

# Benutzerhandbuch

## Check-Direct CPE Screen for BD MAX™

Zur Detektion und Differenzierung von Carbapenemase-Genen von  
*Enterobacteriaceae* in Rektalabstrichen

Version 1.5

Ausgabedatum: 10.07.2017

REF

18-0051



24

CE IVD

### Inhalt

Bestimmungsgemäße Verwendung .....	2
Einleitung und Prinzip des Verfahrens .....	2
Kit-Inhalt (für 24 Reaktionen) .....	2
Nicht mit dem Kit mitgelieferte, benötigte Materialien .....	2
Lagerung und Haltbarkeit .....	2
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen .....	3
Gebrauchsanweisung .....	4
Probenvorbereitung .....	4
Betrieb des BD MAX™ .....	4
Interpretation der Ergebnisse .....	5
Häufig gestellte Fragen (FAQ) und Fehlerbehebung .....	6
Einschränkungen .....	7
Legende der verwendeten Symbole .....	7
Technische Unterstützung .....	7
Anhang 1: Erstellen des Check-Direct CPE Screen Test-Programms v.4.30B oder höher .....	8
Anhang 2: Leistungsmerkmale .....	9

## Verwendungszweck

Check-Direct CPE Screen for BD MAX™ ist ein qualitativer *in-vitro*-Diagnostik-Test für die schnelle Erkennung und Differenzierung von Carbapenemasengenen von Enterobacteriaceae bei Rektalabstrichen. Check-Direct CPE Screen erkennt das Vorliegen der Carbapenemase-Gene KPC, NDM, VIM und OXA-48, derzeit die Hauptursache für die Bildung von Carbapenemasen in Enterobacteriaceae. Der Test verwendet das BD MAX™-System für die Extraktion von DNA und die anschließende Echtzeit-PCR unter Verwendung der bereitgestellten Reagenzien kombiniert mit Universal-Reagenzien und Verbrauchsmaterialien für das BD MAX™-System. Check-Direct CPE Screen for BD MAX™ kann als Hilfsmittel zur Erkennung, Vorbeugung und Kontrolle von Carbapenemase-bildenden Enterobacteriaceae verwendet werden, die Patienten im Umfeld der Gesundheitspflege besiedeln. Check-Direct CPE-Screen for BD MAX™ ist weder vorgesehen, Infektionen mit Carbapenemase bildenden Enterobacteriaceae zu diagnostizieren, noch die Behandlung für diese Infektionen zu bestimmen oder zu überwachen. Parallelkulturen sind zur Anzucht von Organismen für epidemiologische Typisierung, Empfindlichkeitsprüfung und für weitere bestätigende Erkennung notwendig.

## Einführung und Prinzip des Verfahrens

Die weltweite Entstehung und Verbreitung von Carbapenem-Resistenzen bei *Enterobacteriaceae* ist eine ernsthafte Bedrohung für die öffentliche Gesundheit. Diese Organismen stehen im Zusammenhang mit hohen Sterblichkeitsraten und haben das Potenzial, sich weit zu verbreiten. Die häufigste Ursache von Carbapenem-Resistenz bei *Enterobacteriaceae* ist die Expression von Carbapenemasen, *d. h.* Carbapenemase bildende *Enterobacteriaceae* oder CPE. CPE haben eine erhöhte oder vollständige Resistenz gegen Carbapeneme und die meisten anderen  $\beta$ -Lactam-Antibiotika. Gegenwärtig sind die überwiegende Mehrheit der CPE mit der Anwesenheit von einem der folgenden plasmidkodierten Carbapenemasen assoziiert: KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase), VIM (Verona INTEGRON codierten metallo- $\beta$ -Lactamase), NDM (New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase) oder OXA-48 (Oxacillinase-48 und OXA-48 ähnliche Varianten). Darüber hinaus haben CPE häufig andere nicht- $\beta$ -Lactam-Resistenzdeterminanten, was zu multi- und pan-resistenten Isolaten führt.

Check-Direct CPE Screen for BD MAX™ ist ein Multiplex-Echtzeit-PCR-Test zur Erkennung der KPC, OXA-48, NDM und VIM Carbapenemase-Gene. Der Test basiert auf spezifischer Erkennung und Amplifikation von Zielsequenzen durch PCR und dem gleichzeitigen Nachweis der Akkumulation von PCR-Amplifikationsprodukten durch fluoreszierende DNA-Sonden. Für KPC, VIM, OXA-48 und NDM existieren viele Genvarianten, und Check-Direct CPE Screen wurde entwickelt, um auf zuverlässige Weise die meisten der Varianten zu erkennen. Die erkannten und vorhergesagten Varianten, die für jedes Resistenzgen erkannt werden müssen, sind in dem *in silico* Spezifitätsabsatz in Anlage 2 dargestellt. Check-Direct CPE Screen for BD MAX™ verwendet fünf verschiedene Fluoreszenzsonden und ermöglicht die Erkennung und Unterscheidung der vier Carbapenemase-Gene und der Prozesskontrolle SPC, die DNA-Extraktion und PCR-Amplifikation überwacht.

## Kit-Inhalt (für 24 Reaktionen)

Komponenten (Mat. Nr.)	Beschreibung
CPE-Screen Reagenzröhrchen (9-0121)	24 versiegelte Röhrchen (blaues Siegel)
CPE Positivkontrolle (9-0061)	1 Röhrchen (lila Kappe) 100 $\mu$ l
CP Mastermix (9-0122)	1 Röhrchen (grüne Kappe) 330 $\mu$ l
Benutzerhandbuch (9-0124)	Broschüre - von der Website herunterladen

## Nicht mit dem Kit mitgelieferte, benötigte Materialien

Materialien	Geräte
<ul style="list-style-type: none"> <li>BD MAX™ EXK™ DNA-1 Extraktions-Kit (Ref: 442818)</li> <li>BD MAX™ PCR-Cartridges (Ref: 437519)</li> <li>Einweg-Laborhandschuhe (puderfrei)</li> <li>Pipetten &amp; Einweg (Filter-)Spitzen für Volumina von 10 und 25 <math>\mu</math>l</li> <li>PCR-grade Wasser (z. B. Milli-Q oder Aqua bidest)</li> <li>Tupfer und Transportmedien geeignet für die rektalen Probenentnahmen. Empfohlene Tupfer: Copan ESwab, Kat.-Nr. 480CE</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Echtzeit-PCR-Instrument: BD MAX™-System Software, Version 4.30B oder höher</li> <li>Vortex-Mixer</li> </ul>

## Lagerung und Haltbarkeit

Das Check-Direct CPE Screen for BD MAX™ Kit wird bei Umgebungstemperatur angeliefert, sollte im Dunkeln und bei 2 bis 8 °C nach dem Empfang gelagert werden. Die Reagenzien sind bei 2 bis 8 °C bis zum angegebenen Verfallsdatum stabil. Keine abgelaufenen Komponenten verwenden.

Check-Direct CPE Screen for BD MAX™ Reagenzröhrchen, PCR-Mastermix und Positivkontrolle werden in einem versiegelten Beutel geliefert. Um die Reagenzien vor Feuchtigkeit zu schützen, den Beutel nach dem Öffnen sofort erneut versiegeln. Reagenzröhrchen sind bei 2 bis 8 °C bis zu 14 Tage nach dem erstmaligen Öffnen und erneutem Versiegeln des Beutels stabil.

## Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Der Check-Direct CPE Screen for BD MAX™-Test ist für die Verwendung von *in-vitro*-Diagnostik.
- Dieses Produkt kann nur mit dem BD MAX™ System verwendet werden.
- Das Kit nicht verwenden, falls das Etikett, das die äußere Box versiegelt, beschädigt ist.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn die Schutzbeutel bei Empfang geöffnet oder beschädigt sind.
- Schutzbeutel der Reagenzien sofort mit dem Zippverschluss nach jedem Gebrauch schließen. Entfernen Sie vor der Versiegelung überschüssige Luft aus den Beuteln.
- Überprüfen Sie die Reagenzstreifen auf die richtige Flüssigkeitsbefüllung (sicherstellen, dass sich die Flüssigkeiten am Boden der Röhrchen befinden).
- Überprüfen Sie die Reagenzstreifen, um sicherzustellen, dass alle Pipettenspitzen vorhanden sind.
- Trocknungsmittel nicht aus den Reagenzbeuteln entfernen.
- Verwenden Sie keine Reagenzien, falls das Trocknungsmittel nicht vorhanden oder innen zerbrochen ist.
- Reagenzien nicht verwenden, falls die Folie geöffnet oder beschädigt wurde.
- Mischen Sie keine Reagenzien von verschiedenen Beuteln und/oder Kits und/oder Chargen.
- Kappen nicht vertauschen oder wiederverwenden, da eine Verunreinigung und eine Beeinträchtigung der Testergebnisse auftreten könnte.
- Gehen Sie vorsichtig bei der Verwendung von Lösungsmitteln vor, weil die Lesbarkeit der Barcodes des Master Mix und der Extraktionsröhrchen beeinflusst werden könnte.
- Verwenden Sie keine abgelaufenen Reagenzien und/oder Materialien.
- Gute Labortechnik ist von wesentlicher Bedeutung für die ordnungsgemäße Durchführung dieses Tests. Aufgrund der hohen analytischen Sensitivität dieses Tests sollte äußerste Vorsicht angewendet werden, um die Reinheit aller Materialien und Reagenzien aufrechtzuerhalten.
- Zur Vermeidung von Kontaminationen durch Amplikons, die BD MAX™ PCR-Cartridges nach dem Gebrauch nicht auseinander brechen. Die Siegel der BD MAX™ PCR-Cartridges sind konzipiert, um eine Kontamination zu verhindern.
- Die Durchführung des Check-Direct CPE Screen for BD MAX™ Tests außerhalb der empfohlenen Zeiträume kann zu ungültigen Ergebnissen führen. Tests, die nicht innerhalb der festgelegten Zeiträume durchgeführt werden, sollten mit einer neuen Probe wiederholt werden.
- Zusätzliche Kontrollen können gemäß der Richtlinien oder Anforderungen lokaler, Landes- und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder Akkreditierungsorganisationen getestet werden.
- In Fällen, in denen Kultur- oder andere PCR-Tests im Labor durchgeführt werden, muss sichergestellt werden, dass die Check-Direct CPE Screen for BD MAX™ Testkomponenten, die für die Prüfung erforderliche Reagenzien sowie das BD MAX™-System nicht kontaminiert werden. Vermeiden Sie zu allen Zeiten mikrobielle und Desoxyribonuklease (DNase) Kontamination. Handschuhe müssen vor der Handhabung von Reagenzien und Cartridges gewechselt werden.
- Proben immer so behandeln, als wären sie infektiös und in Übereinstimmung mit sicheren Laborverfahren wie diejenigen, wie diese in dem CLSI-Dokument M2911 und in Biosicherheit in mikrobiologischen und biomedizinischen Laboratorien beschrieben sind.
- Schutzkleidung und Einweghandschuhe tragen, während alle Reagenzien gehandhabt werden.
- Nach Durchführung des Tests die Hände gründlich waschen.
- Nicht rauchen, trinken, kauen oder in Bereichen essen, in denen Proben oder Kit-Reagenzien benutzt werden.
- Entsorgen Sie nicht benötigte Reagenzien und Abfälle gemäß den örtlichen, Landes- und/oder Bundesvorschriften.
- Lesen Sie das Handbuch des BD MAX™ Systems für zusätzliche Warnhinweise, Vorsichtsmaßnahmen und Verfahren.

**Bitte lesen Sie das vollständige Protokoll vor  
Beginn des Tests**

# Bedienungsanleitung

## Probenvorbereitungsverfahren

### Testvorbereitung für Rektalabstriche

Hinweis: Das Verfahren zur Probenentnahme und Lagerung muss sorgfältig unter Verwendung von angemessenen Instrumenten zur Probenentnahme befolgt werden (siehe Abschnitt *Nicht mit dem Kit mitgelieferte, benötigte Materialien*). Rektalabstriche werden abhängig von dem Verfahren zur Probenentnahme unterschiedliche Mengen an Fäkalien enthalten. Check-Points rät, Ihr Probenentnahme- und Verarbeitungsverfahren mit Check-Direct CPE-Screen vor der Routineanwendung des Tests zu validieren.

1. Sammeln Sie die rektale Probe gemäß der örtlichen Richtlinien und Empfehlungen des Tupferherstellers.
2. Überführen Sie die Tupfer in die Röhrchen, die das Transportmedium enthalten.
3. Transportieren Sie zu analysierende rektale Abstrichproben in den PCR-Raum oder lagern Sie diese bis zur weiteren Verwendung in Übereinstimmung mit der Herstellerempfehlung und/oder örtlichen Vorschriften.
4. Mischen Sie jedes Röhrchen kurz mit der rektale Probe und pipettieren Sie 25 µL des Transportmediums in ein DNA-Probenpufferröhrchen SB-1.
5. Schließen Sie das Probenpufferröhrchen mit einer Septumkappe und vortexen Sie 10 Sekunden bei mittlerer Geschwindigkeit.

### Vorbereitung von Kontrollreaktionen

Führen Sie positive und negative Kontrollreaktionen für jeden Check-Direct CPE Screen PCR-Durchlauf durch, um den Lauf zu validieren. Die Positivkontrolle ist im Kit inbegriffen.

- **Positivkontrolle:**

Pipettieren Sie 10 µL der Positivkontrolle in ein Probenpufferröhrchen. Für 10 Sekunden vortexen.

- **Negativkontrolle:**

Pipettieren Sie 10 µL PCR-grade Wasser in ein Probenpufferröhrchen. Für 10 Sekunden vortexen.

## BD MAX™ Betrieb

### 1. Multiplex Echtzeit PCR-Einstellung

Tabelle 1 zeigt die Multiplex-Echtzeit-PCR-Einstellung mit den erfassten Zielen in jedem Detektorkanal des BD MAX™-Systems.

**Tabelle 1:** Multiplex qPCR-Einstellung

Wellenlänge	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Kanal	1	2	3	4	5
Ziel	KPC	VIM	OXA-48	NDM	SPC*

\* SPC: Probenprozesskontrolle

Wenn der Test zum ersten Mal durchgeführt wird, erstellen Sie das PCR-Testprogramm "CD CPE Screen" wie in Anhang 1 beschrieben.

### 2. Beladen der BD MAX™ Racks

- 2.1. Beladen Sie die BD MAX™ System-Racks mit der Anzahl der DNA Einzelreagenzienstreifen, die für die Anzahl der zu testenden Proben notwendig sind. Klopfen Sie sanft auf jeden Streifen, um sicherzustellen, dass sich alle Flüssigkeiten am Boden ihrer Behälter befinden.
- 2.2. Bereiten Sie Einzelreagenzienstreifen vor:
  - 2.2.a. Setzen Sie die Einzelreagenzienstreifen in ihre Positionen in dem BD MAX™ Rack. Die Streifen noch nicht "einklicken".
  - 2.2.b. Rasten Sie ein BD Exk-1 DNA-Extraktions Reagenzröhrchen (weißes Siegel) in Position 1 des DNA-Streifens, siehe Abbildung 1.
  - 2.2.c. Rasten Sie ein CPE Screen-Reagenzröhrchen (blaues Siegel) in Position 3 des DNA-Streifens, siehe Abbildung 1.
  - 2.2.d. Durchstechen Sie das blaue Siegel des CPE Screen-Reagenzröhrchen in Position 3, z. B. mit einer Einweg-Pipettenspitze. Dosieren Sie dann sorgfältig 12,5 µL des CP MasterMix am Boden des Röhrchens und stellen Sie sicher, dass Sie keine Luftblasen erzeugen.
  - 2.2.e. Rasten Sie die Einzelreagenzienstreifen in ihre Rackpositionen ein, wenn die Vorbereitung der Streifen abgeschlossen ist.

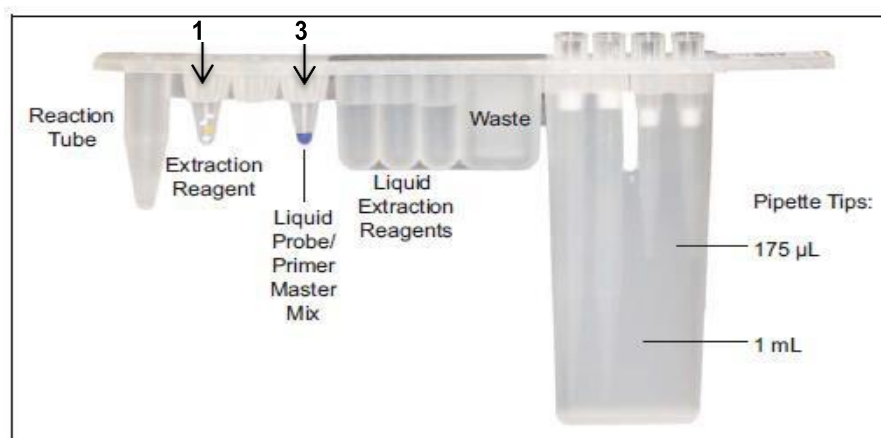


Abbildung 1: Vorbereitung der DNA-Einzelreagenzstreifen.

### 3. Einstellung des BD MAX™ Systems

- 3.1 Öffnen Sie die Registerkarte **Ausführen** der BD MAX™ Systemsoftware v4.30B oder höher und füllen Sie die **Arbeitsliste** aus.
- 3.2 Wählen Sie den **Test "CD CPE Screen"**. Siehe Anhang 1, um den "CD-CPE Screen" Test zu erstellen, falls sich dieser noch nicht im Test-Menü befindet.
- 3.3 Geben Sie den Barcode des **Probenpufferröhrchens** unter Verwendung des Barcodescanners ein (Sie können den Barcode auch manuell eingeben). Beginnen Sie mit der Position 1 von Rack A. Setzen Sie jedes der Probenpufferröhrchen in seine entsprechenden Position in die BD MAX™ Racks (mit Septumkappe) ein.
- 3.4 Geben Sie die Probe oder Patientenidentifikationsinformationen in die Zeile **Accession** der Arbeitsliste ein. Überprüfen Sie, dass jede Probe oder Patienteninformationen mit ihren spezifischen Probenpufferröhrchen im Rack übereinstimmen.
- 3.5 Legen Sie das/die Rack(s) in das BD MAX™ -System ein. (Rack-A befindet sich auf der linken Seite des Instruments und Rack-B auf der rechten Seite).
- 3.6 Laden Sie die BD MAX™ PCR Cartridge(s).
- 3.7 Schließen Sie die Gerätetür und wählen Sie **Lauf starten**.

## Interpretation der Ergebnisse

**Wichtige Punkte vor dem Beginn:** Für eine detaillierte Beschreibung, wie die Daten zu analysieren sind, beziehen Sie sich auf das *BD MAX™ System-Benutzerhandbuch*.

**Kontrollieren Sie die Amplifikationskurve für jede getestete Probe und vergleichen Sie die Kurve mit den C<sub>T</sub>-Werten, die mit der Software erhalten wurden.**

### 1. Angegebene Ergebnisse

Die BD MAX™ Software gibt die C<sub>T</sub>-Werte und Amplifikationskurven für jeden Detektorkanal einer jeden getesteten Probe auf folgende Weise an:

- Ein C<sub>T</sub>-Wert von **0** bedeutet, dass kein C<sub>T</sub>-Wert von der Software mit dem angegebenen Schwellenwert berechnet wurde (siehe Anhang 1). Die Amplifikationskurve der Probe, die einen "0" C<sub>T</sub>-Wert anzeigt, muss manuell geprüft werden.
- C<sub>T</sub>-Wert von **-1** zeigt an, dass kein gültiger Amplifikationsprozess erfolgt ist. Überprüfen Sie, dass keine Amplifikationskurve für die Probe mit einem C<sub>T</sub>-Wert von -1 auf den graphischen Ergebnissen vorliegt.
- Jeder andere C<sub>T</sub>-Wert sollte zusammen mit der Amplifikationskurve und nach den in den Tabellen 2 und 3 beschriebenen Leitlinien für die Auslegung interpretiert werden.

### 2. Interpretation

#### 2.1 Validierung des Laufs

Stellen Sie sicher, dass der Echtzeit-PCR-Lauf gültig ist, bevor Sie die Ergebnisse interpretieren. Überprüfen Sie, dass kein Bericht zu einem BD MAX™ Systemfehler vorliegt. Überprüfen Sie ggf. die Amplifikationskurven der Positiv- und Negativkontrolle. Tabelle 2 zeigt die Kriterien für einen gültigen Check-Direct CPE-Screen Lauf auf dem BD MAX™ -System an. Falls die C<sub>T</sub>-Werte der Kontrollen nicht wie erwartet ausfallen, beziehen Sie sich auf die häufig gestellten Fragen und Fehlersuche "3".

Tabelle 2: Kriterien für einen gültigen Lauf mit Check-Direct CPE Screen-Test.

Probenotyp*	C <sub>T</sub> 475/520 KPC	C <sub>T</sub> 530/565 VIM	C <sub>T</sub> 585/630 OXA-48	C <sub>T</sub> 630/665 NDM	C <sub>T</sub> 680/715 SPC
Positivkontrollen	32 ± 3	29 ± 3	28 ± 3	31 ± 3	28 ± 3
Negative Probe	-1	-1	-1	-1	28 ± 3

## 2.2 Interpretation der Ergebnisse

Wenn der Lauf validiert wurde, interpretieren Sie die Ergebnisse als positiv, negativ oder ungelöst basierend auf den  $C_T$ -Werten, die für die Proben nach den in Tabelle 3 zusammengefassten Richtlinien erhalten wurden. Bitte überprüfen Sie immer, dass die Amplifikationskurve jeder Probe mit den  $C_T$ -Werten und der durch die Software erhaltenen Interpretation der Ergebnisse übereinstimmt. Ungelöste Läufe sollten erneut getestet werden.

**Tabelle 3:** Richtlinien zur Dateninterpretation von Rektalabstrichen.

KPC, VIM, OXA, NDM $C_T$ -Werte	SPC $C_T$ -Werte	Interpretation
JA	JA	Positive Probe
-1	$28 \pm 3$	Negative Probe
-1	< 25 oder >	Ungelöst
-1 oder JA	-1	Ungelöst

### WICHTIGE HINWEISE:

- JA bedeutet, dass ein  $C_T$ -Wert beobachtet und in der Ergebnistabelle angegeben wird.
- Ein positives Testergebnis bedeutet nicht notwendigerweise das Vorliegen von lebensfähigen Organismen in der getesteten Probe.
- $C_T$ -Werte von Rektalabstrichen können stark aufgrund von Unterschieden in Fäkalien und "Bakterienbelastung" von Rektalabstrichen im Transportmedium abweichen.
- Falls das BD MAX™ System unbestimmte oder unvollständige Ergebnisse (IND oder INC) aufgrund eines BD MAX™ Systemfehlers anzeigt, setzen Sie sich bitte mit Ihrem BD-Vertreter vor Ort in Verbindung.

## Häufig gestellte Fragen (FAQ) und Fehlerbehebung

Siehe Abschnitt "Fehlerbehebung" des BD MAX™ -System Benutzerhandbuchs für zusätzliche Informationen

- Echtzeit-PCR-Ergebnisse zeigen keine  $C_T$ -Werte oder die Interpretation zeigt an, dass die Probe ungelöst ist.** Mögliche Ursachen und Fehlerbehebung:
  - Die PCR-Reaktion ist durch exogene oder endogene Substanzen gehemmt worden. Bitte wiederholen Sie den Test. Wenn diese noch immer gehemmt ist, könnte eine geringere Menge der Eingangssprobe die Ergebnisse verbessern.
  - Die DNA-Extraktion ist fehlgeschlagen, da die SPC nicht erkannt wurde.
  - Das CPE Screen-Reagenz oder CP MasterMix ist möglicherweise abgelaufen.
  - Ein Fehler bei der Handhabung der Flüssigkeit ist aufgetreten: Einzel-Reagenzstreifen und PCR-Cartridge überprüfen, um zu bestimmen, wo das Problem bei der Handhabung der Flüssigkeit aufgetreten ist (Beispiel: Luftblase in der Cartridge) und die Probe einem erneuten Durchlauf unterziehen. Falls das Problem weiterhin besteht, wenden Sie sich an Ihren BD-Vertreter vor Ort.
- Fehlerbehebung für ungelöste Ergebnisse.**  
 Für ungelöste Ergebnisse: Test mit der ursprünglichen Probe wiederholen, indem Sie ein neues Probenpufferröhrchen vorbereiten. Testen Sie alternativ neu gesammelte Proben oder verwenden Sie eine geringere Menge der Probe.
- Echtzeit-PCR-Ergebnisse zeigen keine  $C_T$ -Werte für die Positivkontrolle oder die Interpretation zeigt an, dass die Probe ungelöst ist?**  
 Mögliche Ursachen und Fehlerbehebung:
  - Die positive Kontrolllösung wurde nicht zugegeben.
  - Das CPE Screen-Reagenz oder CP MasterMix ist möglicherweise abgelaufen.
  - Luftblasen sind in der PCR-Reaktionskammer der Positivkontrolle aufgetreten.
- Echtzeit-PCR-Ergebnisse zeigen sehr niedrige Fluoreszenzsignale bei allen Proben und Detektorkanälen einschließlich des SPC-Signals an.**  
 Mögliche Ursachen und Fehlerbehebung:
  - Die CPE-Screen-Reagenzröhrchen, die fluoreszierenden Sonden und Primer enthalten, könnten degradiert sein. Bitte überprüfen Sie das Ablaufdatum und stellen Sie sicher, dass die CPE-Screenröhrchen sachgemäß gelagert wurden.
  - Das BD MAX™-System kann für diese Ergebnisse verantwortlich sein. Bitte beziehen Sie sich auf das BD MAX™ Benutzerhandbuch oder setzen Sie sich mit Ihrem BD-Vertreter vor Ort in Verbindung.
- Das BD MAX™ System gibt einen Fehler oder Ausfall an.**  
 Beziehen Sie sich auf das Benutzerhandbuch des BD MAX™ Instruments oder kontaktieren Sie Ihren BD-Vertreter vor Ort.
- Doppelte Proben, die mit Check-Direct CPE Screen getestet wurden, zeigen keine identischen Ergebnisse.**  
 $C_T$ -Werte von identischen Proben können zwischen den einzelnen Reaktionen variieren. Große Variationen, > 2  $C_T$ -Werte, sprechen für Pipettierfehler oder andere Unterschiede zwischen den Duplikaten.

## Einschränkungen

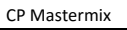
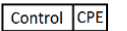








Check-Direct CPE Screen for BD MAX™ nutzt eine Reihe von spezifischen DNA-Markern, um das Vorliegen der Carbapenemase-Gene KPC, NDM, OXA-48 und VIM zu erkennen, die derzeit die klinisch am häufigsten verbreiteten Carbapenemasen darstellen. Der Test erkennt alle derzeit bekannten Varianten von KPC, NDM, OXA-48 und VIM außer VIM-7, eine seltene Variante, die nur in *Pseudomonas aeruginosa* gefunden wird. Es sollte beachtet werden, dass andere seltene Familien des Carbapenemase-Gens nicht erkannt werden. Der Test ist nur zur Verwendung mit Rektalabstrichen in Transportmedien als Ausgangsmaterial vorgesehen.

Die Qualität der eingegebenen DNA ist ein wichtiger Faktor für den Erhalt von zuverlässigen Ergebnissen mit Check-Direct CPE Screen for BD MAX™. DNA muss aus Rektalabstrichen unter Verwendung der Geräte und der in diesem Handbuch beschriebenen Verfahren extrahiert werden. Die Analyse wurde ausgiebig mit DNA, die von gramnegativen Bakterien wie *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* und *Pseudomonas* gereinigt wurde, mit ausgezeichneten Ergebnissen getestet. Es kann jedoch niemals ausgeschlossen werden, dass andere gramnegative Bakterien oder gewisse Stämme der obengenannten Arten schlechtere Ergebnisse ergeben werden. Check-Direct CPE Screen kann und wird keine Zusicherung oder Garantie gewährleisten, dass es in der Lage ist, Carbapenemase-Gene in allen gramnegativen Arten, Unterarten oder Typen oder bei allen klinischen Proben richtig zu erkennen. Die Ergebnisse müssen möglicherweise in bestimmten Fällen (z. B. für behördliche Proben) durch weitere Methoden bestätigt werden. Aufgrund der hohen Variabilität der bakteriellen Genome ist es möglich, dass bestimmte Unterarten nicht erkannt werden. Der Test spiegelt den Wissensstand von Check-Points Health B.V. wieder.

Ein positives Testergebnis bedeutet nicht notwendigerweise das Vorliegen von lebensfähigen Organismen in der getesteten Probe. Carbapenemase-DNA wurde möglicherweise von nicht lebensfähigen Organismen nachgewiesen.

Das Vorliegen von mehreren Bakterienarten in einer Probe kann die Interpretation des Tests erschweren. Wie bei anderen diagnostischen Analysen können die Ergebnisse dieses Tests nur in Kombination mit zusätzlichen Labor- und klinischen Daten ausgelegt werden, die der verantwortlichen Person zur Verfügung stehen. Die Verwendung dieser Analyse ist auf entsprechend qualifiziertes Personal eingeschränkt, das zur Durchführung von DNA-basierten molekularen Nachweismethoden ausgebildet wurde.

## Legende der verwendeten Symbole

Symbol	Definition
	CP Mastermix
	CPE-Kontrolle
	Für die <i>In-Vitro</i> Diagnostik
	Katalognummer
	Chargen-Code
	Vor MM-JJJJ verwenden
	Gebrauchsanweisung beachten
	Hersteller
	Temperaturbegrenzung
	Beinhaltet ausreichendes Material für < n > Tests

## Technische Unterstützung

support@check-points.com

+31 317 453 908

Trotz größter Sorgfalt bei der Entwicklung und Herstellung des Protokolls übernimmt Check-Points keine Haftung für Fehler, Auslassungen und/oder zukünftige Änderungen daran.

**Zitierung der Literatur:** Wenn ein Verfahren zur Veröffentlichung die Verwendung dieses Produkts beschreibt, beziehen Sie sich bitte auf dieses als *Check-Direct CPE Screen*.

### Hinweis für den Käufer:

Dieses Produkt wird unter Lizenz von PHRI Properties verkauft und kann gemäß der Patentrechte von PHRI Properties nur bei Menschen für *in-vitro*-Diagnostik, Lebensmittelkontrolle, Veterinärtests oder Forschung verwendet werden. Farbstoffe- & Quencher-Reagenzien in diesem Produkt werden unter der Genehmigung von Biosearch Technologies, Inc. vertrieben und sind durch U.S. und weltweite Patente geschützt, die entweder erteilt wurden oder sich in der Anmeldung befinden. Die Lizenzgewährung umfasst die Anwendung bei menschlicher *in-vitro*-Diagnostik (IVD).

### Handelsmarken

BD, BD MAX™ sind Handelsmarken von Becton Dickinson GmbH

**Check-Points Health BV**  
 Binnenhaven 5  
 6709 PD Wageningen  
 Niederlande  
 Tel: +31 317 453 908  
 Fax: +31 317 210 147  
 info@check-points.com  
 www.check-points.com



## Anhang 1: Erstellen des Check-Direct CPE Screen Test-Programms v.4.30B oder höher

**Wichtige Punkte vor dem Beginn:** Beziehen Sie sich auf das BD MAX™ System-Benutzerhandbuch für detaillierte Anweisungen, wie das BD MAX™ System und die **Software-Version 4.30B oder höher** betrieben wird.

Um einen neuen Test in der Registerkarte **Test Editor** zu erstellen, wählen Sie **Erstellen** und wenden Sie die folgenden Anweisungen an:

1. Geben Sie in der Registerkarte **Basisinformationen** die folgenden Parameter ein:

- Testname: CD CPE-Screen.
- Extraktionsart: Wählen Sie Exk DNA-1 (Plasma/Serum).
- Master Mix Format: Wählen Sie Typ 3: Flüssiges MM mit Primer und Sonden.
- Parameter des Probenextraktion: Wählen Sie *Benutzerdefiniert* und stellen Sie *Probenvolumen* auf 600 µl ein, siehe Tabelle A.
- Ct-Berechnung: Wählen Sie Ct am Wendepunkt aufrufen.

### Die Parameter speichern

2. Geben Sie in der Registerkarte **PCR-Einstellungen** die folgenden Parameter ein:

- Alias, PCR-Verstärkung und Schwellenwert: Geben Sie für jeden Kanaldetektor die richtigen Parameter ein, die in Tabelle B angegeben sind.
- Farbkompensation: Geben Sie die korrekten Parameter ein, wie diese in Tabelle C angegeben sind.

### Die Parameter speichern

3. Geben Sie in **Testschritte** die PCR-Schritte ein, wie in Tabelle D angegeben.

### Die Parameter speichern

**Tabelle A:** Parameter der Probenextraktion

Parameter	Wert
Lyse-Heizdauer	10
Lyse-Temperatur	37
Probenspitzenhöhe	1600
<b>Probenvolumen</b>	<b>600</b>
Waschvolumen	500
Neutralisationsvolumen	----
DNase-Aufwärmzeit	----

**Tabelle B:** Alias, PCR-Steigung, Schwellen-Parameter.

Wellenlänge	Alias	PCR-Zunahme	Threshold
475/520	KPC	80	100
530/565	VIM	80	100
585/630	OXA-48	30	100
630/665	NDM	80	100
680/715	SPC	40	100

**Tabelle C:** Farbkompensation.

	Falscher Empfangskanal					
		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Anregungskanal	475/520		0,0	0,0	0,0	0,0
	530/565	0,0		0,0	0,0	0,0
	585/630	0,0	0,0		7,4	0,0
	630/665	0,0	0,0	0,0		0,0
	680/715	0,0	0,0	0,0	4,4	

**Tabelle D:** Testparameter der PCR-Schritte.

Schrittname	Profiltyp	Zyklen	Zeit (s)	Temp (°C)	Nachw
Denaturierung	Halten	1	600	98	NEIN
Amplifikation & Detektion	2 - Temperatur	50	15	98	NEIN
			62	60	JA



## Anhang 2: Leistungsmerkmale

### Nachweisgrenze mit Rektalabstrichen

Die analytische Nachweisgrenze (LoD) von Check-Direct CPE Screen for BD MAX™ wurde mit Rektalabstrichen bestimmt, die mit definierten Mengen von Zielbakterien versetzt wurden. E-Tupfer Amies Transportmedium (Copan) wurde mit etwa 10 mg/ml menschlichen Fäkalien "probiert", was eine typische rektale Abstrichprobe nachahmt. Stämme, die die Ziel-Carbapenemase-Gene enthalten, wurden o/n gezüchtet, und die Zellsuspensionen wurden in Milli-Q-Wasser mit einer Dichte von 0,5 McFarland vorbereitet. Diese Zellsuspensionen wurden verwendet, um die künstlichen Rektalabstriche zu versetzen, um Proben mit einer genau definierten Menge an Fäkalien und Zielbakterien zu erstellen.

Eine große Sammlung von Proben, wie oben beschrieben, wurde erstellt, um die analytische Nachweisgrenze (LoD) nach dem Protokoll, wie auf den Seiten 4 und 5 dieser Bedienungsanleitung beschrieben, auszuwerten. Die Ergebnisse sind in der Tabelle unten dargestellt. SBT bezieht sich auf das BD MAX™ Probenpufferröhrchen.

Ziel	CFU pro SBT	CFU/PCR	Erfolgsrate
KPC	116	13	100%
KPC	12	1	0%
VIM	104	13	100%
VIM	8	1	67%
OXA-48	176	22	100%
OXA-48	23	3	67%
NDM	119	14	100%
NDM	12	1	43%

### In-silico Spezifität

Die Spezifität des Check-Direct CPE Screen Echtzeitdiagnosteset wird durch die Auswahl der richtigen Primer und Sonden sowie mit der Auswahl der stringenten Reaktionsbedingungen gewährleistet. Primer und Sonden-Sequenzen wurden entworfen, um spezifisch die Genvarianten in der untenstehend aufgeführten Tabelle zu erkennen. Eine 100% -ige Sequenzübereinstimmung mit den Primern und Sonden durch *in silico*-Analyse wurde angenommen, um die zuverlässige Detektion von jeder der dargestellten Varianten zu gewährleisten. Einzelne Fehlpaarungen mit den Primern und Sonden bestehen bei einigen Varianten, von denen wir erwarteten, dass die Detektion nicht beeinträchtigt werden würde. Dies wurde durch Testen solcher Varianten im Vergleich mit Varianten bestätigt, die zu 100% homolog waren.

Primer und Sonden-Sequenzen wurden unter Verwendung aller Gen-Sequenzen, die in der internationalen Genbank am 1. April 2014 vorhanden waren, auf potentielle Homologien mit Genen von anderen Organismen getestet. (GenBank®, NIH Gensequenz-Datenbank). unter Verwendung von Sequenzvergleichsanalyse. Keine Kreuzhomologie mit anderen Organismen für die ausgewählten Primer und Sonden wurde gefunden.

Carbapenemase-Gen	Detektierte Varianten
KPC	1 – 17
NDM	1 - 10
VIM	1 – 6 & 8 – 38
OXA-48	48, 162, 163, 181, 204, 232, 244, 245, 247, 370

## Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität des Check-Direct CPE Screen beim Echtzeit-Diagnostest wurde durch Testen der Kreuzreaktivität mit Proben bestimmt, die einen hohen Anteil an Nicht-Zielorganismen enthalten. 103 Carbapenemase-negative Stämme wurden verwendet, um die Spezifität des Check-Direct CPE Screen Echtzeittests zu testen. Eine Übersicht dieser Stämme ist in der Tabelle unten aufgeführt. Alle Isolate wurden mit der Check-Direct CPE Screen-Analyse negativ getestet, und die interne Kontrolle wurde in allen Proben zuverlässig erkannt. Die Spezifität basierte zu 100% auf die getesteten Referenzstämme.

Spezies	Getestete
<i>Campylobacter jejuni</i>	2
<i>Citrobacter freundii</i>	5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	23
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	2
<i>Escherichia coli</i>	42
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2
<i>Salmonella typhimurium</i>	1
<i>Proteus mirabilis</i>	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	2
<i>Serratia marcescens</i>	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1

## Analytische Inklusivität

Eine retrospektive Studie wurde mit 93 Bakterienstämmen von 14 verschiedenen gramnegativen Spezies durchgeführt, die vormalig mit dem Check-Point-Mikroanalyse-Diagnostik-Test Check-MDR CT103 (Check-Points Health) als Carbapenemase-positiv erkannt wurden. Alle 93 Bakterienstämme wurden korrekt für die gezielte Carbapenemase-Gene typisiert. Die Ergebnisse sind in der Tabelle unten dargestellt. Die Inklusivität betrug 100% für die getesteten Stämme.

Anzahl der getesteten Stämme	Check-MDR CT103 Ergebnis	Check-Direct CPE Screen-Ergebnis
19	KPC	KPC
16	NDM	NDM
33	VIM	VIM
23	OXA-48	OXA-48
1	NDM + OXA-48	NDM + OXA-48
1	VIM + OXA-48	VIM + OXA-48

## Klinische Leistung

Die klinische Leistung des Check-Direct CPE Screen for BD MAX™-Assay wurde in drei separaten prospektiven Studien unter Beteiligung von vier europäischen klinischen Zentren bewertet. Die Prävalenz von CPE (Carbapenemase bildende *Enterobacteriaceae*) in Abwesenheit eines Ausbruchs ist gering, und es ist schwierig, frische Proben zu erhalten, die CPE beinhalten. Daher wurden die prospektiven Proben mit gekünstelten Proben ergänzt (gut charakterisierte Isolate, versetzt in negativer Rektalabstrichmatrix), um für die geringe Menge an positiven Proben zu kompensieren. Rektale Abstrichproben, die als Teil der Routinepatientenversorgung gesammelt wurden, wurden mit dem Check-Direct CPE Screen for BD MAX™-Assay getestet und mit einer Referenzkultur-Methode (chromID ESBL oder chromID Carba Smart selektives Kulturmedium) verglichen.

Prospektive kulturpositive klinische Proben wurden durch genspezifische PCRs bestätigt.

Insgesamt 1203 rektale Abstrichproben wurden getestet, von denen 30 (2,5%) Proben unklare Ergebnisse ergaben und somit von den nachstehend berichteten Ergebnissen ausgeschlossen wurden. Bei 41 der 1173 Proben, die in den Ergebnissen eingeschlossen waren, handelte es sich um gekünstelte Proben, die gut charakterisierte KPC, VIM, OXA-48 oder NDM positive Bakterienstämme enthalten. Die Gesamtleistung und Leistungen nach Ziel für die Check-Direct CPE Screen for BD MAX™-Assay sind nachstehend angegeben.

In Bezug auf die Referenzmethode zeigte die Check-Direct CPE Screen-Analyse eine Gesamtsensitivität und Spezifität von jeweils 98,5% und 96,8% in dem kombinierten Satz an gekünstelten und prospektiven Proben (siehe Tabelle unten).

### Gesamtleistung des Check-Direct CPE Screen im Vergleich zur Referenzmethode

CPE		Kultur		Gesamt
		+	-	
BD MAX™ CPE Screen-PCR	+	67	35	102
	-	1	1070	1071
Gesamt		68	1105	1173

Sensitivität: 98,5% (67/68)

Spezifität: 96,8% (1070/1105)

### Check-Direct CPE Screen Leistungsdaten im Vergleich zur Referenzmethode für KPC

KPC		Kultur		Gesamt
		+	-	
BD MAX™ CPE Screen-PCR	+	28	8	36
	-	1	1136	1137
Gesamt		29	1144	1173

Sensitivität: 96,6% (28/29)

Spezifität: 99,3% (1136/1144)

### Check-Direct CPE Screen Leistungsdaten im Vergleich zur Referenzmethode für OXA48

OXA-48		Kultur		Gesamt
		+	-	
BD MAX™ CPE Screen-PCR	+	13	8	21
	-	0	1152	1152
Gesamt		13	1160	1173

Sensitivität: 100% (13/13)

Spezifität: 99,3% (1152/1160)

### Check-Direct CPE Screen Leistungsdaten im Vergleich zur Referenzmethode für VIM

VIM		Kultur		Gesamt
		+	-	
BD MAX™ CPE Screen-PCR	+	15	19	34
	-	0	1139	1139
Gesamt		15	1158	1173

Sensitivität: 100% (15/15)  
 Spezifität: 98,4% (1139/1158)

### Check-Direct CPE Screen Leistungsdaten im Vergleich zur Referenzmethode für NDM

NDM		Kultur		Gesamt
		+	-	
BD MAX™ CPE Screen-PCR	+	11	0	11
	-	0	1162	1162
Gesamt		11	1162	1173

Sensitivität: 100% (11/11)  
 Spezifität: 100% (1162/1162)