Prueba NG CARBA 5

Prueba rápida para la detección de carbapenemasas KPC, OXA-48-like, VIM, IMP y NDM en una colonia bacteriana de cultivo Solo para uso diagnóstico in vitro profesional

Ref: ENO022CAR / Rev: 200128 / ES

Introducción

NG-Test CARBA 5 es un ensayo inmunocromatográfico multiplex visual y rápido in vitro para la detección cualitativa y la diferenciación de cinco carbapenemasas comunes (KPC, OXA-48-like, VIM, IMP y NDM) a partir de colonias bacterianas puras no sensibles a carbapenemas. Es un ensayo de diagnóstico in vitro, solo para uso profesional, que ayuda a la identificación rápida y al control de infecciones en la detección de bacterias productoras de carbapenemasas. ***Enterobacteriaceae*** (incluido ***Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae***) y ***Pseudomonas aeruginosa*** en entornos de atención sanitaria.

Resumen y principio

Las β-lactamasas son antibióticos de primera línea para el tratamiento de infecciones causadas por Enterobacteriaceae. Sin embargo, desde el inicio de su uso masivo en la década de 1940, su eficacia se ha visto cuestionada por la producción de enzimas que las inactivan: las β-lactamasas. Entre ellas se encuentran las carbapenemasas, que hidrolizan los antibióticos carbapenémicos. Antes de la década de 1940, la mayor parte de la resistencia a los antibióticos estaba asociada a la producción de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) pertenecientes a las clases A, B, C y D de la clasificación de Ambler. Desde entonces, los estudios han demostrado un aumento en la producción de carbapenemasas dentro de la familia Enterobacteriaceae. Entre estas carbapenemasas, la β-lactamasa KPC (Clase A) se ha extendido por todo el mundo en la década de 2000. Además, también se han expandido las metalo β- lactamas (MBL) de tipo IMP, VIM y NDM (Clase B) así como OXA-48 (Clase D).[1,3] Estas carbapenemasas se detectan principalmente en entornos hospitalarios y son responsables de la mayoría de las infecciones nosocomiales, planteando importantes problemas de salud mundial ya que su presencia puede ser difícil de detectar.

NG-Test CARBA 5 es un ensayo inmunocromatográfico múltiple visual y rápido in vitro que detecta uno o más de los cinco tipos comunes de enzimas carbapenemasas (KPC (K), similar a OXA-48 (O), IMP (I), VIM (V), NDM (N)) en colonias bacterianas. El tampón de extracción líquido se utiliza como solución de lisis celular cuando se mezcla con colonias. Los anticuerpos monoclonales que reconocen individualmente cada una de las cinco carbapenemasas están inmovilizados en una membrana de nitrocelulosa. Los anticuerpos monoclonales libres están presentes en la almohadilla conjugada y marcados con oro coloidal. Tras la adición de colonias mezcladas con tampón de extracción a la almohadilla de muestra, la acción capilar de la nitrocelulosa arrastra la muestra a través de los anticuerpos móviles y los anticuerpos inmóviles en la tira de prueba. Los anticuerpos de control inmovilizados capturan cualquier anticuerpo móvil que pase a través de la almohadilla de muestra y la nitrocelulosa sin unirse a otras líneas de prueba. Un resultado positivo se produce cuando aparece una línea roja en la región de control (C) y una o más líneas aparecen en las regiones de prueba (K, O, V, I o N) e indica que la muestra contiene una o más carbapenemasas. Un resultado negativo se produce cuando solo se observa 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 suministrados

Cada kit contiene:

- 20 casetes de prueba en bolsas de aluminio con desecante
- 20 tubos Eppendorf
- 20 pipetas desechables de 100 µL
- 1 Solución tampón de extracción en frasco de plástico (4,5 mL) 1
- Instrucciones de uso

Materiales necesarios pero no suministrados

- Minutero
- Guantes de un solo uso
- Bucle
- Vórtice

Precauciones

- *In vitro* Prueba diagnóstica. Solo para uso profesional..
- Todas las operaciones deben realizarse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Los dispositivos deben permanecer en las bolsas selladas hasta su uso.
- Manipule las muestras como si fueran potencialmente infecciosas. Después de
- su uso, deseche el dispositivo en un recipiente para residuos infecciosos. No
- reutilice el dispositivo.

Almacenamiento y estabilidad

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

Cultivo y muestreo

Las muestras a analizar se obtendrán y manipularán de acuerdo con los procedimientos de microbiología estandarizados.

Medios de cultivo validados

Caldo Luria (LB) y agar LB, agar Trypticase soja (TSA), agar Mueller Hinton (MH), UriSelect™ 4, agar Columbia + 5 % sangre de caballo, ChromID® Agar ESBL, ChromID®CARBA SMART, agar Drigalski (DRIG), CHROMagar™ mSuperCARBA™, TSA + 5 % sangre de oveja, Mac Conkey, agar HardyCHROM™ CRE.

Procedimiento operativo

1. Use guantes protectores.
2. Deje los componentes del kit a temperatura ambiente durante al menos 10 minutos.

Preparando la muestra

1. Dispense 5 gotas (150 µL) de tampón de extracción en uno de los microtubos incluidos en el kit.
2. De un cultivo sólido en agar, toque 3 colonias con un asa y luego suspéndalas en el microtubo que contiene 150 µL de tampón de extracción.
3. Cierre el microtubo.
4. Agite para homogeneizar la mezcla antes de usar.

NOTA: Las colonias mucosas pueden provocar problemas de migración debido a su alta viscosidad. Agite en vórtex 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 extraiga el dispositivo. Una vez abierto, utilice la prueba inmediatamente.
2. Utilizando la pipeta provista, agregue 100 µL de la mezcla preparada (la muestra debe llegar a la línea negra indicada en la pipeta para aspirar con precisión 100 µL) en el pocillo de muestra etiquetado como "S".
3. Leer los resultados a los 15 minutos e interpretarlos como se indica a continuación.

NOTA: No interprete los resultados de la prueba después de 15 minutos.

Interpretación de resultados



Negative

Resultado negativo

Si sólo aparece una línea roja en la región de control (C): la muestra no contiene ninguna carbapenemasa o un nivel no detectable y debe interpretarse como un resultado negativo.



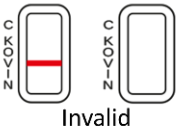
VIM
Positive

Resultado positivo

Si aparece una línea roja en la región de control (C) y una o varias líneas en las regiones de prueba K, O, V, I, N: la muestra contiene una o varias carbapenemasas y debe interpretarse como un resultado positivo.

NOTA: La intensidad de las líneas rojas de prueba puede variar según la concentración de carbapenemasas presentes en la muestra. Una línea débil debe considerarse un resultado positivo.

Resultado no válido



Invalid

Si no aparece la línea de control (C), el resultado de la prueba no es válido. Las razones más probables para el fallo de la línea de control son un volumen de muestra insuficiente o un procedimiento incorrecto. Es posible que se haya producido un deterioro del kit de prueba. Repita el procedimiento con una prueba nueva. Si el problema persiste, no reutilice el kit y póngase en contacto con su distribuidor.

NG Biotech, ZA Courbouton, Secteur 1, 35480 Guipry, Francia Teléfono: +33(0)2 23 30 17 83 Fax: +33(0)9 71 70 53 10 correo electrónico: info@ngbiotech.com

www.ngbiotech.com

Prueba NG CARBA 5

Prueba rápida para la detección de carbapenemasas KPC, OXA-48-like, VIM, IMP y NDM en una colonia bacteriana de cultivo Solo para uso diagnóstico in vitro profesional

Ref: ENO022CAR / Rev: 200128 / ES

Control de calidad

La prueba incluye un control de calidad interno. Cuando se desarrolla la línea de control, se confirma que el volumen de muestra fue suficiente y que el procedimiento fue correcto.

Limitaciones

1. Un resultado negativo no excluye la presencia de organismos productores de carbapenemasas (ejemplo: SME, GES, IMI).
2. Pueden producirse resultados falsos negativos con múltiples subcultivos de un aislado bacteriano sin ninguna presión selectiva.
3. Pueden ocurrir algunos resultados falsos negativos con *Proteus mirabilis* Probado únicamente en agar sangre.
4. *Proteo* Las especies tienden a exhibir un crecimiento enjambre en agar sangre, por lo tanto, solo se debe tocar la superficie del enjambre con un asa en 3 lugares diferentes.
5. Esta prueba es un ensayo cualitativo y no producirá ningún resultado cuantitativo.
6. Esta prueba debe utilizarse como ayuda para la identificación rápida de pacientes con resistencia a los antibióticos carbapenémicos. Los resultados obtenidos deben confirmarse con procedimientos diagnósticos alternativos o complementarios.
7. Una prueba positiva o negativa no descarta la presencia de otros mecanismos de resistencia a los antibióticos.

Rendimiento y características

Límite de detección

El límite de detección se determinó utilizando enzimas recombinantes purificadas: KPC 600 pg/ml
Oxígeno 300 pg/ml
EMPUJE 300 pg/ml
DIABLILLO 200 pg/ml
NDM 150 pg/ml

Evaluación clínica

El NG-Test Carba 5 se evaluó en el NRC (Centro Nacional de Referencia para la Resistencia a los Antibióticos, Hospital Kremlin-Bicêtre, París, Francia). Se realizaron pruebas ciegas de 147 cepas con contenido de β-lactamasa caracterizado por WGS. Entre la colección evaluada, solo no se detectaron 2 variantes raras de KPC D179Y (KPC-31 y KPC-33). Esta D179Y afectó la actividad hidrolítica de la enzima carbapenémica, que no puede considerarse una carbapenemasa, lo que también dio lugar a un resultado negativo en las pruebas bioquímicas. La sensibilidad y especificidad del NG-Test CARBA 5 se calculó considerando las variantes KPC-31 y KPC-33 como resultados negativos.

Tabla 1: Resultados obtenidos en el NRC Kremlin Bicêtre[11]

		secuenciación de genes		
		Positivo	**Negativo**	**total**
Prueba NG CARBA 5	**Positivo**	**119**	**0**	**119**
	Negativo	**0**	**28**	**28**
	Total	**119**	**28**	**147**

Sensibilidad	**100%**	IC 95% = 96,9 – 95,6%
Especificidad	**100%**	IC 95% = 87,9 - 100%

Especificidad analítica

Variantes detectadas por NG-Test CARBA 5[8;9;10;11,12,13]:
Tipo NDM: NDM-1 -2 -3 -4 -5 -6 -7 -8 -9 -11 -19 Tipo KPC: KPC-1 -2 -3 -4 -5 -6 -7 -12 -14 -23 -28 -39
Tipo IMP: IMP-1 -2 -4 -5 -6 -7 -8 -10 -11 -13 -14 -15 -16 -18 -19 -22 -26 - 29 -31 -37 -39 -46 -47 -56 -58 -61 -63 -71 -79
Tipo VIM: VIM-1 -2 -4 -5 -6 -19 -23 -26 -27 -31 -39 -46 -51 -52 -54 -56 -58 - 59,
Similar a OXA-48: OXA-48 -58 -162- 181 -204 -232 -244 -245 -370 -436 -484 - 515 -517 -519 -535 -793
No carbapenemasas (reactividad cruzada): OXA-163 y OXA-405 (oxacilinas de espectro extendido similares a OXA-48 con actividad carbapenemasa muy débil).

Nota: la lista anterior puede no ser exhaustiva.

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

Organismo Grupo	Objetivo	Variantes detectadas en las publicaciones [8;9;10;11;12]
*Entero-Bacteriáceas**	Cuerpo de Protección	2,3,4,5,6,7,9,12,14,23,28,39
	OXA-48-me gusta	48.162.181.204.232.244.245.370.436.484,5 15.517.519.535.793 (163 y 405)
	EMPUJE	1,2,4,5,6,19,23,26,27,31,39,46,51,52,54,56, 58,59
	DIABLILLO	1,4,6,7,8,10,11,14,22,26,47,58
	NDM	1,2,3,4,5,6,7,8,9,11,19
Pseudomonas aeruginosa	Cuerpo de Protección	1,2,5
	OXA-48-me gusta	181
	EMPUJE	2,5,11
	DIABLILLO	1,2,4,5,7,8,13,15,16,18,19,26,29,31,37,39,4 6,56,63,71,79
	NDM	1

*Incluyendo algunos: *Citrobacter.braakii, C. freundii, C. koseri, C. sedlakii, Enterobacter aerogenes, E. asburiae, E. cloacae, complejo E. cloacae,* ***Escherichia coli****, E. hermanii, Klebsiella aerogenes, K. variicola, K. ozaenae, K. oxytoca,* ***K. pneumoniae****, Ascorbato de Kluyvera, 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 enterolitica...*

Bibliografía

1. Yohei D et al. Enterobacteriaceae productoras de carbapenemasas. *Semin Respir Crit Care Med.* 2015; 36(1): 74–84.
2. Nordmann P et al. Detección rápida de enterobacterias productoras de carbapenemasas. *Enfermedades infecciosas emergentes*ases. 2012;18(9).
3. Bush K et al. Clasificación funcional actualizada de las β-lactamasas. *Agentes antimicrobianos y quimioterapia.* 2010; 54(3):969-976.
4. Nordmann P et al. Carbapenemasas en enterobacterias. *Archivos de Pediatría.* 2010;17:S154-S162.
5. Demir Y et al. Investigación de las enzimas VIM, IMP, NDM-1, KPC y OXA-48 en cepas de Enterobacteriaceae. *Pak J. Ciencias Farmacéuticas.* 2015; Mayo;28(3 Suppl):1127-33.
6. Oteo J et al. Evolución de las enterobacterias productoras de carbapenemasas a nivel mundial y nacional: ¿qué se debe esperar en el futuro? *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014; 32 Supl 4:17-23.
7. Kulkarni MV et al. Uso de imipenem para detectar la actividad de carbapenemasas KPC, NDM, OXA, IMP y VIM en bacilos gramnegativos en 75 minutos mediante cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem. *Revista Clínica Microbiológica.* 2014;52(7):2500-5.
8. Boutal H et al. 2018. Un inmunoensayo de flujo lateral multiplex para la identificación rápida de Enterobacteriaceae productoras de carbapenemasas de tipo NDM, KPC, IMP y VIM y similares a OXA-48. *J. Antimicrobiano. Quimioterapia.*.
9. Baeza LL, Pfennigwerth N, Greissl C, Göttig S, Saleh A, Stelzer Y, Gatermann SG, Hamprecht A, Comparación de cinco métodos para la detección de carbapenemasas en Enterobacterales con propuesta de un nuevo algoritmo, *Microbiología clínica e infecciones*, https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.003
10. Hopkins KL, Meunier D, Naas T, Volland H, Woodford N. 2018. Evaluación del ensayo inmunocromatográfico multiplex NG-Test CARBA 5 para la detección de carbapenemasas KPC, OXA-48-like, NDM, VIM e IMP. *J Antimicrob Chemother 73:3523-3526*
11. Volland H. et al., Mejora del ensayo inmunocromatográfico NG-Test CARBA5 para la detección de variantes de IMP no detectadas previamente *Agentes antimicrobianos y quimioterapia.*2019
12. Klavins A et al. Evaluación de NG-Test CARBA 5 con organismos productores de carbapenemasas y organismos no productores de carbapenemasas. CPHM 991. ASM Microbe 2019-Chicago
13. Pfennigwerth N. et al. Evaluación del NG-Test CARBA 5 para la detección de carbapenemasas mediante inmunocromatografía, ECCMID 2019

Símbolos

Σ 20	Contenido para 20 ensayos		Fecha de caducidad
IVD	*in vitro* diagnóstico Dispositivo médico		No reutilizar
LOT	Número de lote	REF	Catalogar referencia
	Consultar Instrucciones de uso	+4°C +30°C	Temperatura límite
	Fabricante	**Contiene NaN3**	0,01% de sodio azida

NG Biotecnología
ZA Courbouton, Sector 1
35480 Guipry Francia

Teléfono: +33 (0) 2 23 30 17 83 Fax: +33 (0) 9 71 70 53 10 Correo electrónico: info@ngbiotech.com

Esta prueba fue desarrollada en colaboración con la CEA*.
* La Comisión Francesa de Energías Alternativas y Energía Atómica es un actor clave en investigación, desarrollo e innovación.

CE