

Finalidade:

Teste rápido para a detecção de carbapenemases KPC, OXA, VIM, IMP e NDM em uma colônia bacteriana de cultura.

Registro ANVISA:

10097010-172

LB 172311

Apresentação:

Rev. 06 – 10/2024

646001 - NG-TEST CARBA 5 -KIT 20T

646010 - NG TESTE CARBA 5 - KIT 3 TESTES

1. INTRODUÇÃO

NG-Test® CARBA 5 é um ensaio imunocromatográfico múltiplo in vitro, visual e rápido para a detecção qualitativa e a diferenciação de cinco carbapenemases mais comuns (KPC, tipo OXA-48, VIM, IMP e NDM) de colônias bacterianas puras não suscetíveis aos carbapenêmicos.

Trata-se de um ensaio de diagnóstico in vitro, apenas para uso profissional, que auxilia na rápida identificação e controle de infecção na detecção de Enterobacteriaceae (incluindo Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae) e Pseudomonas aeruginosa que produzem carbapenemases em serviços de assistência à saúde.

β-Lactâmicos são antibióticos de primeira escolha para o tratamento de infecções causadas pela família Enterobacteriaceae. No entanto, desde o início da sua utilização massiva na década de 40 do século passado, a sua eficácia tem sido desafiada pela produção de enzimas que as inativam, as **β-Lactamases**. Entre elas, estão as carbapenemases que hidrolisem os antibióticos de carbapenêmicos. Antes da década de 40 do século passado, a grande parte da resistência aos antibióticos estava associada com a produção de β-Lactamases de espectro estendido (**ESBLs**), pertencentes às classes A, B, C, e D da classificação de Ambler. Desde então, os estudos mostraram um aumento na produção de carbapenemases entre a família de Enterobacteriaceae. Entre estas carbapenemases, a β-Lactamase **KPC** (Classe A) difundiu-se mundialmente nos anos 2000. Além disso, as **Metalo-β-lactamases** (MBL) do tipo **IMP**, **VIM** e **NDM** (Classe B) assim como as **OXA-48** (Classe D) também se disseminaram. Estas carbapenemases são essencialmente detectadas em serviços de atenção à saúde e são responsáveis pelas infecções hospitalares, levantando grandes problemas mundiais de saúde uma vez que a sua presença pode ser difícil de detectar.

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 colônias bacterianas. O kit é composto pelo tampão de extração líquido, que é usado como uma solução de lise celular quando misturado com as colônias. Os anticorpos monoclonais que individualmente reconhecem cada uma das cinco carbapenemases são immobilizados numa membrana de nitrocelulose. Os anticorpos monoclonais livres estão presentes na placa conjugada e etiquetados com ouro coloidal. Após a adição das colônias 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 controle immobilizado 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 controle (C) e uma ou mais linhas aparecem nas regiões de teste (K, O, V, I ou N) e indicam que a amostra contém uma ou mais carbapenemases. Um resultado negativo ocorre apenas quando é observada a linha de controle e indica que a amostra não contém nenhuma das 5 carbapenemases. Se a linha de controle não aparecer, o resultado do teste é inválido.

2. COMPOSIÇÃO

646001 - NG-TEST CARBA 5 -KIT 20T

Composição	Quantidade
Solução tampão de extração em frasco de 4,5 mL	1
Cassetes de teste em bolsas de alumínio com dessecante contendo tiras de nitrocelulose impregnadas com anticorpo monoclonal dirigido contra as enzimas KPC (K), OXA (O), VIM (V), IMP (I), e NDM (N).	20
Pipetas descartáveis	20
Tubos eppendorf	20

646010 - NG TESTE CARBA 5 - KIT 3 TESTES

Composição	Quantidade
Solução tampão de extração em frasco de 4,5 mL	1
Cassetes de teste em bolsas de alumínio com dessecante contendo tiras de nitrocelulose impregnadas com anticorpo monoclonal dirigido contra as enzimas KPC (K), OXA (O), VIM (V), IMP (I), e NDM (N).	3
Pipetas descartáveis	3
Tubos eppendorf	3

3. AMOSTRA

a- Tipos de amostras

- Colônias recém-obtidas de bacilos gram negativos, fermentadores e não fermentadores da glicose, provenientes de meios de isolamento adequados.
- As colônias a serem identificadas devem ser recentes (no máximo de 24h). Caso o teste tenha de ser protelado, deve-se proceder ao repique do material em meio apropriado e a uma nova incubação a $35\pm2^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24 horas, para então realizar a análise.
- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.
- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvo das análises, microrganismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.
- Rejeitar as colônias provenientes de culturas com mais de 24 horas de semeadura.

Meios de cultura validados:

- Trypticase soja agar (TSA)
- Mueller Hinton agar (MH)

- Agar Sangue 5% base TSA
- Ágar Cromogênico (Cromoclin)
- Ágar Cromogênico ESBL e KPC
- Ágar Mac Conkey

NOTA: Podem ser utilizadas amostras de sangue periférico, transferidas imediatamente para o frasco de hemocultura após sua coleta, desde que inicialmente sejam submetidas ao processo de preparação com o kit 646004 - NG-TEST BLOOD CULTURE PREP – KIT 20T (comercializado separadamente).

b- Precauções e cuidados especiais

- Produto destinado para uso diagnóstico *in vitro*;
- Manuseie todas as amostras como se fossem potencialmente infecciosas;
- Antes de descartar o material usado, invariavelmente, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Para acondicionamento do material usado, recomendamos o uso do Detrilab.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Princípio

São imobilizados anticorpos monoclonais de ratos dirigidos contra KPC (K), OXA (O), VIM (V), IMP (I), e NDM (N) em zonas de teste de membrana de nitrocelulose designadas por K, O, V, I, e N.

Este ensaio é realizado ao inocular uma amostra no poço do cassete. A amostra migra através do bloco conjugado e caso estejam presentes, as carbapenemases reagem com os anticorpos monoclonais anti-carbapenemases marcados. O complexo migra através da membrana de nitrocelulose via capilaridade e interage com os anticorpos monoclonais anti-carbapenemases correspondentes, imobilizados na membrana.

A linha de controle C, é formada por estreptavidina marcada e anticorpos monoclonais arcados que reagem com biotina-BSA e anticorpos policlonais de cabra e anti-rato, imobilizados na membrana. Caso a amostra seja positiva para uma ou para várias carbapenemases, irá aparecer uma linha vermelha na(s) zona(s) de teste e na zona controle da membrana. Caso contrário, apenas irá aparecer uma linha vermelha na zona do controle.

b- Armazenamento e estabilidade

- Os componentes do conjunto podem permanecer em temperatura de 4 a 30°C permanecendo estável até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação química, biológica ou umidade e mantidas nas suas embalagens individuais seladas.
- O produto não deve ser congelado.

c- Precauções e cuidados especiais

- O produto destinado apenas para o uso diagnóstico *in vitro*;
- Uso restrito por profissionais capacitados;
- Todas as operações devem ser realizadas de acordo com as boas práticas laboratoriais
- Não utilize após a data de validade expirada;
- Os dispositivos devem permanecer nas bolsas seladas até serem utilizadas.
- Manuseie as amostras como se fossem potencialmente infecciosas.
- Após utilização, descarte o dispositivo em lixo de resíduos infectantes.
- Não reutilize o dispositivo.
- Observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;
- Não congelar;
- Não armazenar em temperaturas superiores a 30°C, pois temperaturas superiores podem alterar a sensibilidade do teste.
- Não inalar ou ingerir;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;
- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para "Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A" para o manuseio seguro;
- Para acondicionamento e descarte do material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Recomendamos o uso dos sacos Detrilab.
- Os procedimentos de manuseio referentes ao processamento e manuseio para o descarte deverá estar de acordo com a RDC 222,

DE 28 DE MARÇO DE 2018 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Agitador tipo vórtex;
- Alça;
- Cronômetro;
- Luvas.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- a- Aguardar que os reagentes e as amostras atinjam a temperatura ambiente, durante pelo menos 10 minutos;
- b- Adicionar 5 gotas (150 µL) do tampão de extração a um dos microtubos fornecidos no kit;
- c- Da cultura semeada em ágar semi-sólido, recolher uma colônia pura com a alça e suspender no microtubo com 150 µL do tampão de extração;
- d- Fechar o microtubo;
- e- Homogeneizar em vórtex antes de utilizar.
- f- Abrir a embalagem e retirar o conteúdo. Uma vez aberta, utilize o teste imediatamente.
- g- Utilizar a pipeta fornecida, adicionar 100 µL da mistura preparada (a amostra deve atingir a linha preta indicada na pipeta, para aspirar 100 µL de forma precisa) no poço de amostra com "S".
- h- Realizar a leitura dos resultados em até 15 minutos.

NOTA: Não interpretar os resultados do teste após 15 minutos, uma vez que estes podem possivelmente variar e causar resultados falsos positivos.

- i- Interpretar conforme indicado abaixo.

7. RESULTADOS

Resultado Negativo:

Caso apareça apenas uma linha vermelha na região do controle (C): a amostra não contém nenhuma carbapenemase ou estas existem em um nível não detectável e este deve ser interpretado como um resultado negativo.



Negativo

Resultado Positivo:

Caso apareça uma linha vermelha na região do controle (C) e uma ou várias nas regiões de teste K, O, V, I e N: a amostra contém uma ou várias carbapenemases e este deve ser interpretado como um resultado positivo.

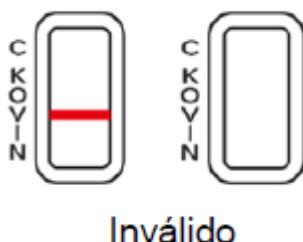


Positivo

NOTA: a intensidade da linha de teste vermelha pode variar, dependendo da concentração das carbapenemases presentes na amostra. Uma linha fraca deve ser considerada com um resultado positivo.

Resultado Inválido:

Caso não apareça uma linha de controle (C), o resultado do teste é inválido. Um volume de amostra insuficiente ou um procedimento incorreto são as razões mais prováveis para a falha na linha de controle. Pode ter ocorrido uma deterioração do kit do teste. Deve-se repetir o procedimento. Caso o problema persista, não reutilizar o kit e contatar o fabricante.



realizado um teste cego com 147 estirpes e os resultados foram comparados com o teste de sequenciamento PCR. Entre a coleção avaliada, apenas 2 variantes raras de D179Y KPC não foram detectadas (KPC-31 e KPC-33). Este D179Y afetou a atividade hidrolítica de carbapenemase da enzima que não pode ser considerada como 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

Método		PCR		
NG-Test CARBA 5		Positivo	Negativo	Total
	Positivo	119	0	119
	Negativo	0	28	28
	Total	119	28	147

Sensibilidade	100%	IC 95% = 96,9 -100%
Especificidade	100%	IC 95% = 87,9 – 100%

Especificidade analítica:

Variantes detectadas pelo 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 -1-2-3-4-5-6-7-8-10-11-13-14-15-16-18-19-22-26-29-31-39-46-47-56-58-61-63-71-79
- Tipo VIM: VIM -1-2-4-5-6-19-23-26-27-31-39-46-51-52-54-56-58-59
- Tipo OXA-48: OXA-48-58-162-181-204-232-244-245-370-436-484-515-517-519-535-793

Não carbapenemases (atividade cruzada): OXA-163 e OXA-405 (oxacilinases de largo espectro do tipo OXA-48 com uma atividade carbapenemase muito fraca).

Resumo de variantes detectadas pela NG-Test Carba 5 em publicações.

Grupo do organismo	Alvo	Variantes detectadas nas publicações ^{8,9,10,11,12}
Enterobacteriales	KPC	2,3,4,5,6,7,9,12,14,23,28,39
	Tipo OXA -48	48,162,181,204,232,244,245,370,436,484,515,517,519,535,793 (163 & 405)
	VIM	1,2,4,5,6,19,23,26,27,31,39,46,51,52,54,56,58,59
	IPM	1,4,6,7,8,10,11,14,22,26,47,58
	ND M	1,2,3,4,5,6,7,8,9,11,19
Pseudomonas aeruginosa	KPC	1,2,5
	OXA -48	181
	VIM	2,5,11
	IPM	1,2,4,5,7,8,13,15,16,18,19,26,29,31,37,39,46,56,63,71,79
	ND M	1

10. GARANTIA DA QUALIDADE**8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO**

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)

- Um resultado negativo não exclui a possibilidade do microrganismo produzir carbapenemase (Exemplo: SME, GES, IMI).
- Podem ocorrer resultados falsos negativos com sucessivos reiques em subculturas dos isolados testados.
- Alguns resultados falsos negativos podem ocorrer com isolados de *Proteus mirabilis* testado a partir de ágar sangue.
- Proteus spp.* Tende a apresentar um crescimento “swarming” em ágar sangue, por este motivo, esta superfície deve ser tocada com auxílio da alça em 3 locais diferentes.
- Este teste é qualitativo e não produzirá qualquer resultado quantitativo.
- Este teste deve ser utilizado como um auxílio na rápida identificação de pacientes com isolados bacterianos que apresentem resistência aos antibióticos carbapenêmicos. Os resultados obtidos devem ser confirmados com procedimentos de diagnóstico complementares ou alternativos.
- Um teste positivo ou negativo não demonstra outros mecanismos de resistência aos antibióticos.

9. CONTROLE DA QUALIDADE

Por se tratar de uma prova imunocromatográfica, a certeza de que a tira está apresentando pleno funcionamento é obtida pela verificação do desenvolvimento da linha de controle. Os surgimentos de resultados falsos negativos ou falsos positivos estão correlacionados com fatores diversos ligados a limitação da metodologia.

- Periodicidade

A cada novo lote de reagentes e em períodos determinados pelo próprio laboratório, testar o material com as amostras de referência.

- Interpretação e avaliação

A função do controle de qualidade é verificar que os materiais empregados na técnica forneçam os resultados esperados e apresentem desempenho compatível com o esperado. Resultados anormais devem ser verificados, e enquanto a verificação é feita, o produto não deverá ser utilizado e os resultados não poderão ser validados.

- Limites de detecção

O limite de detecção foi determinado com o uso de 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

O NG-Test Carba 5 foi avaliado no NRC (National Reference Center for Antibiotic Resistance), durante um estudo prospectivo. Foi

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:

- O usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- Os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
- Os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-0410027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

11. REFERÊNCIAS

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:S154-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 Infect 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, Pfennigwerth N, Greissl C, Göttig S, Saleh A, Stelzer Y, Gatermann SG, Hamprecht A, Comparison of five methods for detection of carbapenemases in Enterobacteriales with proposal of a new algorithm, *Clinical Microbiology and Infection*, <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.003>

10. Hopkins KL, Meunier D, Naas T, Volland H, Woodford N. 2018. Evaluation of the NGTest CARBA 5 multiplex immunochromatographic assay for the detection of KPC, OXA-48-like, NDM, VIM and IMP carbapenemases. *J Antimicrob Chemother* 73:35233526

11. Volland H. et al., Improvement of the immunochromatographic NG-Test CARBA5 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 Carbenemase producing organisms and non-carbenemase producing organisms. *CPHM 991. ASM Microbe 2019-Chicago*

13. Pfennigwerth N. et al. Evaluation of the NG-Test CARBA 5 for carbapenemase detection by immunochromatography, *ECCMID 201*



NG-Biotech

Z.A. Courbouton, Secteur 1, 35480 Guipry, France.

Distribuído por:



Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

CNPJ 76.619.113/0001-31

Insc. Estadual 1370012926

Rua Casimiro de Abreu, 521

Pinhais/PR CEP 83.321-210

Telefone (41) 3661-9000

www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:

Maire Wakamori – CRF/PR-20176

Serviço de Assessoria ao Cliente

SAC 0800-0410027

sac@laborclin.com.br

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

REF	Código do produto	LOT	Número de lote
SN	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)	IVD	Produto para saúde para diagnóstico in vitro.
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada	EC REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
STERILE A	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento	STERILE EO	Esterilização utilizando óxido de etileno
STERILE R	Esterilização utilizando irradiação	STERILE I	Esterilizado utilizando vapor ou calor seco.
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso.
CONTROL	Controle	CONTROL -	Controle Negativo
CONTROL +	Controle Positivo		Manter seco
	Manter afastado da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho
	Não utilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2024)