

# RESIST-3 O.K.N. K-Set



www.corisbio.com  
IFU-58R5/IT/06

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

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

PER UTILIZZO DIAGNOSTICO *IN VITRO*  
ESCLUSIVAMENTE PER USO PROFESSIONALE

Riferimenti: K-15R5, 20 cassette, tampone, 20 provette e pipette di trasferimento

### I. INTRODUZIONE

I microrganismi produttori di carbapenemasi (CPO) e più in particolare 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 che include anche, oltre ai carbapenemi, la maggior parte delle classi di agenti antimicrobici, lasciando 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 o dei geni che codificano queste resistenze ha causato la comparsa di focolai nosocomiali e situazioni endemiche in diversi paesi in Europa e in tutto il mondo.

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. 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 rappresentano il meccanismo di resistenza più impegnativo da rivelare per i laboratori clinici. Una rapida individuazione di queste carbapenemasi è di essenziale importanza per migliorare la terapia somministrata ai pazienti e il controllo della diffusione di questa forma antibiotico-resistente nei nosocomi.

Esistono già test fenotipici di conferma che utilizzano dischi combinati con inibitori specifici per individuare tipi selezionati di carbapenemasi, tra cui le carbapenemasi di classe A (KPC) e di classe B (VIM, IMP, NDM); tuttavia, questi test richiedono molto tempo e necessitano di un giorno in più dopo i risultati dei test di sensibilità antimicrobica. Inoltre, i saggi fenotipici colorimetrici in alcuni casi non sono abbastanza sensibili per la rivelazione delle carbapenemasi con basso livello di espressione come OXA-48. Anche alcuni saggi molecolari basati su formati diversi permettono la rivelazione delle carbapenemasi. Questi test sono costosi e possono essere eseguiti solo in un ambiente dedicato e da personale qualificato, il che ne limita l'uso generalizzato.

### 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 delle carbapenemasi da una singola colonia batterica isolata di Enterobacteriaceae o NFGNB che crescono su una piastra di agar.

**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.

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, i rispettivi complessi costituiti dai coniugati e OXA-48 o KPC o NDM resteranno legati alle loro rispettive linee specifiche (OXA-48: linea "O"; KPC: linea "K"; NDM: linea "N"). 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.

### III. REAGENTI E MATERIALI

#### 1. RESIST-3 O.K.N. K-Set (20)

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

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

Soluzione salina tamponata a pH 7,5 contenente TRIS, NaN<sub>3</sub> (<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) 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).

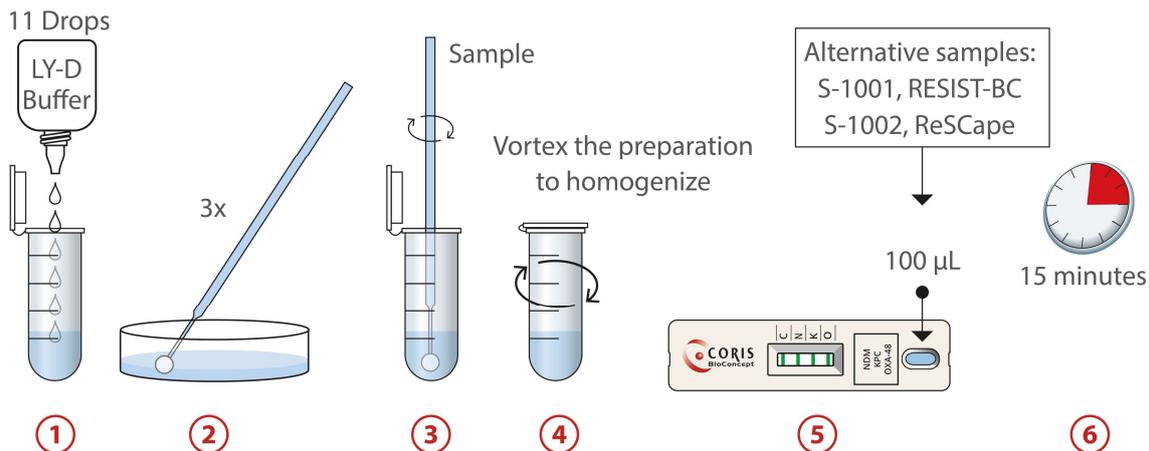
#### PROCEDURA DI PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

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 deve essere eseguita 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.
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 della cassetta etichettata OXA-48, KPC, NDM (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.



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:

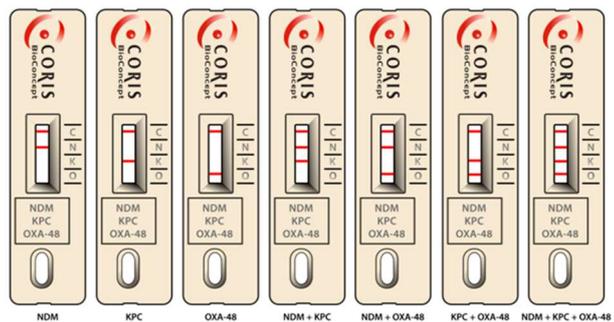
**Risultato negativo:** comparsa di una banda di colore rosso-violaceo nella finestra di lettura centrale, in corrispondenza della posizione della linea di controllo (C). Non sono presenti altre bande.

**Risultato positivo:** oltre alla banda di colore rosso-violaceo in corrispondenza della linea di controllo (C), compare un'altra banda dello stesso colore in corrispondenza di una delle posizioni della linea del test (OXA-48, KPC o NDM). 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 rosso-violaceo (OXA-48, KPC o NDM), anche se debole, deve essere considerata un risultato positivo.

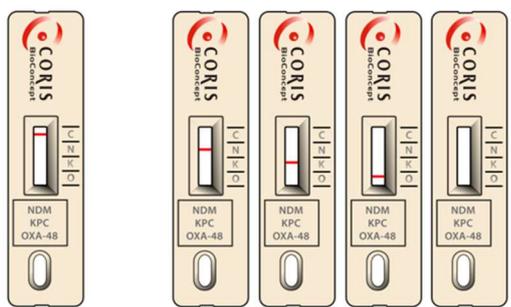
Se l'unica linea del test positiva è la linea O, il campione contiene OXA-48 o una variante simil-OXA-48. Se l'unica linea del test positiva è la linea K, il campione contiene KPC. Se l'unica linea del test positiva è la linea N, il campione contiene NDM. Il test può presentare combinazioni di più linee positive. In questo caso il campione contiene una combinazione di numerose 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.



Positivo



Negativo

Non valido

## X. PRESTAZIONI

### A. Limite di rivelabilità

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

### B. Studio retrospettivo (basato su O.K.N.V.I. RESIST-5)

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. I dati prestazionali sono presentati rispetto ai tre target di carbapenemasi del kit:

Metodo molecolare	Positivo	Negativo	Totali
<b>Test OXA-48</b>			
Positivo	41	0	41
Negativo	0	139	139
<b>Totali</b>	<b>41</b>	<b>139</b>	<b>180</b>

Intervallo di confidenza 95%<sup>1</sup>

<b>Sensibilità:</b>	100%	(89,3-100%)
<b>Specificità:</b>	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
<b>Test KPC</b>			
Positivo	24	0	24
Negativo	0	156	156
<b>Totali</b>	<b>24</b>	<b>156</b>	<b>180</b>

Intervallo di confidenza 95%<sup>1</sup>

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

Metodo molecolare	Positivo	Negativo	Totali
<b>Test NDM</b>			
Positivo	40	0	40
Negativo	0	140	140
<b>Totali</b>	<b>40</b>	<b>140</b>	<b>180</b>

Intervallo di confidenza 95%<sup>1</sup>

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

Il kit RESIST-3 O.K.N. K-SeT 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 conservare il campione nelle condizioni di conservazione appropriate.
3. Contattare Coris BioConcept ([client\\_care@corisbio.com](mailto: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

- DW Wareham e MH Abdul Momin.** Rapid Detection of Carbapenemases in Enterobacteriaceae: Evaluation of the RESIST-3 O.K.N (OXA-48, KPC, NDM) Multiplexed Lateral Flow Assay. J Clin Microbiol. 1 Feb 2017. pii: JCM.02471-16
- E Rubio, Y Zboromyrska, C Pitart, I Campo, I Alejo-Cancho, A Fasanella, A Vergara, F Marco, J Vila.** Evaluation of a rapid immunochromatographic test for the detection of OXA-48 carbapenemase. Diagn Microbiol Infect Dis. Mar 2017; 87(3):266-267
- F Koroska, S Göttig, M Kaese, J Steinmann, S Gatermann, J Sommer, T Wille, G Plum, A Hamprecht.** Comparison of phenotypic tests and an immunochromatographic assay and development of a new algorithm for OXA-48-like detection. J Clin Microbiol. 28 Dic 2016. Pii: JCM.01929-16
- F Pasteran, L Denorme, I Ote, S Gomez, D De Belder, Y Glupczynski, P Bogaerts, B Ghiglione, P Power, P Mertens, A Corso.** Rapid identification of OXA-48 and OXA-163 subfamily in carbapenem resistant gram-negative bacilli with a novel immunochromatographic lateral flow assay. J Clin Microbiol. Ago 2016; 54(11):2832-2836
- D. Meunier, A. Vickers, R. Pike, R.L. Hill, N. Woodford e K.L. Hopkins.** Evaluation of the K-SeT R.E.S.I.S.T. immunochromatographic assay for the rapid detection of KPC and OXA-48-like carbapenemases. J Antimicrob Chemother. Ago 2016; 71(8):2357-9
- Wareham DW, Shah R, Betts JW, Phee LM, Abdul Momin MH.** Evaluation of an Immunochromatographic Lateral Flow Assay (OXA-48 K-SeT) for the Rapid Detection of OXA-48-like Carbapenemases in Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol. Feb 2016; 54(2):471-3
- Fernández J, Fleites A, Roldán MR, Vazquez F.** Evaluation of OXA-48 K-Se T: an immunochromatographic assay for rapid detection of OXA-48-producing Enterobacteriaceae. Diagn Microbiol Infect Dis. Mag 2016; 85(1):12-5
- Dortet L, Jousset A, Sainte-Rose V, Cuzon G, Naas T.** Prospective evaluation of the OXA-48 K-SeT assay, an immunochromatographic test for the rapid detection of OXA-48-type carbapenemases. J Antimicrob Chemother. Lug 2016; 71(7):1834-40
- Glupczynski Y, Evrard S, Ote I, Mertens P, Huang TD, Leclipteux T, Bogaerts P.** Evaluation of two new commercial immunochromatographic assays for the rapid detection of OXA-48 and KPC carbapenemases from cultured bacteria. J Antimicrob Chemother. Mag 2016; 71(5):1217-22
- A. Abulaila, F. Erdem, Z. Aktas and O. Oncul.** Evaluation Comparison of a novel OXA-48 K-SeT test and blue-carba test in detection of carbapenemase-producing enterobacteriaceae with using PCR as reference method. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam, 09-12 Aprile 2016
- C.S. Nodari, A. Barth, C. Magagnin, A. Zavascki, A. Gales, C. Carvalhaes.** OXA-370 is rapidly detected from different culture media using OXA-48 K-SeT® immunochromatography. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam, 09-12 Aprile 2016
- P. Bogaerts, S. Evrard, G. Cuzon, TD. Huang, T. Naas e Y. Glupczynski.** Specificity of the OXA-48 immunochromatographic K-SeT for the detection of OXA-48 like in *Shewanella* spp. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Infectious Amsterdam, 09-12 Aprile 2016
- L. Dortet, A. Jousset, V. Sainte-Rose, G. Cuzon e T. Naas.** Prospective evaluation of the OXA-48 K-SeT for the detection of OXA-48-type carbapenemase producing Enterobacteriaceae. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam, 09-12 Aprile 2016
- P. Bogaerts, S. Evrard, M. Dozen, TD. Huang e Y. Glupczynski.** Impact of the isolation medium for the detection of OXA-48 and KPC-producing Gram negative bacteria by immunochromatographic assays. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam, 09-12 Aprile 2016

Ultimo aggiornamento 15 DICEMBRE 2022

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

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