases de espectro estendido de atividade (capazes de hidrolisar oximinocefalosporinas e monobactâmicos, mas não cefamicinas ou carbapenémicos), conhecidas como β-lactamases de espectro estendido ou ESBLs, surgiram em ambiente hospitalar na década de 1980 e tornaram-se mais comuns em ambientes comunitários na década de 1990 e início de 2000 associados à família CTX-M de ESBLs. Recentemente, β-lactamases com capacidade de hidrolisar antibióticos carbapenémicos mais penicilinas, cefalosporinas e agentes monobactâmicos (conhecidos como carbapenemases) têm aumentado em prevalência e se espalhado pelo mundo. Exemplos das carbapenemases mais prevalentes encontradas em *Enterobacteriaceae* são KPC (Classe A), as metalo β-lactamases IMP, VIM e NDM (Classe B) e enzimas OXA-48-like (Classe D).

Juntamente com informações clínicas e procedimentos complementares de diagnóstico, o uso do **NG-Test® CARBA-5** no laboratório fornece informações que podem apoiar escolhas terapêuticas antimicrobianas adequadas, tomada de decisões e intervenções imediatas no controle de infeções.

NG-Test® CARBA-5 é um ensaio imunocromatográfico múltiplo *in vitro* visual e rápido que detecta uma ou mais dos cinco tipos comuns de enzimas carbapenemases (KPC (K), tipo OXA-48 (O), IMP (I), VIM (V), NDM (N)) em colónias bacterianas. O tampão de extração líquido é usado como uma solução de lise celular quando misturado com colónias. Os anticorpos monoclonais que individualmente reconhecem cada uma das cinco carbapenemases são imobilizados numa membrana de nitrocelulose. Os anticorpos monoclonais livres estão presentes na placa conjugada e etiquetados com ouro coloidal. Após a adição de colónias misturadas com o tampão de extração à placa da amostra, a ação capilar da nitrocelulose extrai a amostra através de anticorpos móveis e anticorpos imóveis da faixa de teste. Os anticorpos de controlo imobilizado capturam quaisquer anticorpos móveis que passam rapidamente na placa de amostra e na nitrocelulose sem vincularem as outras linhas de teste. Um resultado positivo ocorre quando aparece uma linha vermelha na região de controlo (C) e uma ou mais linhas aparecem nas regiões de teste (K, O, V, I ou N) e indicam que a amostra contém um ou mais carbapenemases. Um resultado negativo ocorre apenas quando é observada a linha de controlo e indica que a amostra não contém nenhuma das 5 carbapenemases. Se a linha de controlo não aparecer, o resultado do teste é inválido.

REAGENTES E MATERIAL FORNECIDO

Cada kit contém:

- 20 cassetes de teste em bolsas de alumínio com dessecante
- 20 microtubos
- 20 pipetas descartáveis de 100µL
- 1 solução de tampão de extração numa garrafa frasco de plástico (4,5 mL)
- 1 Instruções de utilização

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Temporizador • Luvas de utilização única • Ansas de incoalação (1µL) • Vórtice

PRECAUÇÕES

- Teste de diagnóstico *In vitro*. Apenas para utilização profissional.
- Todas as operações devem ser efetuadas de acordo com as boas práticas laboratoriais.
- Não utilize após a data de validade.
- Os dispositivos devem permanecer nas bolsas seladas até serem utilizadas.
- Manuseie as amostras como se fossem potencialmente infecciosas.
- Após utilização, elimine o dispositivo num contentor de resíduos infecciosos.
- Não reutilize o dispositivo.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Armazena os dispositivos nas suas bolsas seladas a temperaturas entre 4 e 30 °C. Não congele. Os kits são seguros na sua embalagem intacta (saqueta com dessecante) até à data de validade indicada em cada kit.

CULTURA E AMOSTRAGEM

As amostras a serem testadas devem ser obtidas e manuseadas de acordo com os procedimentos microbiológicos estandardizados.

Meios de cultura validados:

Caldo Luria (LB) e LB ágar, Tríptico de soja agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar, UriSelect™ 4, ágar Columbia + 5 % sangue de cavalo, Columbia agar +5% de sangue de carneiro, ágar ChromID® ESBL, ChromID® CARBA SMART, ágar Drigalski (DRIG), CHROMagar™ mSuperCARBA™, TSA + 5 % sangue de ovelha, MacConkey, ágar HardyCHROM™ CRE.

PROCEDIMENTO DE FUNCIONAMENTO

1 / Utilize luvas de protecção.

2 / Coloque os componentes do kit a temperatura ambiente durante, pelo menos, 10 minutos.

Preparação da amostra

1 / Distribua 5 gotas (150µL) do tampão de extração num dos microtubos fornecidos no kit.
2 / De uma cultura sólida com base em agar, recolha uma ansa de 1µL tocando em 3 colónias com o anel e depois suspenda-o no microtubo que contém 150µL do tampão de extração.

3 / Tape o microtubo.

4 / Agite em vórtice para homogeneizar a mistura antes da utilização.

NOTA: As colónias viscosas /mucosas podem conduzir a problemas de migração, devido à sua elevada viscosidade. Quando inicia o teste a partir de colónias viscosas/mucosas, vortex por 3 minutos uma colónia no tampão de extração e deixe-a incubar por 10 minutos à temperatura ambiente antes de realizar o teste.

Realização do teste

1 / Abra a bolsa e retire o dispositivo. Assim que a abrir, utilize o teste imediatamente.

2/ Utilizando a pipeta fornecida, adicione 100µL da mistura preparada (a amostra deve alcançar a linha negra indicada na pipete para aspirar devidamente 100µL) na amostra bem etiquetada "S".

3/ Leia os resultados durante 15 minutos e interprete-os conforme indicado abaixo.

NOTA: Não interprete os resultados do teste após 20 minutos, pois eles podem estar causando resultados falsos positivos.

INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS



NEGATIVO

Resultado negativo

Se apenas uma linha vermelha aparecer na região de controle (C): a amostra não contém nenhuma das carbapenemases indicadas (ou um nível não detetável) e deve ser interpretada como um resultado negativo.



VIM POSITIVO

Resultado positivo

Se aparecer uma linha vermelha na região de controlo (C) e uma ou várias linhas aparecerem nas regiões de teste K, O, V, I, N: a amostra contém uma ou várias carbapenemases e deve ser interpretada como um resultado positivo.

NOTA: A intensidade da(s) linha(s) de teste vermelha(a) podem variar dependendo da concentração da carbapenemase presente na amostra. Uma linha fina deve ser considerada como resultado positivo.



INVÁLIDO

Resultado inválido

Se a linha de controlo (C) não aparecer, ou não estiver alinhada com a letra (C), o resultado do teste é inválido. Um volume de amostra insuficiente ou um procedimento incorreto são as razões mais prováveis para a falha da linha de controlo.

Podem ter ocorrido a deterioração do kit de teste. Repita o procedimento utilizando um novo teste. Se o problema persistir, não reutilize o kit e contacte o seu distribuidor.

CONTROLO DE QUALIDADE

Está incluído um controlo de qualidade interno no teste. Quando a linha de controlo se desenvolve, confirma que o volume da amostra foi suficiente e o procedimento foi correto.

LIMITAÇÕES

1/ Um resultado negativo não exclui a presença de organismos que produzem carbapenemase (exemplo: produtoras de SME, GES, IMI).

2/ Podem ocorrer falsos resultados negativos com múltiplas subculturas de bactérias isoladas sem qualquer pressão seletiva.

3/ Alguns falsos resultados negativos podem ocorrer com *Proteus mirabilis* testado apenas de ágar sangue.

4/ *Proteus spp.* tendem a apresentar crescimento de "swarming" em gelose de sangue, portanto, apenas a superfície do crescimento deve ser tocada com a ansa em 3 colónias diferentes.

5/ Este teste é um ensaio qualitativo e não produzirá qualquer resultado quantitativo.

6 / Este teste deve ser utilizado como uma ajuda para a rápida identificação de pacientes com uma resistência a antibióticos carbapenema. Os resultados obtidos devem ser confirmados com procedimentos de diagnóstico complementares ou alternativos.

7 / Um teste positivo ou negativo não rege a presença de outros mecanismos de resistência antibiótica.

DESEMPENHOS E CARACTERÍSTICAS

Limite de deteção:

O limite de deteção foi determinado utilizando enzimas recombinantes purificadas: KPC 600 pg/mL • OXA 300 pg/mL • VIM 300 pg/mL • IMP 200 pg/mL • NDM 150 pg/mL

Avaliação Clínica:

NG-Test® CARBA-5 foi avaliada no NRC (National Reference Center for Antibiotic Resistance, Kremlin-Bicêtre Hospital, Paris, França). 147 estirpes foram sujeitas a ensaios-cegos com teor β-lactamase caracterizado com WGS. Entre a coleção avaliada, apenas 2 variantes raras de D179Y KPC não foram detetadas (KPC-31 e KPC-33). Este D179Y afetou a atividade hidrolítica de carbapenema da enzima que não pode ser considerada uma carbapenemase, conduzindo também a resultado negativo por testes bioquímicos. A sensibilidade e especificidade do **NG-Test® CARBA-5** foram calculadas considerando as variantes KPC-31 e KPC-33 como resultados negativos.

Tabela 1: Resultados obtidos no NRC Kremlin Bicêtre¹¹

		WGS		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® CARBA-5	POSITIVO	119	0	119
	NEGATIVO	0	28	28
	TOTAL	119	28	147

SENSIBILIDADE	100%	CI 95% = 96,9 - 100%
ESPECIFICIDADE	100%	CI 95% = 87,9 - 100%

Suceptibilidade Analítica:

Grupo de organismo	Alvo	Variantes detetadas analiticamente e em validações 8; 11; 12
<i>Enterobacterales</i> *	KPC	2,3,4,5,6,7,12,14,28,39
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 27, 31
	IMP	1, 4, 6, 8, 10, 11, 14, 26, 47, 58
	NDM	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 5, 7, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

Sumário das variantes detetadas pelo NG-Test® CARBA 5 em publicações:










Grupo de organismo	Alvo	Variantes detetadas em publicações 8; 9; 10; 11; 12; 13
Enterobactéras*	KPC	2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 14, 19, 23, 28, 35, 39, 78, 79.
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 26, 27, 31, 39, 46, 51, 52, 54, 56, 58, 59
	IMP	1, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 22, 26, 47, 58, 61
	NDM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 19
Pseudomonas aeruginosa	KPC	1, 2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 4, 5, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

*Incluindo algum: *Citrobacter braakii*, *C. freundii*, *C. koseri*, *C. sedlakii*, *Enterobacter aerogenes*, *E. asburiae*, *E. cloacae*, *E. cloacae* complex, ***Escherichia coli***, *E. hermannii*, *Klebsiella aerogenes*, *K. variicola*, *K. ozaenae*, *K. oxytoca*, ***K. pneumoniae***, *Kluyvera ascorbate*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *P. rettgeri*, *Pantoea species*, *Providencia alcalifaciens*, *Raoultella ornithinolytica*, *Salmonella enterica*, *S. senftenberg*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *S. sonnei*, *Shewanella sp.*, *S.bicestrisii*, *Yersinia enterocolitica*...

BIBLIOGRAFIA

A bibliografia pode ser encontrada no final do documento.

SÍMBOLOS

 Conteúdo para 20 ensaios	 Data de validade	 Limite de temperatura
 Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 Não reutilize	 Consulte instruções de utilização
 Número de lote	 Referência de catálogo	 Fabricante

НАЗНАЧЕНИЕ

Экспресс-тест для определения карбапенемаз KPC, OXA, VIM, IMP и NDM в бактериальной колонии из культуры (**NG-Test® CARBA-5**) предназначен для быстрого качественного определения карбапенемаз KPC, OXA, VIM, IMP, NDM в бактериальной колонии грамотрицательных бактерий из культуры, полученной из клинического материала человека различных типов иммунохроматографическим методом.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Клиническая лабораторная диагностика.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ НАЗНАЧЕНИЕ

Вспомогательное средство в определении карбапенемаз KPC, OXA, VIM, IMP, NDM в бактериальной колонии грамотрицательных бактерий из культуры, полученной из клинического материала различных типов. Использование **NG-Test® CARBA-5** в лаборатории НАРЯДУ С клиническими данными и дополнительными диагностическими процедурами позволяет получить информацию, которая может помочь в выборе надлежащего противомикробного лечения, быстро принять решение и принять меры по борьбе с инфекцией.

ТИП АНАЛИЗИРУЕМОГО ОБРАЗЦА

Биологическим материалом для исследования являются виды клинического материала человека различных типов, предназначенных для посева с целью получения изолированных колоний такие как кровь, моча, фекалии (ректальные свябы), гной, раневое отделяемое, изъязвление кожи, биологические жидкости, которые можно высеять на агаризованные среды для последующего определения карбапенемаз KPC, OXA, VIM, IMP, NDM .

ЦЕЛЕВОЙ АНАЛИЗ

Целевым анализом для Изделия являются карбапенемазы KPC, OXA, VIM, IMP, NDM.

ПОПУЛЯЦИОННЫЕ, ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

Изделие предназначено для применения во всех регионах страны для всех слоев населения.

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛИ

Экспресс-тест для определения карбапенемаз KPC, OXA, VIM, IMP и NDM в бактериальной колонии из культуры (**NG-Test® CARBA-5**) (далее по тексту Изделие или **NG-Test® CARBA-5**) предназначено только для профессионального применения. Проведение анализа должно осуществляться квалифицированным персоналом – специалистами в области клинической лабораторной диагностики.

ПОКАЗАНИЯ, ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ, ПОБОЧНОЕ ДЕЙСТВИЕ

Показания. Изделие может быть использовано при подозрении на наличие карбапенемаз KPC, OXA, VIM, IMP, NDM в выделенной из образцов пациента чистой культуре микроорганизмов. Результат тестирования не должен использоваться в качестве единственного основания для диагностики.

Противопоказаний к использованию в рамках установленного назначения не имеет.

Побочные действия, связанные с применением Изделия, отсутствуют.

СВЕДЕНИЯ ОБ ИЗДЕЛИИ

- Изделие рассчитано на проведение 20 определений.
- Изделие выпускается в нестерильном виде.
- Изделие предназначено для одноразового использования, не требует стерилизации или дезинфекции, техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

СОСТАВ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

- 20 тест-кассет в алюминиевых пакетах с влагопоглотителем
- 20 пробирок типа Эппендорф
- 20 пипеток одноразовых с градуировкой на 100 мкл
- 1 раствор буферный для экстракции в пластиковом флаконе (4,5 мл)
- 1 инструкция по применению

Изделие упаковано в картонную коробку. Принадлежности отсутствуют.

Примечание: инструкция входит в комплект с набором и представлена на официальном сайте производителя.

ОПИСАНИЕ КОМПОНЕНТОВ ИЗДЕЛИЯ

Раствор буферный для экстракции состоит из трис-буферного раствора хлористоводородной кислоты, БСА (бычий сывороточный альбумин), хлорида натрия, полисорбата-20 (Твин 20), 3-[[3-холанидопропил] диметиламмоний]-1-пропансульфоната, азида натрия.

Тест-полоска содержит конъюгат коллоидного золота и 2 моноклональных анти-NDM антитела, 2 моноклональных анти-IMP антитела, 2 моноклональных анти-VIM антитела, 2 моноклональных анти-OXA антитела, 2 моноклональных анти-KPC антитела, стрептавидин, БСА-биотин, козы анти-мышинные антитела: КАМ.

Биологические материалы, входящие в состав компонентов Изделия, безопасны для человека. Лекарственные средства в медицинском Изделии отсутствуют.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

NG-Test®/CARBA-5 – это готовый к применению быстрый иммунохроматографический тест по определению KPC (K), OXA (O), VIM (V), IMP (I) и NDM (N) – карбапенемаз в бактериальной колонии из культуры. Для проведения анализа антибиотикоустойчивости с помощью **NG-Test® CARBA-5** необходимо взять суточную колонию с твердой агаризованной среды и обработать её экстракционным буфером. В ходе испытания образец помещают в ячейку кассеты. Образец мигрирует по подложке конъюгата и, в случае если ферменты KPC, OXA, VIM, IMP и NDM присутствуют в образце, происходит реакция антиген- антитело с соответствующими моноклональными антителами. Таким образом, комплекс движется под действием капиллярных сил через нитроцеллюлозную мембрану и взаимодействует с моноклональными антителами, иммобилизованными на тестовой зоне (Т).

Контрольная полоска (С) образуется за счёт связывания меченого стрептавидина и меченых моноклональных антител с BSA-биотином и поликлональными антимышинными антителами козы, иммобилизованными на мембране.

Если образец положителен на один или несколько ферментов, на тест-зоне/ax (Т) и контрольной/ых зоне/ax (С) появляются красные полоски. Если результат отрицательный, появляется только красная полоска в контрольной зоне (С).

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С ИЗДЕЛИЕМ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

Таймер • Одноразовые перчатки • Петля • Вortex

ПРОВЕДЕНИЕ ТЕСТИРОВАНИЯ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП

Для работы с NG-Test CARBA5 необходимо получить изолированную колонию на **Валидированной агаризованной среде:**

XROMarap™ мСунепКАРБА™, Агар Мюллер-Хинтона (МХ), URIselct™⁴ (УРИселект™⁴), Триптиказо-соевый агар (ТСА), Колумбийский агар с 5% лошадиной крови (СОН), Хромогенный агар Chromid ESBL (Chromid ESBL agar), Хромогенный агар Chromid CARBA smart (Chromid CARBA smart), Агар Дригальского (DRIG), Луриа бульон (ЛБ) и Луриа агар.

НОРМАТИВНОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ

Взятие, транспортировка, посев биологического материала производится в соответствии с МУ 4.2.2039-05 Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории.

Работа с микроорганизмами ведется в соответствии с требованиями СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», СанПин 2.1.3684-21, Методическими рекомендациями Минздрава РСФСР 19 декабря 1991 г. «Методы бактериологического исследования условно-патогенных микроорганизмов в клинической микробиологии», Инструкцией по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений, утв. Минздравом СССР 17 января 1991 года.

Специальные требования в отношении лабораторий, в которых должен проводиться анализ: помещения должны соответствовать ГОСТ Р 52905 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности, ГОСТ Р ИСО 15189-2015 Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности. Лаборатория должна быть оборудована шкафом с ламинарным потоком II класса микробиологической безопасности.

ОТБОР ОБРАЗЦОВ

Отбор проб производится в соответствии со стандартной процедурой:

По окончании времени культивирования (24 часа при 37°C) при выявлении изолированной культуры на поверхности плотного агара колонию аккуратно снимают с поверхности агара с помощью микробиологической петли и переносят в пробирку, где суспендируют в экстракционном буфере с целью гомогенизации полученной смеси до получения мутного раствора. Для оптимальной эффективности тестов настоятельно рекомендуется использовать свежие колонии.

ПРОВЕДЕНИЕ ТЕСТИРОВАНИЯ

1/ Надеть защитные перчатки.

2/ Выдержать компоненты набора при комнатной температуре не менее 10 минут.

Подготовка образца

1/ Внести 5 капель (150 мкл) экстракционного буфера в пробирку типа Эппендорф.

2/ Петлей отобрать колонию культуры с твердого агара и поместить в пробирку с буфером.

3/ Закрыть пробирку крышкой.

4/ Тщательно перемешать с помощью вортекса.

ПРИМЕЧАНИЕ: Слизистые колонии могут вызывать проблемы с миграцией из-за их высокой вязкости. Колонии в буфере для экстракции перемешайте с помощью центрифуги в течение 3 минут и инкубируйте в течение 10 минут при комнатной температуре перед выполнением теста.

Проведение теста

1/ Вскрыть индивидуальную упаковку теста, достать изделие. Тест необходимо использовать сразу же после вскрытия упаковки.

2/ Пипеткой отобрать 100 мкл суспензии, подготовленной на предыдущем этапе (на пипетке имеется отметка 100 мкл). Внести суспензию в лунку для образца на тест-кассете; лунка помечена буквой "S".

3/ Через 15 мин считать результаты.

ВАЖНО: не интерпретировать результаты, если с начала выполнения теста прошло более 15 минут. В этом случае можно получить ложноположительный результат.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Отрицательный

Отрицательный результат

Одна красная полоска в зоне контроля (С): образец не содержит карбапенемаз или количество данного фермента незначительно, что интерпретируется как отрицательный результат.



Положительный

Положительный результат

Красная полоска в зоне контроля (С) и одна или более полосок в тестовой зоне (Т): образец содержит один или более тип карбапенемаз. Результат интерпретируется как положительный.

ПРИМЕЧАНИЕ: интенсивность цвета красной полоски варьирует в зависимости от концентрации карбапенемаз в образце. Слабо окрашенная полоска интерпретируется как положительный результат.



Недействительный

Недостоверный результат

При отсутствии контрольной полоски (С), результат интерпретируется как недостаточный. Наиболее вероятные причины появления недостаточного результата – малое количество образца или некорректная подготовка к исследованию. Также возможна деградация компонентов теста. Повторите исследование на новом тесте. Если при исследовании на другом тесте также получается недостаточный результат, не используйте тесты данного набора и свяжитесь с уполномоченным представителем компании в вашем регионе.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ

Тест для диагностики In vitro. Только для профессионального использования.

- Все операции должны проводиться в соответствии с надлежащей лабораторной практикой.
- Не использовать после истечения срока годности.
- Изделия должны храниться нераспакованными, в индивидуальных пакетах, до момента использования.
- Обращаться со всеми образцами, как с потенциально инфекционными.
- После использования выбросить изделие в контейнер для инфекционных отходов.
- Не использовать изделие повторно.
- Отрицательный результат не исключает присутствия организмов продуцирующих карбапенемазы (примеры не определяемых в тесте карбапенемаз: SME, GES, IMI).
- При тестировании *Proteus mirabilis* из кровяного агара могут наблюдаться ложноотрицательные результаты.
- *Proteus spp.* имеют тенденцию к роению на кровяном агаре, таким образом, при отборе колонии бактериологической петлей необходимо касаться только поверхности роения в 3 разных точках.

- **NG-Test® CARBA-5** является качественным и не предназначен для получения количественного результата.
- **NG-Test® CARBA-5** предназначен для первичной стратификации пациентов. Полученные результаты должны быть подтверждены на культуре, выращенной на соответствующей агаризованной среде, а также посредством оценки минимальной ингибирующей концентрации (МИК).
- Положительный или отрицательный результат теста не исключает наличия других механизмов антибиотикорезистентности.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Тест имеет встроенный внутренний контроль достоверности результата. Появление полоски в контрольной зоне (C) подтверждает корректность проводимого исследования.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ, ТЕХНИЧЕСКИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗДЕЛИЯ

Предел обнаружения и предел количественного определения:

Оценку предела обнаружения для **NG-Test® CARBA-5** проводили на 2 положительных образцах для каждого фермента и 1 отрицательном образце. Исследование проводилось на 3 разных партиях теста по 20 повтора на каждую концентрацию.

Предел детекции определен с использованием очищенных рекомбинантных ферментов:

KPC 600 пг/мл • OXA 300 пг/мл • VIM 300 пг/мл • IMP 200 пг/мл • NDM 150 пг/мл

Эффект высокой дозы («хук»-эффект):

Хук-эффект – эффект высокой дозы – определяется как максимальная концентрация фермента, для которого не наблюдается снижения сигнала при высокой концентрации аналита. Хук-эффект определялся при 4х уровнях концентрации ≥ 100 пг/мл. При 100 пг/мл наблюдается максимальный уровень сигнала.

Начиная от 1 мкг/мл и выше, интенсивность тестовой линии снижается для каждого фермента, однако результаты при этом остаются положительными. При концентрациях ферментов KPC, OXA, VIM, IMP и NDM до 100 пг/мл «хук» - эффект не возникает.

Прецизионность (воспроизводимость):

Исследование прецизионности проводилось на 10 концентрациях по каждому ферменту: Каждый уровень концентрации испытывался в 5 параллельных анализах на повторяемость результатов и воспроизводимость в разных сериях (3 серии), в 3 параллельных анализах на воспроизводимость разными операторами (2 оператора) и в 3 параллельных анализах на воспроизводимость в разные дни (2 дня). Использовались 3 партии тест-систем **NG-Test® CARBA-5**. Всего в данном исследовании было выполнено 450 тестов. По каждой тестовой линии результаты теста **NG-Test® CARBA-5** считаются повторяемыми и воспроизводимыми, если 100% выполненных тестов показали положительный результат при концентрации исследуемого фермента > порогового значения.

- По тестовой линии NDM результат теста считается воспроизводимым и повторяемым в пределах от 0,750 пг/мл до 100 пг/мл.
- По тестовой линии IMP результат теста считается воспроизводимым и повторяемым в пределах от 0,100 пг/мл до 100 пг/мл.
- По тестовой линии VIM результат теста считается воспроизводимым и повторяемым в пределах от 0,150 пг/мл до 100 пг/мл.
- По тестовой линии OXA результат теста считается воспроизводимым и повторяемым в пределах от 0,150 пг/мл до 100 пг/мл.

- По тестовой линии KPC результат теста считается воспроизводимым и повторяемым в пределах от 0,300 пг/мл до 100 пг/мл.

Исследование перекрестных реакций:

Анализ вероятности возникновения перекрестных реакций производитель проводил на следующих средах:

XROMagar™ мСуперКАРБА™, Агар Мюллер-Хинтона (MX), URIselct™4 (УРИселект™4), Триптиказо-соевый агар (TCA), Колумбийский агар с 5% лошадиной крови (СОН), Хромогенный агар Chromid ESBL (Chromid ESBL arap), Хромогенный агар Chromid CARBA smart (Chromid CARBA smart), Агар Дригальского (DRIG), Луриа бульон (ЛБ) и Луриа агар.

С данными средами перекрестных реакций не выявлено. Сделан вывод о том, что выбор среды не влияет на тест.

Данные клинических испытаний Изделия, проведенных на территории Российской Федерации представлены в таблице ниже:

По результатам исследований чувствительность **NG-Test® CARBA-5**

Положительные образцы	ЛОТ1	ЛОТ2	Всего	% положительных проб
NDM	8/8	8/8	16/16	100%
IMP	8/8	8/8	16/16	100%
VIM	8/8	8/8	16/16	100%
OXA	8/8	8/8	16/16	100%
KPC	8/8	8/8	16/16	100%

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ	100%	CI 95% = 96.1 - 98.8%
СПЕЦИФИЧНОСТЬ	100%	CI 95% = 96.1 - 98.8%

Полученные результаты подтвердили данные производителя, позволяют сделать вывод, что выбор среды не влияет на результаты теста.

Технические характеристики Изделия:

ПОКАЗАТЕЛЬ	ОПИСАНИЕ
Внешний вид	Иммунохроматографический анализ в тест-полосках, показывающий наличие ферментов KPC, OXA, VIM, IMP, NDM в колониях бактерий. Зона считывания состоит из тестовой линии и контрольной линии. Тест является тестом латерально-проточного типа.
Геометрические размеры	59 x 5,1 мм
Детектируемый аналит	KPC, OXA, VIM, IMP, NDM
Время считывания	15 минут

Аналитическая специфичность:

Ретроспективная оценка проводилась в Национальном референсном центре NRC на 147 изолятах, наличие карбапенемаз в которых подтверждено ПЦР. Оценка проводилась с целью идентификации вариантов, определяемых **NG-Test® CARBA-5**:

ТИП	Варианты, обнаруженные во время проверки
NDM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 19
KPC	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 14, 23, 28, 39
IMP	1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 22, 26, 29, 31, 39, 37, 46, 47, 56, 58, 61, 63, 71, 79
VIM	1, 2, 4, 5, 6, 19, 23, 26, 27, 31, 39, 46, 51, 52, 54, 56, 58, 59
OXA-48 подобный	162, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 436, 484, 515, 517, 519, 535, 793

Некарбапенемазы (перекрестная реактивность) OXA-163 и OXA-405 (OXA-48-подобные оксациллиназы расширенного спектра с очень слабой карбапенемазной активностью). Примечание: представленный выше перечень может не быть исчерпывающим.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗДЕЛИЯ

Диагностическая эффективность:

Производителем изучалась клиническая эффективность (специфичность) **NG-Test CARBA 5** в лабораториях:

Данные клинических испытаний полученные в **Кремлен-Бисетр – CNR**:

		WGS (полногеномное секвенирование)		
		положительный	отрицательный	ИТОГО
NG-TEST® CARBA-5	положительный	119	0	119
	отрицательный	0	28	28
	ИТОГО	119	28	147

чувствительность	100%	CI 95% = 96.9 - 100%
специфичность	100%	CI 95% = 87.9 - 100%

Данные клинических испытаний Изделия, проведенных на территории Российской Федерации представлены в таблице ниже:

		Количество совпадающих образцов	ВСЕГО	Рабочие характеристики	95% ДИ
		Рабочие характеристики набора реагентов NG-TEST® CARBA-5	чувствительность	978	985
специфичность	978		985	99.7%	[99.1%; 99.9%]

чувствительность	97.3%	CI 95% = 93.9 - 98.8%
специфичность	99.7%	CI 95% = 99.1 - 99.9%

Эти результаты соответствуют документу "Общие технические спецификации для медицинских изделий для диагностики *in vitro*", а также ожидаемым клиническим рабочим характеристикам.

УСЛОВИЯ ПРИМЕНЕНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

Условия хранения и транспортировки

Хранить изделие необходимо в оригинальной упаковке, защищенной от прямого солнечного света, в сухом, прохладном и хорошо проветриваемом помещении, вдали от продуктов питания и напитков, при температуре плюс (4 – 30°C). Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, в упаковке производителя при температуре плюс (4 – 30°C). Вибрация при транспортировке на потребительские качества Изделия не влияет. Длительную транспортировку рекомендуется осуществлять при температуре от +4 до +30°C, возможно кратковременное нахождение в температурном диапазоне от 0 до +45°C.

ЗАМОРАЖИВАНИЕ НЕ ДОПУСКАЕТСЯ

Условия эксплуатации

Рекомендуется выполнять процедуру тестирования сразу же после вскрытия первичной упаковки (пакетика-саше из алюминиевой фольги) или не позднее 7 часов после вскрытия. Раствор буферный для экстракции после первого вскрытия хранить при температуре (4 – 30) °C в течение срока годности набора. Срок годности Изделия – 24 месяца. Компоненты набора сохраняют стабильность до даты истечения срока годности, напечатанной на индивидуальной упаковке.

ПОРЯДОК УТИЛИЗАЦИИ ИЛИ УНИЧТОЖЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

Утилизация медицинского изделия должна проводиться согласно действующему законодательству. При работе с Изделием в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемиологических (профилактических) мер». Исползованные Изделия относятся к классу Б. Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, и неиспользованные реактивы относятся к классу А. Упаковка (коробка) относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами. Отходы следует утилизировать через организации, имеющие лицензию на этот вид деятельности.

ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕМ СТАНДАРТОВ

NF EN 13612: 2002; EN 13612: 2002; NF EN 13641: 2002; EN 13641: 2002; NF EN ISO 14971: 2013; EN ISO 14971: 2012; NF EN ISO 18113-1: 2012; EN ISO 18113-1: 2012; NF EN ISO 18113-2: 2012; EN ISO 18113-2: 2012; NF EN 62366-1: 2015; EN 62366-1: 2015; NF EN ISO 13485: 2016; EN ISO 13485: 2016; NF EN ISO 15223-1:2017; EN ISO 15223-1:2016; NF EN ISO 23640: 2015; EN ISO 23640: 2015

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует стабильность медицинского изделия до окончания срока годности при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, указанных в инструкции.

Производитель гарантирует безопасность медицинского изделия, отсутствие недопустимого риска причинения вреда жизни, здоровью человека и

окружающей среде при использовании набора реагентов по назначению в условиях, предусмотренных производителем.

БИБЛИОГРАФИЯ

Библиографию можно найти в конце документа.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ



Содержимого достаточно для проведения 20 количества тестов



Использовать до



Запрет на повторное применение



Температурный диапазон (для хранения изделия)



Медицинское устройство для диагностики in vitro



Номер по каталогу



Номер партии



знак CE (знаксоответствия основным требованиям директив ЕС и гармонизированным стандартам Европейского союза)



Обратитесь к инструкции по применению



Производитель

Производитель: НГ Биотех (NG Biotech)

Адрес: Ателье Реле Ле Тремплин Парк д'Акт. де Курбутон Сект1
Гипри 35480 Гипри-Мессак, Франция

Уполномоченный представитель производителя: Общество с

ограниченной ответственностью «ГЕМ» (ООО «ГЕМ»)

Адрес: 127083, Россия, г. Москва, ул. 8 Марта, д. 1, стр. 12, этаж 3,
помещение XXV – комната 11

Тел.: 8 (495)612-43-12, 8 (495)613-86-63

ÚVOD

NG-Test® CARBA-5 je rýchlym in vitro diagnostickým stanovením, ktoré je určené iba pre profesionálne použitie. Ide o vizuálny multiplexový imunochromatografický kvalitatívny test (s laterálnym prietokom) na detekciu a diferenciáciu piatich najbežnejších rodov karbapenemáz (KPC, OXA-48-like, VIM, IMP a NDM) z karbapenemáz produkujúcich necitlivé čisté bakteriálne kolónie *Enterobacterales* (vrátane *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae*) a *Pseudomonas aeruginosa* v zdravotníckych zariadeniach.

SÚHRN A ZÁKLADNÉ INFORMÁCIE

β-laktámy sú antibiotikami prvej línie na liečbu infekcií spôsobených enterobaktériami; avšak ich účinnosť bola spochybnená produkciou bakteriálnych enzýmov, známych ako β-laktamázy, ktoré hydrolyzujú β-laktámový kruh a inaktivujú antibiotikum. β-laktamázy možno kategorizovať do štyroch tried podľa Amblerovej klasifikácie: triedy A, C a D sú β-laktamázy so serínom na aktívnom mieste, zatiaľ čo trieda B, tiež známa ako metalo-β-laktamázy alebo MBL, má zinok- dependentné aktívne miesto. Od zavedenia β-laktámových antibiotík do širokej klinickej praxe rozsah aktivity β-laktamázy vzrástol. β-laktamázy s rozšíreným spektrom aktivity (schopné hydrolyzovať oxymino-cefalosporíny a monobaktámy, ale nie cefamycíny alebo karbapenémy), známe ako široko spektrálne β-laktamázy alebo ESBL, sa objavili v nemocničnom prostredí v osemdesiatych rokoch a stali sa bežnejšími v komunitných prostrediach v 90. rokoch a začiatkom 21. storočia v spojení s CTX-M rodom ESBL. V poslednej dobe sa prevalencia β-laktamázy so schopnosťou hydrolyzovať karbapenémové antibiotiká plus penicilíny, cefalosporíny a monobaktámové agenty (známe ako karbapenemázy) zvyšuje a rozšírila sa po celom svete. Príklady najrozšírejších karbapenemáz, nachádzajúcich sa v enterobaktériách, sú KPC (trieda A), metalo β-laktamázy IMP, VIM a NDM (trieda B) a enzýmy OXA-48-like (trieda D).

Použitie testu **NG-Test® CARBA-5** v laboratóriu spolu s informáciami o klinickom stave a komplementárnymi diagnostickými postupmi, poskytuje informácie, ktoré môžu podporiť správny výber antibiotickej liečby, včasný výber opatrení na kontrolu infekcie a ich následnú implementáciu.

NG-Test® CARBA-5 je imunochromatografická rýchla a vizuálna viacnásobná analýza in vitro, ktorá deteguje jeden alebo viaceré z piatich bežných druhov karbapenemázových enzýmov (KPC (K), typ OXA-48 (O), IMP (I), VIM (V), NDM (N)) v kolóniách baktérií. Tekutý extrakčný pufr sa používa ako bunkový lyzačný roztok, keď sa zmieša s kolóniami. Monoklonálne protilátky, ktoré jednotlivito rozpoznávajú každú z piatich karbapenemáz, sú na nitrocelulózevej membráne imobilizované. Volné monoklonálne protilátky sa nachádzajú na konjugáčnej podložke a sú označené koloidálnym zlatom. Po pridaní kolónii zmiešaných s extrakčným pufrum na podložku so vzorkou, kapilárna akcia nitrocelulózy vedie vzorku cez mobilné a imobilné protilátky na testovacom pružku. Imobilizované kontrolné protilátky zachytia všetky mobilné protilátky, ktoré prechádzajú podložkou so vzorkou a nitrocelulózu bez naviazania sa na ostatné testovacie čiary. Pozitívny výsledok nastane, keď sa jedna červená čiara objaví v kontrolnej oblasti (C) a jedna alebo viac čiar v testovacích oblastiach (K, O, V, I alebo N). To naznačuje, že vzorka obsahuje jednu alebo viac karbapenemáz. Negatívny výsledok nastane, keď sa zobrazí iba kontrolná čiara. To naznačuje, že vzorka neobsahuje žiadnu z 5 karbapenemáz. Ak sa kontrolná čiara (C) neobjaví, výsledok testu je neplatný.

DODANÉ ČINIDLÁ A MATERIÁLY

Každá súprava obsahuje:

- 20 testových kaziet v hliníkových vreckách s desikantom
- 20 mikroskúmaviek
- 20 jednorazových 100µL pipiet

- 1 roztok extrakčného pufru v plastovej fľaške (4,5 mL)
- 1 návod na použitie

MATERIÁL POTREBNÝ, ALE NIE JE SÚČASŤOU SÚPRAVY

stopky • jednorazové rukavice • Inokulačné očko (1µL) • trepačka

UPOZORNENIA

- Diagnostický test *In vitro*. Len na profesionálne použitie.
- Všetky operácie musia byť vykonané v súlade so správnou laboratórnou prácou.
- Nepoužívajte po dátume expirácie.
- Kazeta musí až do použitia zostať uzavretá v obale.
- So vzorkami zaobchádzajte ako s potenciálne infekčnými.
- Po použití kazetu zlikvidujte ako infekčný odpad.
- Kazetu nepoužite opakovane.

USKLADNENIE A STABILITA

Testovacie kazety skladujte v neporušenom obale medzi 4 a 30 °C. Nezamrazujte. Súprava je stabilná do dátumu expirácie (v obale s desikantom), ktorý je uvedený na obale súpravy.

KULTIVÁCIA A VZORKOVANIE

Vzorky na testovanie sa získajú podľa štandardných mikrobiologických postupov.

Overené kultivačné médiá:

Luria Broth (LB) a LB agar, Tryptikáza sojový agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar, UriSelect™ 4, Columbia agar + 5 % konskej krvi, Columbia agar + 5 % ovčej krvi, ChromID® ESBL agar, ChromID® CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar, CHROMagar™ SuperCARBA™, TSA + 5 % ovčej krvi, MacConkey, HardyCHROM™ CRE agar.

PRACOVNÝ POSTUP

1 / Dajte si jednorazové rukavíc.

2 / Nechajte súpravu vytemperovať pri izbovej teplote aspoň 10 minút.

Príprava vzorky

1 / Do jednej z mikroskúmaviek zo súpravy nakvapkajte 5 kvapiek alebo napipetujte 150 µl extrakčného pufru.

2 / Z kultivácie na pevnom agare naplňte 1µL očko 3 kolóniami dotykom (nie nabratím) a potom tieto suspendujte v mikroskúmavke obsahujúcej 150µL extrakčného pufru.

3 / Zavrite mikroskúmavku.

4 / Pred použitím zmes pre homogenizáciu vortexujte.

POZNÁMKA: Viskózne/mukózne kolónie môžu viesť k problému s migráciou kvôli ich vysokej viskozite. Ak začínate s viskóznymi/mukóznymi kolóniami, pred vykonaním testu kolóniu vortexujte 3 minúty v extrakčnom pufré a nechajte ju inkubovať 10 minút pri izbovej teplote.

Vykvanie testu

1 / Otvorte obal a vyberte kazetu. Po otvorení ihneď vykonajte test.

2 / Napipetujte 100µL pripravenej zmesi do jamky pre vzorku, ktorá je označená „S“ (ak použijete pipetu zo súpravy, vzorka musí byť nabratá po čiernej čiarku, ktorá indikuje, že pipeta nasala presne 100µL).

3 / Výsledok odčítajte po 15 minútach a interpretujte ho podľa postupu.

POZNÁMKA: Neinterpretujte výsledok po 20 minútach, keďže potom môžete získať falošne pozitívny výsledok.

INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV



NEGATÍVNY

Negatívny výsledok

Pokiaľ sa objaví iba jedna červená čiara v kontrolnej oblasti (C): vzorka neobsahuje žiadnu z indikovaných karbapenemáz (alebo iba v nedetekovateľnom množstve) a výsledok je interpretovaný ako negatívny.



VIM POZITÍVNY

Požítvny výsledok

Pokiaľ sa v kontrolnej oblasti (C) objaví jedna červená čiara a jedna alebo niekoľko čiar v testovacej oblasti K, O, V, I, N: vzorka obsahuje jednu alebo viac karbapenemáz a výsledok je interpretovaný ako pozitívny.

POZNÁMKA: Intenzita červenej testovacej čiary (čiar) sa môže líšiť v závislosti od koncentrácie karbapenemáz prítomných vo vzorke. Slabú čiaru treba považovať za pozitívny výsledok.



NEPLATNÝ

Neplatný výsledok

Pokiaľ sa v kontrolnej oblasti (C) neobjaví červená čiara, alebo nie je označená písmenom (C), výsledok testu je neplatný. Najčastejším dôvodom býva nedostatočný objem vzorky alebo nedodržaný pracovný postup.

Tiež môže byť poškodená testovacia súprava. Test zopakujte s novou kazetou. Pokiaľ problém pretrváva, súpravu už nepoužívajte a kontaktujte distribútora.

KONTROLA KVALITY

V teste je zahrnutá interná kontrola kvality. Pokiaľ sa objaví kontrolná čiara, potvrdzuje táto, že bolo použité dostatočné množstvo vzorky a že pracovný postup bol dodržaný.

OBMEDZENIA

- 1/ Negatívny výsledok nevylučuje prítomnosť organizmov produkujúcich karbapenemázu (príklad: produkujúce SME, GES, IMI).
- 2/ Falošne negatívne výsledky sa môžu vyskytnúť pri viacerých subkultúrach bakteriálneho izolátu bez akéhokoľvek selektívneho tlaku.
- 3 / Niektoré falošne negatívne výsledky sa môžu vyskytnúť pri testovaní *Proteus mirabilis* len z krvného agaru.
- 4 / *Proteus* spp. majú tendenciu vykazovať hŕbný rast na krvnom agare, preto sa dotknite očkom iba povrchu na 3 rôznych kolóniach.
- 5 / Tento test je kvalitatívnou analýzou a neprinesie žiadny kvantitatívny výsledok.
- 6 / Tento test by sa mal použiť ako pomôcka na rýchlu identifikáciu pacientových infekcií baktériami s rezistenciou na karbapenémové antibiotiká. Získané výsledky musia byť potvrdené alternatívnymi alebo doplnkovými diagnostickými postupmi.
- 7 / Pozitívny alebo negatívny test nevylučuje prítomnosť iných mechanizmov rezistencie na antibiotiká.

VÝKONY A VLASTNOSTI

Detekčný limit:

Detekčný limit bol stanovený purifikovanými rekombinantnými enzýmami:
KPC 600 pg/mL • OXA 300 pg/mL • VIM 300 pg/mL • IMP 200 pg/mL • NDM 150 pg/mL

Klinické hodnotenie:

NG-Test® CARBA-5 byl hodnocen v NRC (Národní referenční středisko pro antibiotickou rezistenci, Nemocnice Kremlin-Bicêtre, Paříž, Francie). 147 kmenů bylo zaslepeno a testováno na obsah -laktázy charakterizované WGS. V hodnoceném souboru nebyly detekovány pouze 2 vzácné varianty D179Y KPC (KPC-31 a KPC-33). Tato D179Y zhoršila hydrolytickou aktivitu karbapenemu u enzymu, který nelze považovat za karbapenemázu, což vedlo k negativním výsledkům biochemických testů. Citlivost a specifita **NG-Test® CARBA-5** byla vypočtena tak, že byly varianty KPC-31 a KPC-33 považovány za negativní výsledky.

Tabuľka 1: Výsledky získané v NRC Kremlin Bicêtre¹¹

		WGS		
		POZITÍVNE	NEGATÍVNE	CELKOM
NG•TEST® CARBA-5	POZITÍVNE	119	0	119
	NEGATÍVNE	0	28	28
	CELKOM	119	28	147

CITLIVOSŤ	100%	CI 95% = 96.9 - 100%
ŠPECIFICKOSŤ	100%	CI 95% = 87.9 - 100%

Analytická špecifická:

Skupina organizmu	Cieľ	Varianty zistené analyticky a vo validáciách 8; 11; 12
<i>Enterobaktérie*</i>	KPC	2,3,4,5,6,7,12,14,28,39
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 27, 31
	IMP	1, 4, 6, 8, 10, 11, 14, 26, 47, 58
	NDM	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KPC	2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 5, 7, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

Súhrn variantov zistených testom NG-Test® CARBA 5 v publikáciách:

Skupina organizmu	Cieľ	Varianty detekované v publikáciách 8; 9; 10; 11; 12; 13
Enterobaktérie*	KPC	2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 14, 19, 23, 28, 35, 39, 78, 79.
	OXA-48-like	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 370, 405, 436, 484, 505, 515, 517, 519, 535, 793
	VIM	1, 2, 4, 5, 6, 11, 19, 23, 26, 27, 31, 39, 46, 51, 52, 54, 56, 58, 59
	IMP	1, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 22, 26, 47, 58, 61
	NDM	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 19
Pseudomonas aeruginosa	KPC	1, 2, 3, 5
	OXA-48-like	181
	VIM	2, 5, 11
	IMP	1, 2, 4, 5, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 26, 29, 31, 37, 39, 46, 56, 63, 71, 79
	NDM	1

*Vrátane niektorých: *Citrobacter braakii*, *C. freundii*, *C. koseri*, *C. sedlakii*, *Enterobacter aerogenes*, *E. asburiae*, *E. cloacae*, *E. cloacae* complex, ***Escherichia coli***, *E. hermannii*, *Klebsiella aerogenes*, *K. variicola*, *K. ozaenae*, *K. oxytoca*, ***K. pneumoniae***, *Kluyvera ascorbate*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *P. rettgeri*, *Pantoea species*, *Providencia alcalifaciens*, *Raoultella ornithinolytica*, *Salmonella enterica*, *S. sentenberga*, *Serratia marcescens*, *Shigella boydii*, *S. sonnei*, *Shewanella sp.*, *S.bicestrii*, *Yersinia enterocolitica*...

LITERATÚRA

Bibliografia sa nachádza na konci dokumentu.

SYMBOLY



Obsah pre
20 analýz



Dátum
expirácie



30°C
Teplotný limit



Diagnostická
zdravotnícka
pomôcka *in vitro*



Nepoužívajte
opakovane



Pozrite si návod
na použitie



Číslo šarže



Katalógový
odkaz



Výrobca

**BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAPHY / BIBLIOGRAFIE
/ LITERATUR / ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ / REFERENCIAS
/ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙЈА / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFIA
/ СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / LITERATŪRA**

1. Yohei D et al. Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Semin Respir Crit Care Med.* 2015; 36(1): 74–84.
2. Nordmann P et al. Rapid Detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerging Infectious Diseases.* 2012; 18(9).
3. Bush K et al. Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2010; 54(3):969-976.
4. Nordmann P et al. Carbapenemases in enterobacteriaceae. *Archives de Pédiatrie.* 2010;17:5154-S162.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. Boutal H et al. 2018. 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.*
9. Baeza LL, et al. A, Comparison of five methods for detection of carbapenemases in Entérobactéries with proposal of a new algorithm. *Clinical Microbiology and Infection.*
10. Hopkins KL, Meunier D, Naas T, Volland H, Woodford N. 2018. Evaluation of the NG-Test® CARBA-5 multiplex immunochromatographic assay for the detection of KPC, OXA-48-like, NDM, VIM and IMP carbapenemases. *J Antimicrob Chemother* 73:3523- 3526.
11. Volland H. et al. Improvement of the immunochromatographic NG-Test® CARBA-5 assay for the detection of IMP-variants previously undetected Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2019
12. Klavins A et al. Evaluation of NG-Test® CARBA-5 with Carbapenemase producing organisms and non-carbapenemase producing organisms. *CPHM 991. ASM Microbe* 2019-Chicago.
13. Hazim O. et al. Comparative Evaluation of Five Assays for Detection of Carbapenemases with a Proposed Scheme for Their Precise Application, *The Journal of Molecular Diagnostics* 2020; 22 (9)

For products sold in Australia:

Distributor: Cell biosciences
Pty Ltd
PO Box 243, Heidelberg, VIC 3084
Fax: 03 8678 3956
Mobile: 0394 167 177
Web: www.cellbiosciences.com.au

Note: any serious incident that occurs in
relation to the device should be reported
to the manufacturer and to the
Therapeutic Goods Agency.

TGA:
TGA, PO Box 100, Woden ACT 2606,
Australia.
Website: <https://www.tga.gov.au/>
Email: info@tga.gov.au
Fax: 02 6203 1605