

O.K.N.V.I. RESIST-5



www.corisbio.com
IFU-58R11/IT/05

Fabbricante:

Coris BioConcept
Science Park CREALYS
Rue Jean Sonet 4A
B – 5032 GEMBLoux
BELGIO
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com

Prodotto in BELGIO

III. REAGENTI E MATERIALI

1. O.K.N.V.I. RESIST-5 (cassette 2x20)

20 sacchetti sigillati contenenti due cassette a flusso laterale e un essiccante. Ogni cassetta contiene una striscia sensibilizzata.

2. Flacone contenente il tampone LY-D (7 mL)

Soluzione Tris-EDTA contenente NaN_3 (<0,1%) e un detergente.

3. Istruzioni per l'uso (1)

4. Provette di raccolta monouso (20)

5. Pipette di trasferimento monouso (20)

Materiali da ordinare separatamente:

- RESIST-BC (S-1001): kit di reagenti da utilizzare con coltura ematica
- ReSCape (S-1002): kit di reagenti da utilizzare con tampone rettale

IV. PRECAUZIONI SPECIALI

- Tutte le operazioni correlate all'uso del test devono essere effettuate in conformità con le buone pratiche di laboratorio.

- Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.

- Prestare attenzione quando si apre il sacchetto.

- Evitare di toccare la nitrocellulosa con le dita.

- Indossare i guanti per manipolare i campioni.

- Non utilizzare mai reagenti di un altro kit.

- Le linee verdi indicano i siti di adsorbimento degli immunoreagenti. Il colore verde scompare durante il test.

- La qualità dei reagenti non è garantita oltre la data di scadenza o nel caso in cui i reagenti vengano conservati in condizioni diverse da quelle indicate nel foglietto illustrativo.

V. SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

- Smaltire guanti, tamponi, provette e card usati in conformità alle buone pratiche di laboratorio (BPL).

- Ogni utente è responsabile della gestione degli eventuali rifiuti prodotti e deve assicurarsi che questi vengano smaltiti in conformità con le normative vigenti.

VI. CONSERVAZIONE

- Un sacchetto sigillato può essere conservato a una temperatura compresa tra 4 e 30 °C e utilizzato entro la data di scadenza indicata sulla confezione. Una volta aperto il sacchetto, eseguire immediatamente il test.

- Evitare di congelare card per test e tampone.

VII. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni da testare devono essere ottenuti e gestiti tramite metodi microbiologici standard.

Assicurarsi che i campioni non vengano trattati con soluzioni contenenti formaldeide o suoi derivati.

I terreni di coltura testati e convalidati con kit Coris BioConcept RESIST sono elencati sul sito web: <https://www.corisbio.com/products/oknvi-resist-5/faq>

VIII. PROCEDURA

OPERAZIONI PRELIMINARI

Prima di eseguire il test, lasciare che i componenti del kit, nella confezione sigillata, e i campioni (nel caso in cui la piastra contenente la colonia da analizzare sia stata conservata a 4 °C) si stabilizzino a temperatura ambiente (15-30 °C).

Aprire il sacchetto ed estrarre la card per test. Una volta aperto il sacchetto, eseguire immediatamente il test. Scrivere sulla card il nome del paziente o il numero del campione (una card per campione).

PROCEDURA DI PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Le prestazioni previste con tipi di campioni diversi dalle colonie batteriche sono state definite per tamponi rettali e colture ematiche.

Con i tamponi rettali e le colture ematiche, la procedura di preparazione deve essere seguita come descritto nei rispettivi kit (S-1002, ReSCape e S-1001, RESIST-BC).

Con le colonie batteriche, per prestazioni ottimali si consiglia l'uso di colture su agar fresche, procedendo come segue:

1. Preparare una provetta di raccolta e aggiungervi **11 gocce** di tampone LY-D.
2. Raccogliere i batteri prelevando **3 colonie** con un'ansa batteriologica monouso e immergerla in fondo alla provetta che contiene il tampone. Per raccogliere le 3 colonie si può utilizzare la stessa ansa batteriologica.
3. Agitare bene prima di togliere l'ansa.
4. Chiudere la provetta e miscelare con vortex per omogeneizzare la preparazione.
5. Usare la pipetta di trasferimento fornita nel kit e aggiungere 100 µL di campione diluito nel pozzetto per campioni di ognuna delle due cassette etichettate (i) NDM, KPC e OXA-48 e (ii) IMP e VIM (il campione diluito deve raggiungere la linea nera indicata sulla pipetta di trasferimento per poter aspirare accuratamente 100 µL).
6. Attendere 15 minuti per consentire la reazione e leggere il risultato.

Test diagnostico rapido *in vitro* per la ricerca delle carbapenemasi OXA-48, KPC, NDM, VIM e IMP su colonia batterica

PER UTILIZZO DIAGNOSTICO *IN VITRO*

ESCLUSIVAMENTE PER USO PROFESSIONALE

Riferimenti: K-15R11, cassette 2x20, tampone, 20 provette e pipette di trasferimento

IT

I. INTRODUZIONE

I microrganismi produttori di carbapenemasi (CPO) e, più specificamente, le Enterobacteriaceae resistenti ai carbapenemi (CRE) sono un importante problema di salute pubblica in tutto il mondo a causa del loro ampio spettro di resistenza agli antibiotici tra cui, oltre ai carbapenemi, la maggior parte delle classi di agenti antimicrobici, che lascia pochissime opzioni per il trattamento dei pazienti infetti. Oltre alle CRE, i CPO includono anche bacilli gram-negativi non fermentanti (NFGNB), ad esempio *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, che mostrano resistenza non solo al beta lattame e ad altri gruppi di antibiotici, ma anche ai carbapenemi. La rapida diffusione dei CPO e dei geni che codificano queste resistenze ha causato la comparsa di focolai nosocomiali e situazioni endemiche in tutto il mondo.

Gli esperti internazionali e le autorità sanitarie ritengono prioritario ed essenziale lo sviluppo di test diagnostici rapidi per individuare i pattern di resistenza antimicrobica. NDM e KPC rappresentano due delle carbapenemasi più diffuse e in crescita in molti Paesi. D'altra parte, le carbapenemasi di classe D tipo OXA-48 sono i meccanismi di resistenza più impegnativi da rilevare dai laboratori clinici. VIM non solo è presente nelle Enterobacteriaceae, ma è anche molto diffusa nei batteri non fermentanti. Il tipo IMP deve essere considerato un potenziale problema, in quanto degrada non solo i C3G, ma anche i carbapenemi come Imipenem. La prevalenza di IMP è la più bassa, fatta eccezione per il Giappone, dove è prevalente.

Esistono test a conferma fenotipica basati sugli inibitori per la ricerca di carbapenemasi di classe A (KPC) e B (VIM, IMP, NDM); attualmente la conferma definitiva del meccanismo di resistenza ai CPO si basa su analisi molecolari. Questi test sono costosi e possono essere eseguiti solo in un ambiente dedicato e da personale qualificato, il che ne limita l'uso generalizzato.

O.K.N.V.I. Il test RESIST-5 fa parte della linea di test diagnostici per la resistenza antimicrobica RESIST di Coris BioConcept.

II. PRINCIPIO DEL TEST

Si tratta di test pronti all'uso basati su una tecnologia a membrana con nanoparticelle di oro colloidale. Il nostro kit è finalizzato alla rivelazione e all'identificazione delle carbapenemasi da una colonia batterica isolata di Enterobacteriaceae o NFGNB che crescono su una piastra di agar. Ogni sacchetto contiene: 2 cassette a flusso laterale per l'identificazione di (i) OXA-48, KPC, NDM e (ii) VIM e IMP.

Identificazione di OXA-48, KPC e NDM. La membrana di nitrocellulosa viene sensibilizzata con:

- (1) un anticorpo monoclonale diretto contro la carbapenemasi OXA-48 e varianti (a eccezione degli enzimi simil-OXA-163) (linea "O"),
- (2) un anticorpo monoclonale diretto contro la carbapenemasi KPC (linea "K"),
- (3) un anticorpo monoclonale diretto contro la carbapenemasi NDM (linea "N"),
- (4) un reagente di cattura di controllo (linea "C" superiore).

Quattro diversi coniugati di nanoparticelle d'oro colloidale sono essiccati su una membrana: un coniugato diretto contro un secondo epitopo della carbapenemasi OXA-48, un coniugato diretto contro un secondo epitopo della carbapenemasi KPC, un terzo coniugato specifico della carbapenemasi NDM e un coniugato di controllo per validare le condizioni di test.

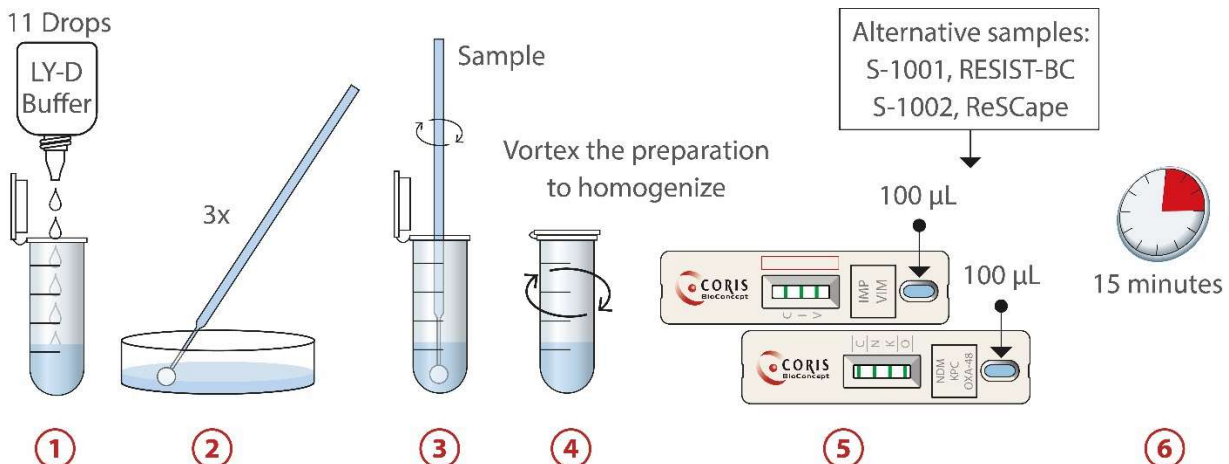
Identificazione di VIM e IMP. La membrana di nitrocellulosa viene sensibilizzata con:

- (1) un anticorpo monoclonale diretto contro la carbapenemasi VIM (linea "V"),
- (2) un anticorpo monoclonale diretto contro la carbapenemasi IMP (linea "I"),
- (3) un reagente di cattura di controllo (linea "C" superiore).

Tre diversi coniugati di nanoparticelle d'oro colloidale vengono essiccati su una membrana: un coniugato diretto contro la carbapenemasi VIM, un coniugato diretto contro la carbapenemasi IMP e un coniugato di controllo.

Quando il tampone fornito contenente i batteri risospesi viene a contatto con la membrana, i coniugati solubilizzati migrano con il campione per diffusione passiva, mentre i coniugati e il materiale del campione entrano in contatto con i rispettivi anticorpi immobilizzati che vengono adsorbiti sulla striscia di nitrocellulosa. Se il campione contiene una carbapenemasi OXA-48, KPC, NDM, VIM o IMP, i complessi costituiti dai coniugati e OXA-48 o KPC o NDM o VIM o IMP resteranno legati alle loro linee specifiche (OXA-48: linea "O"; KPC: linea "K"; NDM: linea "N", VIM: linea "V", IMP: linea "I"). La migrazione continua per diffusione passiva, e sia i coniugati sia il materiale del campione entrano in contatto con il reagente di controllo della linea (superiore) che si lega a un coniugato di controllo (linea "C"), producendo così una linea rossa.

Il risultato è visibile entro 15 minuti sotto forma di linee rosse sulla striscia.



I risultati possono essere interpretati come positivi non appena compaiono la linea del test e quella di controllo.

Non tenere in considerazione la comparsa di nuove linee una volta trascorso il tempo di reazione.

I risultati devono essere letti sulle strisce ancora bagnate.

IX. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati devono essere interpretati nel modo seguente per ognuna delle due cassette:

Risultato negativo: comparsa di una linea di colore rosso-violaceo nella finestra di lettura centrale, in corrispondenza della posizione della linea di controllo (C). Non sono presenti altre linee.

Risultato positivo: oltre a una linea rossastra-viola sulla linea di controllo (C), compare una linea rossastra-viola visibile in una delle posizioni delle linee di test ("N" o "K" o "O") sulla cassetta etichettata (i) NDM, KPC, OXA-48 o in una delle posizioni delle linee di test ("I" o "V") sulla cassetta etichettata (ii) IMP e VIM. L'intensità della linea di test può variare a seconda della quantità di antigene e del tipo di variante presente nel campione. Una qualsiasi linea di test di colore rossastro-viola (OXA-48, KPC, NDM, VIM e IMP), anche se debole, deve essere considerata un risultato positivo.

Se accanto al segno "O" compare una linea di test positiva, il campione contiene varianti OXA-48 o simil-OXA-48. Se invece compare accanto al segno "K", il campione contiene varianti KPC; accanto al segno "N", il campione contiene NDM; accanto al segno "V", il campione contiene VIM; e accanto al segno "I", nel campione è presente IMP. Il test può presentare combinazioni di più linee positive.

In questo caso il campione contiene diverse carbapenemasi.

Risultato non valido: l'assenza di una linea di controllo indica un errore nella procedura di test. Ripetere i test non validi utilizzando un nuovo kit.

Nota: durante l'asciugatura è possibile che appaia una assai debole ombreggiatura in corrispondenza della linea del test. Tale ombreggiatura non deve essere considerata indice di risultato positivo.

| Metodo molecolare | Positivo | Negativo | Totali |
|-------------------|----------|----------|--------|
| Test NDM | | | |
| Positivo | 40 | 0 | 40 |
| Negativo | 0 | 140 | 140 |
| Totali | 40 | 140 | 180 |

Intervallo di confidenza 95%¹

| | | |
|-----------------------------|------|-------------|
| Sensibilità: | 100% | (89,1-100%) |
| Specificità: | 100% | (96,7-100%) |
| Valore predittivo positivo: | 100% | (89,1-100%) |
| Valore predittivo negativo: | 100% | (96,7-100%) |
| Accuratezza: | 100% | (180/180) |

| Metodo molecolare | Positivo | Negativo | Totali |
|-------------------|----------|----------|--------|
| Test VIM | | | |
| Positivo | 43 | 0 | 43 |
| Negativo | 3 | 134 | 137 |
| Totali | 46 | 134 | 180 |

Intervallo di confidenza 95%¹

| | | |
|-----------------------------|-------|--------------|
| Sensibilità: | 93,5% | (81,1-98,3%) |
| Specificità: | 100% | (96,5-100%) |
| Valore predittivo positivo: | 100% | (89,8-100%) |
| Valore predittivo negativo: | 97,8% | (93,2-99,4%) |
| Accuratezza: | 98,3% | (177/180) |

| Metodo molecolare | Positivo | Negativo | Totali |
|-------------------|----------|----------|--------|
| Test IMP | | | |
| Positivo | 19 | 0 | 19 |
| Negativo | 0 | 161 | 161 |
| Totali | 19 | 161 | 180 |

Intervallo di confidenza 95%¹

| | | |
|-----------------------------|------|-------------|
| Sensibilità: | 100% | (79,1-100%) |
| Specificità: | 100% | (97,1-100%) |
| Valore predittivo positivo: | 100% | (79,1-100%) |
| Valore predittivo negativo: | 100% | (97,1-100%) |
| Accuratezza: | 100% | (180/180) |

Il kit O.K.N.V.I. RESIST-5 è stato convalidato anche con tamponi rettali e colture ematiche.

C. Ripetibilità e riproducibilità

Per controllare l'accuratezza intra-lotto (ripetibilità), gli stessi campioni positivi e una soluzione tampone sono stati testati per 15 volte su kit appartenenti allo stesso lotto di produzione nelle stesse condizioni sperimentali. Tutti i risultati osservati sono stati confermati come previsto.

Per controllare l'accuratezza inter-lotti (riproducibilità), alcuni campioni (positivi e tampone) sono stati testati su kit appartenenti a tre lotti di produzione diversi. Tutti i risultati sono stati confermati come previsto.

XI. LIMITI DEL KIT

Il test è qualitativo, pertanto non può essere utilizzato per valutare la quantità di antigeni presenti nel campione. Ai fini della diagnosi è necessario tenere in considerazione anche i dati clinici e altri risultati di laboratorio disponibili. Un test positivo non esclude la possibilità della presenza di altri meccanismi di resistenza agli antibiotici.

XII. PROBLEMI TECNICI / RECLAMI

In caso di problemi tecnici o di prestazioni difformi rispetto a quelle indicate in questo foglietto illustrativo:

1. Registrare il codice del lotto del kit in questione.
2. Se possibile, durante la gestione del reclamo tenere il campione nelle condizioni di conservazione appropriate.
3. Contattare Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) o il distributore locale.

Segnalare qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo sia al fabbricante che all'autorità competente dello Stato membro in cui l'utilizzatore e/o il paziente è stabilito.

XIII. BIBLIOGRAFIA

- J. Wesley MacDonald and V. Chibabhai** Evaluation of the RESIST-4 O.K.N.V immunochromatographic lateral flow assay for the rapid detection of OXA-48, KPC, NDM and VIM carbapenemases from cultured isolates *Access Microbiology* 2019;1
- T. Pilate, S. Desmet** Detection of carbapenemase production in *Pseudomonas aeruginosa* in a tertiary care centre Annual Meeting of the Royal Belgian Society of Laboratory Medicine November 15th, 2019 Belgium
- Oueslati S, Iorga BI, Tilili L, Exilie C, Zavala A, Dortet L, Jousset AB, Bernabeu S, Bonnin RA, Naas T.** Unravelling ceftazidime/avibactam resistance of KPC-28, a KPC-2 variant lacking carbapenemase activity. *J Antimicrob Chemother.* 2019 Aug 1;74(8):2239-2246
- Brolund A, Lagerqvist N, Byfors S, Struelens MJ, Monnet DL, Albiger B, Kohlenberg A.** Worsening epidemiological situation of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe, assessment by national experts from 37 countries, July 2018. *Euro Surveill.* 2019 Feb; 24(9) 1560-7917
- Oliveira J, Reygaert WC.** Gram Negative Bacteria. *StatPearls Publishing; 2019 Jan-2019*
- 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. *Clin Microbiol Infect.* 2019 Mar 18. pii: S1198-743X(19)30104-1
- Rösner S, Kamalanabhaiah S, Küsters U, Kolbert M, Pfennigwerth N, Mack D.** Evaluation of a novel immunochromatographic lateral flow assay for rapid detection of OXA-48, NDM, KPC and VIM carbapenemases in multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *J Med Microbiol.* 2019 Mar;68(3):379-381.
- Glupczynski Y, Evrard S, Huang TD, Bogaerts P.** Evaluation of the RESIST-4 K-SeT assay, a multiplex immunochromatographic assay for the rapid detection of OXA-48-like, KPC, VIM and NDM carbapenemases. *J Antimicrob Chemother.* 2019 Feb 6. doi: 10.1093

Ultimo aggiornamento 15 DICEMBRE 2022

| | | | |
|--|--|--|-----------------------|
| | Numero di catalogo | | Fabbricante |
| | Dispositivo medico per test diagnostici in vitro | | Limite di temperatura |
| | Contenuto sufficiente per <n> test | | Numero di lotto |
| | Consultare le istruzioni per l'uso | | Non riutilizzare |
| | Mantenere asciutto | | Utilizzare entro |
| | Diluente (campione) | | Contiene sodio azide |
| | Identificativo unico del dispositivo | | |

X. PRESTAZIONI

A. Limite di rivelazione

I limiti di rivelazione determinati per le proteine ricombinanti purificate di OXA-48, KPC, NDM, VIM e IMP sono stati valutati rispettivamente a 0,25 ng/mL, 0,5 ng/mL, 0,0625 ng/mL, 0,23 ng/mL e 0,781 ng/mL.

B. Studio retrospettivo

Le cassette per il test sono state convalidate confrontandole con il metodo molecolare di riferimento (PCR multiplex convalidata internamente, compreso il sequenziamento) nell'ambito di uno studio retrospettivo eseguito su 180 isolati clinici, non duplicati, consecutivi e che si presumeva fossero CPE, raccolti tra il 2012 e il 2021 in ospedali belgi.

| Metodo molecolare | Positivo | Negativo | Totali |
|--------------------|----------|----------|--------|
| Test OXA-48 | | | |
| Positivo | 41 | 0 | 41 |
| Negativo | 0 | 139 | 139 |
| Totali | 41 | 139 | 180 |

Intervallo di confidenza 95%¹

| | | |
|-----------------------------|------|-------------|
| Sensibilità: | 100% | (89,3-100%) |
| Specificità: | 100% | (96,6-100%) |
| Valore predittivo positivo: | 100% | (89,3-100%) |
| Valore predittivo negativo: | 100% | (96,7-100%) |
| Accuratezza: | 100% | (180/180) |

| Metodo molecolare | Positivo | Negativo | Totali |
|-------------------|----------|----------|--------|
| Test KPC | | | |
| Positivo | 24 | 0 | 24 |
| Negativo | 0 | 156 | 156 |
| Totali | 24 | 156 | 180 |

Intervallo di confidenza 95%¹

| | | |
|-----------------------------|------|-------------|
| Sensibilità: | 100% | (82,8-100%) |
| Specificità: | 100% | (97,0-100%) |
| Valore predittivo positivo: | 100% | (82,8-100%) |
| Valore predittivo negativo: | 100% | (97,0-100%) |
| Accuratezza: | 100% | (180/180) |

¹ Newcombe, Robert G. "Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods", *Statistics in Medicine*, 17, 857-872 (1998).