

RESIST ACINETO



www.corisbio.com
IFU-58R13/EN/04

Fabbricante:

Coris BioConcept
CREALYS Science Park
Rue Guillaume Fouquet, 11
5032 GEMBLOUX
BELGIO
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com
Prodotto in BELGIO

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.

III. REAGENTI E MATERIALI

1. RESIST ACINETO (20)

20 sacchetti sigillati contenenti una card per test e un agente essiccante. Ogni card per test contiene una striscia sensibilizzata.

2. Fiacone contenente il tampone LY-A (15 mL)

Soluzione salina tamponata a pH 7,5 contenente TRIS, Na₃ (<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 svolgersi 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.
- 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 i 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) raggiungano la 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 da seguire è quella descritta nei rispettivi kit (S-1002, ReSCape; 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 e aggiungere **6 gocce** di tampone LY-A.
2. Raccogliere i batteri prelevando **1 colonia** con un'ansa batteriologica monouso e immergerla in fondo alla provetta di raccolta che contiene il tampone.
3. Agitare bene prima di togliere l'ansa.
4. Chiudere la provetta e miscelare il preparato con agitatore a vortice per omogeneizzarlo.
5. Usare la pipetta di trasferimento e aggiungere 100 µL di campione diluito nel pozzetto per campioni della cassetta etichettata NDM, OXA-23 e OXA-40/58 (il campione diluito deve raggiungere la linea nera indicata sulla pipetta di trasferimento per poter aspirare accuratamente 100 µL).
6. Attendere al massimo 15 minuti per consentire la reazione e leggere il risultato.

Test diagnostico rapido *in vitro* per la ricerca delle carbapenemasi OXA-23, OXA-40, OXA-58 e NDM su coltura batterica.

PER UTILIZZO DIAGNOSTICO *IN VITRO*

ESCLUSIVAMENTE PER USO PROFESSIONALE

Riferimenti: K-15R13, 20 cassette, tampone, 20 provette e pipette di trasferimento



I. INTRODUZIONE

Acinetobacter baumannii è un importante batterio Gram-negativo opportunisto con resistenza multifarmaco responsabile di infezioni nosocomiali nelle strutture sanitarie. Se non trattata, questa infezione può portare alla setticemia e alla morte. Le oxacillinesi idrolizzanti i carbapenemi (OXA) sono i fattori determinanti la resistenza ai carbapenemi più comunemente riportati in *Acinetobacter* spp., in particolare in *A. baumannii*, e OXA-23 è il fattore con la maggiore prevalenza osservato in questi isolati. Si incontrano spesso anche OXA-40 (=24) e OXA-58, mentre altre OXA sono meno frequenti. Di recente sono emersi *Acinetobacter* spp. che ospitano OXA insieme a NDM, in particolare a causa di elementi genetici mobili che ospitano i geni codificanti NDM e OXA. Gli elementi genetici mobili (inclusi i plasmidi) costituiscono i serbatoi per la trasmissione orizzontale di questi fattori di resistenza. La ricerca di tali fattori, non solo nelle specie resistenti ma anche in quelle portatrici, è quindi di fondamentale importanza nel controllo della resistenza agli antibiotici in ambito ospedaliero.

Oggi, la conferma definitiva di OXA-23, OXA-40, OXA-58, altre OXA meno frequenti e NDM si basa sull'analisi con amplificazione molecolare e sul sequenziamento del DNA. Questi test sono costosi e possono essere eseguiti solo in un ambiente dedicato e da personale qualificato, il che ne limita l'uso generalizzato.

Gli esperti internazionali e le autorità sanitarie ritengono prioritario ed essenziale lo sviluppo di nuovi test diagnostici rapidi per individuare i pattern di resistenza antimicrobica.

Il test RESIST ACINETO, finalizzato a una rapida identificazione delle carbapenemasi OXA-23, OXA-40/58 e delle OXA e NDM correlate, assicura un trattamento efficace dei pazienti e la prevenzione della diffusione del portatore di carbapenemasi *Acinetobacter* spp., soprattutto negli ospedali.

II. PRINCIPIO DEL TEST

Si tratta di un test pronto all'uso basato 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.

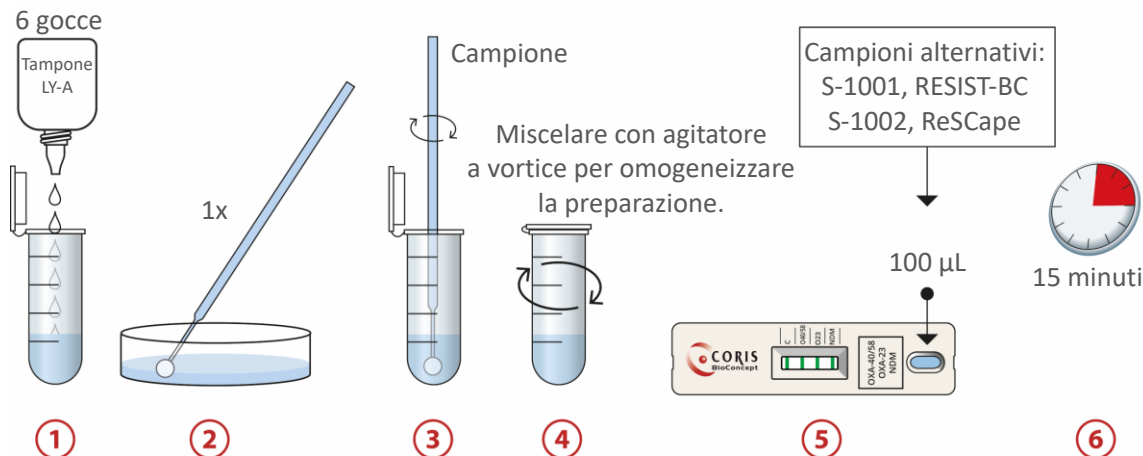
La membrana di nitrocellulosa viene sensibilizzata con:

- (1) un anticorpo monoclonale diretto contro la carbapenemasi NDM (linea "NDM"),
- (2) un anticorpo monoclonale diretto contro la carbapenemasi OXA-23 (linea "O23"),
- (3) un anticorpo monoclonale diretto contro le carbapenemasi OXA-40 e OXA-58 (linea "O40/58"),

- (4) un reagente di cattura di controllo (linea "C" superiore).

Diversi coniugati accoppiati a particelle d'oro colloidale sono essiccati su una membrana: un coniugato diretto contro un secondo epitopo della carbapenemasi NDM, un coniugato diretto contro un secondo epitopo della carbapenemasi OXA-23, un terzo coniugato specifico della carbapenemasi OXA-40, un quarto coniugato specifico della carbapenemasi OXA-58 e un coniugato di controllo per convalidare le condizioni di test. Questo test è finalizzato alla ricerca delle carbapenemasi NDM, OXA-23, OXA-40 e OXA-58 (e delle varianti correlate) su colonie di isolati di *Enterobacteriaceae* che crescono su una piastra di agar.

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 NDM, OXA-23, OXA-40 o OXA-58, i complessi costituiti dai coniugati e dai loro target specifici resteranno legati alle rispettive linee specifiche (NDM: linea "NDM"; OXA-23: linea "O23"; OXA-40 o OXA-58: linea "O40/58"). La migrazione continua per diffusione passiva e sia i coniugati sia il materiale del campione

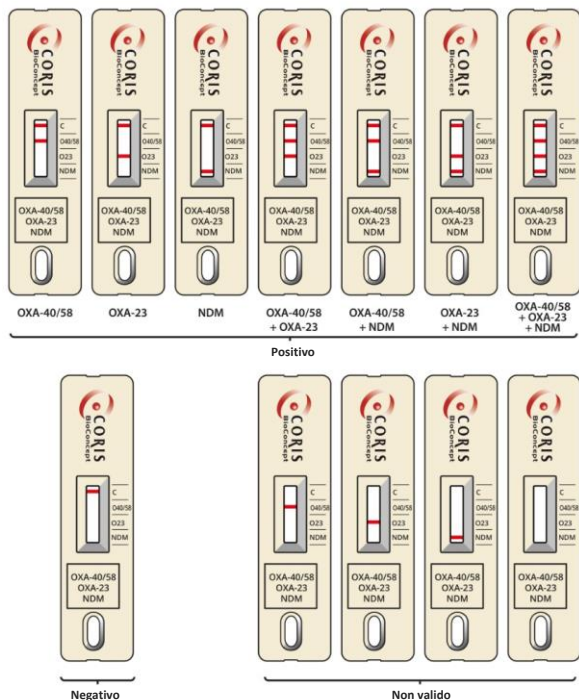


I risultati possono essere interpretati come positivi non appena compaiono la linea del test e quella di controllo.

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:

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

Risultato positivo: oltre alla linea di colore rosso-violaceo in corrispondenza della linea di controllo (C), compare un'altra linea dello stesso colore in corrispondenza di una delle posizioni della linea del test ("NDM" o "O23" o "O40/58") sulla cassetta.

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 del test di colore rosso-violaceo ("NDM", "O23" e "O40/58"), anche se poco intensa, deve essere considerata indice di risultato positivo.

Se accanto al segno "O40/58" compare una linea di test positiva, il campione contiene varianti di OXA-40 o OXA-58. Se compare accanto al segno "O23", il campione contiene OXA-23; se accanto al segno "NDM", il campione contiene NDM. 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 compaia una debolissima ombreggiatura in corrispondenza delle linee del test. Tale ombreggiatura non deve essere considerata indice di risultato positivo.

Il test RESIST ACINETO può generare risultati positivi sulla linea OXA-40/58 per altre famiglie correlate di OXA in *A. baumannii* e in specie di *Acinetobacter* non-*baumannii*, tra cui *A. pittii*. Questo è stato documentato per OXA-143 o varianti correlate (OXA-255, OXA-499 e simili) o OXA-213. Il segnale positivo dipende dall'omologia tra queste OXA e OXA-40 o OXA-58 e dal livello di espressione nel ceppo. È importante identificare l'*Acinetobacter* a livello di specie in parallelo all'esecuzione del test RESIST ACINETO e all'esecuzione dell'antibiogramma. Confermare una specie di *Acinetobacter* è importante perché OXA-23 e OXA-58 possono essere (raramente) presenti in *P. mirabilis* e in *E. coli*, senza alcun coinvolgimento terapeutico.

X. PRESTAZIONI

A. Limite di rivelabilità

I limiti di rivelabilità determinati per le proteine ricombinanti purificate di OXA-23, OXA-40, OXA-58 e NDM sono stati valutati rispettivamente a 1,5 ng/mL, 0,099 ng/mL, 0,104 ng/mL e 0,144 ng/mL.

B. Convalida della raccolta dei ceppi di riferimento

Il test RESIST ACINETO è stato valutato su una raccolta di 297 isolati clinici con meccanismi completamente caratterizzati di resistenza agli antibiotici β-lattamici mediante test fenotipici e molecolari (Germania).

Stato OXA-23			
RESIST ACINETO	Positivo	Negativo	Totali
Positivo	189	0	189
Negativo	2	106	108
Totali	191	106	297

Intervallo di confidenza 95%^H

Sensibilità: 99% (dal 95,9 al 99,8%)
Specificità: 100% (dal 95,6 al 100%)
 Valore predittivo positivo: 100% (dal 97,5 al 100%)
 Valore predittivo negativo: 98,1% (dal 92,8 al 99,7%)
 Accuratezza: 99,3% (295/297)

Stato OXA-40/58			
RESIST ACINETO	Positivo	Negativo	Totali
Positivo	100	3	103
Negativo	0	194	194
Totali	100	197	297

Intervallo di confidenza 95%^H

Sensibilità: 100% (dal 95,4 al 100%)
Specificità: 98,5% (dal 95,3 al 99,6%)
 Valore predittivo positivo: 97,1% (dal 91,1 al 99,2%)
 Valore predittivo negativo: 100% (dal 97,6 al 100%)
 Accuratezza: 99% (294/297)

Stato NDM			
RESIST ACINETO	Positivo	Negativo	Totali
Positivo	13	0	13
Negativo	0	284	284
Totali	13	284	297

Intervallo di confidenza 95%^H

Sensibilità: 100% (dal 71,7 al 100%)
Specificità: 100% (dal 98,3 al 100%)
 Valore predittivo positivo: 100% (dal 71,7 al 100%)
 Valore predittivo negativo: 100% (dal 98,3 al 100%)
 Accuratezza: 100% (297/297)

Il test RESIST ACINETO 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.

D. Varianti rilevate dal test RESIST

Un elenco delle varianti segnalate in letteratura come rilevate è disponibile alla pagina delle domande frequenti sul sito web di Coris BioConcept <https://www.corisbio.com/faq/>

L'elenco non è esaustivo di tutte le varianti enzimatiche che il test RESIST può rilevare.

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 conservare il campione nelle condizioni di conservazione appropriate.
3. Contattare Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) o il distributore locale.

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui risiede l'utilizzatore e/o il paziente.

XIII. BIBLIOGRAFIA

- Alatraqchi AG, Mohd Rani F, A Rahman NI, Ismail S, Cleary DW, Clarke SC, Yeo CC.** Complete Genome Sequencing of *Acinetobacter baumannii* AC1633 and *Acinetobacter nosocomialis* AC1530 Unveils a Large Multidrug-Resistant Plasmid Encoding the NDM-1 and OXA-58 Carbapenemases. *mSphere*. 2021 Jan 27;6(1):e01076-20
- Chen Y, Guo P, Huang H, Huang Y, Wu Z, Liao K.** Detection of co-harboring OXA-58 and NDM-1 carbapenemase producing genes resided on a same plasmid from an *Acinetobacter pittii* clinical isolate in China. *Iran J Basic Med Sci*. 2019 Jan;22(1):106-111
- AlAmri AM, AlQurayan AM, Sebastian T, AlNimer AM.** Molecular Surveillance of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Curr Microbiol*. Mar 2020; 77(3):335-342
- Kumar S, Patil PP, Singhal L, Ray P, Patil PB, Gautam V.** Molecular epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates reveals the emergence of blaOXA-23 and blaNDM-1 encoding international clones in India. *Infect Genet Evol*. 2019 Nov;75:103986
- Ogbolu DO, Alii OAT, Oluwemi AS, Ogunjimi YT, Ojebode DI, Dada V, Alaka OO, Foster-Nyarko E, Webber MA.** Contribution of NDM and OXA-type carbapenemases to carbapenem resistance in clinical *Acinetobacter baumannii* from Nigeria. *Infect Dis (Lond)*. Set 2020; 52(9):644-650
- Musila L, Kyany'a C, Maybank R, Stam J, Oundo V, Sang W.** Detection of diverse carbapenem and multidrug resistance genes and high-risk strain types among carbapenem non-susceptible clinical isolates of target gram-negative bacteria in Kenya. *PLoS One*. 2021 Feb 22;16(2):e0246937
- Monnheimer M, Cooper P, Amegbletor HK, Pello T, Groß U, Pfeifer Y, Schulze MH.** High Prevalence of Carbapenemase-Producing *Acinetobacter baumannii* in Wound Infections, Ghana, 2017/2018. *Microorganisms*. 2021 Mar 5;9(3):537.
- Newcombe, Robert G.** "Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods." *Statistics in Medicine*, 17, 857-872 (1998).

Data ultimo aggiornamento: 12 febbraio 2024

REF	Numero di catalogo		Fabbricante
IVD	Dispositivo medico per test diagnostici in vitro		Limite di temperatura
	Contenuto sufficiente per <n> test	LOT	Numero di lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso		Non riutilizzare
	Mantenere asciutto		Utilizzare entro
DIL SPE	Diluite (campione)	CONT Na ₂ S	Contiene sodio azide
UDI	Identificativo unico del dispositivo		