

Immunokromatografisk metod för snabb påvisning av CTX-M-1-gruppen och fem karbapenemaser

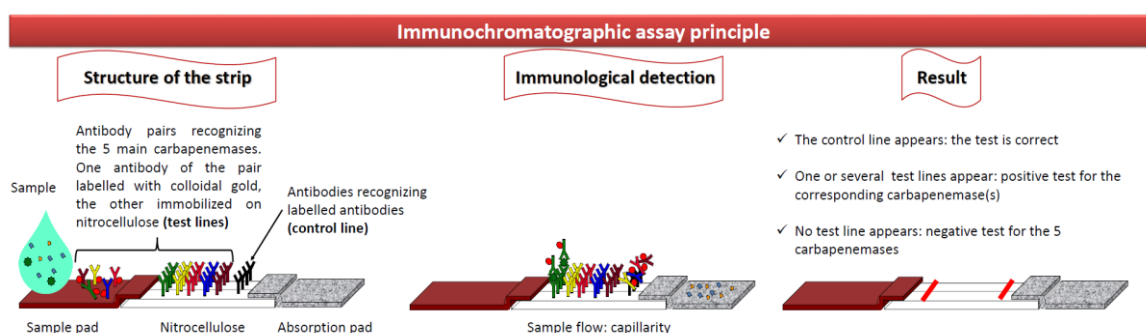
Linn Larsson, Afamia Jabbour, Ann Cathrine Petersson

Bakgrund

Under åren 2016 – 2017 karakteriserades med Check-MDR (Check Point) typ av ESBL hos 154 stammar av Gram-negativa stavar som odlats fram vid Klinisk mikrobiologi i Lund. Hos 101 stammar (66 %) påvisades ESBL_A där CTX-M-1-gruppen utgjorde 84 %. Karbapenemaser påvisades hos 53 (34 %) av isolaten. Check-MDR kräver specialutrustning, tränad personal och tar oftast 2 dygn i anspråk för att ge ett utförligt svar om förekomst och typ av ESBL.

Med ökad förekomst av ESBL ställs allt större krav på snabb och korrekt karakterisering av resistensmekanismer hos arter av Gram-negativa stavar. Detta för att ge korrekt vägledning inför behandling och för vårdhygieniska insatser. En enklare och snabbare test med hög kvalitet är önskvärd.

Nyligen introducerade NG Biotech (Guipry, Frankrike) tester för identifiering av de vanligast förekommande enzymerna inom ESBL_A (CTX-M-1-gruppen) respektive ESBL_{Carba} (NDM, KPC, OXA-48-gruppen, IMP och VIM). Testerna bygger på immunokromatografisk metodik med monoklonala antikroppar mot nämnda enzymer (Fig.1). I denna studie har NG-Test CTX-M och NG-Test CARBA 5 utvärderats.



Figur 1. Uppbyggnad av NG-Test (figur från Boutal *et al* efter överenskommelse (1)).

Material och metoder

Totalt 63 stammar karakteriserade med Check-MDR eller med helgenomanalys (Tromsø, Norge (2)) testades. De representerade de vanligaste arterna som uppvisar förekomst av ESBL_{Carba} och/eller ESBL_{A/M} (*E. coli* (18), *K. pneumoniae* (19), *E. cloacae*-komplexet (8), *P. mirabilis* (2), *Acinetobacter spp.* (8), *P. aeruginosa* (8)) och samtliga typer av enzymer som påvisats vid laboratoriet (Tabell 1).

Stammarna odlades upp på UriSelect-agar (Bio-Rad) och en koloni slammades i extraktionsbuffert för respektive kit. Efter vortexing sattes 100 µl till provbrunnen (S) på reagenskasetten. Provet tilläts diffundera under 10 – 15 min innan avläsning. Rött band tolkades som positivt utfall för respektive enzym. För godkänt test krävdes positivt kontrollband (Fig. 2).

Tabell 1. Antal tester som utförts med respektive test och antal stammar med respektive resistensmekanism.

Test	Antal tester	Antal stammar			
		ESBL _{Carba}	ESBL _{Carba} + ESBL _{A/M}	ESBL _{A/M}	Negativ Check-MDR eller WGS
NG-Test CARBA 5	61	17	27	7	10
NG-Test CTX-M	37	1	23	9	4

Resultat

Med NG-Test Carba 5 erhöjls positivt utfall för samtliga stammar med NDM (12), KPC (7), OXA-48-gruppen (12), VIM (7) och IMP (2). Negativt utfall erhöjls för stammar med IMI (1), OXA-23 (5), OXA-24 (1) och ESBL_{A/M} (7) vilket var förväntat.

Tester med NG-Test CTX-M visade full överensstämmelse med förväntat resultat. Samtliga stammar med enzymer inom CTX-M-1-gruppen (typ 1-liknande (2), typ 15-liknande (14), typ 32-liknande (2)) identifierades, medan stammar med AmpC (3), ESBL_A ej CTX-M-typ (6) och/eller CTX-M-9 (5) gav negativt utfall.

Betalaktamasnegativ stam och stammar med okänd resistensmekanism gav negativt utfall i båda testerna.



Figur 2. Till vänster positivt utfall för NDM (N) och för OXA-48 (O). Till höger positivt utfall för CTX-M-1-gruppen. I båda testerna är kontrollbandet (C) godkänt.

Konklusion

NG-Test CARBA 5 och NG-Test CTX-M uppvisar för angivna enzymer full överensstämmelse med förväntat resultat. Testerna kräver ingen specialutrustning eller särskild träning och kan utföras i samband med avläsning av resistensbestämningar. De är enkla att utföra och svar kan erhållas inom 15 min vilket kan förkorta svarstider avsevärt.

Referenser

1. Boutal H, Vogel A, Bernabeu S, Devilliers K, Plaisance M, Baratte Q, Oueslati S, Naas T, Simon S, Volland H. CTX-M-15 detection in clinical samples: evaluation of an immunochromatographic test. Poster 428, ASM Microbe 2017, New Orleans, 1-5 juni, 2017.
2. Haldorsen B, *et al.* Performance of the EUCAST disk diffusion method in detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) -The NordicAST2016 CPE study. ECCMID 2017, Wien.