

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



www.corisbio.com  
IFU-58R11/PL/03

Wytwórca:

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

Wyprodukowano w BELGII

## Szybki test diagnostyczny *in vitro* do wykrywania karbapenemazy OXA-48, KPC, NDM, VIM i IMP w hodowli bakteryjnej

### DO DIAGNOSTYKI *IN VITRO*

#### WYŁĄCZNIE DO UŻYTKU PROFESJONALNEGO

Odnośniki: K-15R11, 2x20 kaset, bufor, 20 próbek i pipety transferowe

#### I. WSTĘP

Organizmy wytwarzające karbapenemazy (CPO), a dokładniej odporne na karbapenemy Enterobacteriaceae (CRE) stanowią poważny problem zdrowia publicznego na całym świecie ze względu na ich szerokie spektrum oporności na antybiotyki, w tym, oprócz karbapenemów, na większość klas środków przeciwdrobnoustrojowych, a tym samym pozostawiają bardzo niewiele opcji leczenia zakażonych pacjentów. Oprócz CRE, CPO obejmują również niefermentujące pałeczki Gram-ujemne (NFGNB), takie jak *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*, które wykazują oporność nie tylko na antybiotyki betalaktamowe i na inne grupy antybiotyków, ale także na karbapenemy. Szybkie rozprzestrzenianie się CPO i genów kodujących te oporności doprowadziło do wybuchów epidemii w szpitalach i sytuacji endemicznych na całym świecie.

Rozwój nowych szybkich testów diagnostycznych do śledzenia wzorców oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe jest uważany przez międzynarodowych ekspertów i organy służby zdrowia za jedno z priorytetowych działań podstawowych. NDM i KPC reprezentują dwie najbardziej rozpowszechnione karbapenemazy w wielu krajach. Z drugiej strony, karbapenemazy klasy D typu OXA-48 są najtrudniejszymi mechanizmami oporności wykrywanymi przez laboratoria kliniczne. VIM występuje nie tylko w Enterobacteriaceae, ale jest również bardzo rozpowszechniona w bakteriach niefermentujących. IMP należy traktować jako potencjalny problem, ponieważ degradują one nie tylko C3G, ale także karbapenemowy lek przeciwdrobnoustrojowy, taki jak Imipenem. Częstość występowania IMP jest najniższa, z wyjątkiem Japonii, gdzie jest bardziej rozpowszechniona.

Istnieją fenotypowe testy potwierdzające oparte na inhibitorach w celu potwierdzenia obecności karbapenemazy klasy A (KPC) i klasy B (VIM, IMP, NDM). Obecnie ostateczne potwierdzenie mechanizmu oporności na CPO opiera się na testach molekularnych. Testy te są drogie i mogą być wykonywane tylko w dedykowanym środowisku i przez wykwalifikowany personel, co ogranicza ich bardziej ogólne zastosowanie.

O.K.N.V.I. Test RESIST-5 jest częścią gamy testów diagnostycznych oceniających oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe Coris BioConcept RESIST.

#### II. ZASADA TESTÓW

Testy te są gotowe do użycia i opierają się na technologii membranowej z nanocząsteczkami złota koloidalnego. Nasz zestaw jest przeznaczony do wykrywania i identyfikacji karbapenemazy z izolatu kolonii bakteryjnej Enterobacteriaceae lub NFGNB wyhodowanych na płycie agarowej. Każdy woreczek zawiera: 2 kasety z przepływem bocznym do identyfikacji (i) OXA-48, KPC, NDM oraz (ii) VIM i IMP.

**Identyfikacja OXA-48, KPC i NDM.** Membrana nitrocelulozowa jest uwrażliwiona:

- (1) przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko karbapenemazie OXA-48 i jej wariantom (z wyjątkiem enzymów podobnych do OXA-163) (linia „O”)
- (2) przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko karbapenemazie KPC (linia „K”)
- (3) przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko karbapenemazie NDM (linia „N”)
- (4) odczynnikiem do wychwytywania kontrolnego (górną linią „C”).

Cztery różne koniugaty nanocząstek koloidalnego złota suszy się na membranie: koniugat skierowany przeciwko drugiemu epitopowi karbapenemazy OXA-48, koniugat skierowany przeciwko drugiemu epitopowi karbapenemazy KPC, trzeci koniugat specyficzny dla karbapenemazy NDM i koniugat kontrolny do zwalidowania warunków testowych.

**Identyfikacja VIM i IMP.** Membrana nitrocelulozowa jest uwrażliwiona:

- (1) przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko karbapenemazie VIM (linia „V”)
- (2) przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko karbapenemazie IMP (linia „I”)
- (3) odczynnikiem do wychwytywania kontrolnego (górną linią „C”).

Trzy różne koniugaty nanocząstek koloidalnego złota suszy się na membranie: koniugat skierowany przeciwko karbapenemazie VIM, koniugat skierowany przeciwko karbapenemazie IMP i koniugat kontrolny.

Gdy dostarczony bufor zawierający ponownie zawieszone bakterie wejdzie w kontakt z membraną, rozpuszczone koniugaty migrują z próbką poprzez dyfuzję bierną, podczas gdy koniugaty i materiał próbki wchodzi w kontakt z unieruchomionymi odpowiednimi przeciwciałami, które są adsorbowane na pasku nitrocelulozy. Jeśli próbka zawiera karbapenemazę OXA-48, KPC, NDM, VIM lub IMP, odpowiednie kompleksy złożone z koniugatami i OXA-48 lub KPC lub NDM lub VIM lub IMP pozostaną związane z ich odpowiednimi

specyficznymi liniami (OXA-48 : linią „O”; KPC : linią „K”; NDM : linią „N”, VIM : linią „V”, IMP : linią „I”). Migracja jest kontynuowana poprzez dyfuzję bierną i zarówno koniugaty, jak i materiał próbki wchodzi w kontakt z odczynnikami kontrolnymi (górną linią), który wiąże koniugat kontrolny (linia „C”), tworząc w ten sposób czerwoną linię. Rezultat widoczny jest w ciągu 15 minut w postaci czerwonych linii na pasku.

### III. ODCZYNNIKI I MATERIAŁY

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

20 szczelnych woreczków zawierających dwie kasety z przepływem bocznym i jeden środek osuszający.

Każda kasetka zawiera jeden uwrażliwiony pasek.

#### 2. Fiolka z buforem LY-D (7 mL)

Roztwór Tris-EDTA zawierający NaNS (<0,1%) i detergent.

#### 3. Instrukcja użytkownika (1)

#### 4. Jednorazowe próbówki (20)

#### 5. Jednorazowe pipety transferowe (20)

Materiały zamawiane osobno:

- RESIST-BC (S-1001): zestaw odczynników do posiewu krwi
- ReSCape (S-1002): zestawy odczynników do użyciu z wymazem z odbytu

### IV. SPECJALNE ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wszystkie operacje związane z użyciem testu muszą być wykonywane zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną.

- Wszystkie odczynniki są przeznaczone wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

- Woreczek należy otwierać ostrożnie.

- Unikać dotykania nitrocelulozy palcami..

- Podczas pracy z próbkami należy nosić rękawiczki.

- Nigdy nie należy używać odczynników z innego zestawu.

- Zielone linie wskazują miejsca adsorpcji odczynników immunologicznych. Podczas testu kolor zielony znika.

- Jakość odczynników nie może być zagwarantowana po upływie ich terminu ważności lub jeśli odczynniki nie są przechowywane w wymaganych warunkach wskazanych w ulotce.

### V. UTYLIZACJA ODPADÓW

- Rękawiczki, waciki, próbówki i zużyte urządzenia należy utylizować zgodnie z DPL.

- Każdy użytkownik jest odpowiedzialny za gospodarowanie wszelkimi wytworzonymi odpadami i musi zapewnić ich utylizację zgodnie z obowiązującymi przepisami.

### VI. PRZECHOWYWANIE

- Nieotwarty woreczek można przechowywać w temperaturze od 4 i 30°C i użyć do daty przydatności do użycia wskazanej na opakowaniu. Po otwarciu woreczka należy natychmiast przeprowadzić test.

- Unikać zamrażania urządzeń i bufora.

### VII. PRZECHOWYWANIE I POBIERANIE PRÓBEK

Próbki do badań powinny być pozyskiwane i obsługiwane z użyciem standardowych metod mikrobiologicznych.

Należy upewnić się, że próbki nie są traktowane roztworami zawierającymi formaldehyd lub jego pochodne.

Pożytki zbadane i zweryfikowane z pomocą zestawów Coris BioConcept RESIT są wyszczególnione na stronie: <https://www.corisbio.com/products/oknvi-resist-5/faq>

### VIII. PROCEDURA

#### PRZYGOTOWANIE DO TESTU:

Przed wykonaniem testu należy pozostawić składniki zestawu w nieotwartym opakowaniu i próbki (w przypadku, gdy płytka zawierająca badaną kolonię była przechowywana w temperaturze 4°C) do zrównoważenia w temperaturze pokojowej (15-30°C).

Otworzyć woreczek i wyjąć urządzenie. Po otwarciu woreczka należy natychmiast przeprowadzić test. Wskazać nazwisko pacjenta lub numer próbki na urządzeniu (jedno urządzenie na próbkę).

#### PROCEDURA PRZYGOTOWANIA PRÓBEK:

Dla wymazów z odbytu i posiewów krwi zostały ustalone oświadczenia dotyczące wydajności w odniesieniu do typów próbek innych niż kolonie bakteryjne.

W przypadku wymazów z odbytu i posiewów krwi należy postępować zgodnie z procedurą przygotowania opisaną dla odpowiednich zestawów (S-1002, ReSCape i S-1001, RESIST-BC) W przypadku kolonii bakteryjnych zalecamy stosowanie świeżych kultur agarowych w celu uzyskania optymalnej wydajności testu oraz w następujący sposób:

1. Przygotować jedną próbkę zbiorczą i dodać do próbki 11 kropli bufora LY-D.
2. Pobrać bakterie, pobierając 3 kolonie jednorazową eżą bakteriologiczną i zanurzyć eżę na dnie próbki zawierającej bufor. Tej samej eży bakteriologicznej można użyć do pobrania 3 kolonii.
3. Przed usunięciem eży dokładnie wymieszać.
4. Worteksować preparat do osiągnięcia homogenizacji
5. Użyć pipety transferowej dostarczonej w zestawie i dodać 100 µl rozcieńczonej próbki do studzienki na próbce każdej z dwóch kaset oznaczonych (i) NDM, KPC i OXA-48 oraz (ii) IMP i VIM (rozcieńczona próbka musi osiągnąć czarną linię wskazaną na pipecie transferowej, aby dokładnie zaaspirować 100 µL).
6. Pozostawić na 15 minut i odczytać wynik.



Wyniki dodatnie można zgłaszać, gdy tylko widoczne będą linie testowe i kontrolne.  
**Nie należy brać pod uwagę pojawienia się nowych linii po upływie czasu reakcji.**  
**Wynik należy odczytać na jeszcze mokrym pasku.**

**IX. INTERPRETACJA WYNIKÓW**

Wyniki należy interpretować w następujący sposób dla każdej z dwóch kaset:

**Ujemny wynik testu:** czerwono-fioletowa linia pojawia się w poprzek środkowego okienka odczytu w pozycji linii kontrolnej (C). Żadna inna linia nie jest obecna.

**Dodatni wynik testu:** oprócz czerwono-fioletowej linii na linii kontrolnej (C), widoczna czerwono-fioletowa linia pojawia się w jednej z pozycji linii testowych („N” lub „K” lub „O”) na kasie oznaczonej (i) NDM, KPC, OXA-48 lub w jednej z pozycji linii testowych („I” lub „V”) na kasie oznaczonej (ii) IMP i VIM. Intensywność linii testowej może się różnić w zależności od ilości antygenów, a także rodzaju wariantu obecnego w próbce. Każda czerwono-fioletowa linia testowa (OXA-48, KPC, NDM, VIM i IMP), nawet słaba, powinna być uznana za wynik dodatni.

Jeśli obok znaku „O” pojawi się dodatnia linia testowa, próbka zawiera warianty podobne do OXA-48 lub OXA-48. Jeśli pojawia się obok znaku „K”, próbka zawiera warianty KPC; obok znaku „N” próbka zawiera NDM; obok znaku „V”, próbka zawiera VIM; a obok znaku „I” w próbce obecna jest IMP. Mogą wystąpić kombinacje dodatnich linii testowych.

W tym przypadku próbka zawiera kilka karbapenemaz.

**Nieważny wynik testu:** Brak linii kontrolnej wskazuje na niepowodzenie procedury testowej. Należy powtórzyć nieważne testy z nowym urządzeniem testowym.

Uwaga: podczas procesu suszenia na pozycjach linii testowej może pojawić się bardzo słaby cień. Nie należy tego traktować jako wyniku dodatniego.

Metoda molekularna	Dodatni	Ujemny	Razem
Test NDM			
Dodatni	31	0	31
Ujemny	3	130	133
Razem	34	130	164

		95% przedział ufności 1
Czułość:	91,2 %	(75,2 do 97,7 %)
Swoistość:	100 %	(96,4 do 100 %)
Dodatnia wartość przewidywania:	100 %	(86,3 do 100 %)
Ujemna wartość przewidywania:	97,7 %	(93,0 do 99,4 %)
Zgodność:	98,2 %	(161/164)

Metoda molekularna	Dodatni	Ujemny	Razem
Test VIM			
Dodatni	36	0	36
Ujemny	4	124	128
Razem	40	124	164

		95% przedział ufności 1
Czułość:	90 %	(75,4 do 96,7 %)
Swoistość:	100 %	(96,3 do 100 %)
Dodatnia wartość przewidywania:	100 %	(88,0 do 100 %)
Ujemna wartość przewidywania:	96,9 %	(91,7 do 99,0 %)
Zgodność:	97,6 %	(160/164)

Metoda molekularna	Dodatni	Ujemny	Razem
Test IMP			
Dodatni	16	0	16
Ujemny	3	145	148
Razem	19	145	164

		95% przedział ufności 1
Czułość:	84,2 %	(59,5 do 95,8 %)
Swoistość:	100 %	(96,8 do 100 %)
Dodatnia wartość przewidywania:	100 %	(75,9 do 100 %)
Ujemna wartość przewidywania:	98,0 %	(93,7 do 99,5 %)
Zgodność:	98 %	(161/164)

O.K.N.V.I. Zestaw RESIST-5 został również zweryfikowany przy użyciu wymazów z odbytu i posiewów krwi.

**C. Powtarzalność i odtwarzalność**

Aby sprawdzić dokładność wewnątrz partii (powtarzalność), te same próbki dodatnie i roztwór buforowy poddano obróbce 15 razy na zestawach z tej samej partii produkcyjnej w tych samych warunkach doświadczalnych. Wszystkie zaobserwowane wyniki zostały potwierdzone zgodnie z oczekiwaniami.

Aby sprawdzić dokładność między partiami (odtwarzalność), niektóre próbki (pozytywne i buforowe) poddano obróbce na zestawach z trzech różnych partii produkcyjnych. Wszystkie wyniki zostały potwierdzone zgodnie z oczekiwaniami.

**XI. OGRANICZENIA ZESTAWU**

Test jest jakościowy i nie pozwala przewidzieć ilości antygenów obecnych w próbce. W celu ustalenia diagnozy należy wziąć pod uwagę obraz kliniczny i inne wyniki badań. Dodatni wynik testu nie wyklucza możliwości występowania innych mechanizmów oporności na antybiotyki.

**XII. PROBLEMY TECHNICZNE / REKLAMACJE**

W przypadku napotkania problemu technicznego lub jeśli wydajności nie odpowiadają tym wskazanym w tej ulotce dołączonej do opakowania:

- Należy zapisać numer partii danego zestawu.
- Jeśli to możliwe, podczas rozpatrywania reklamacji próbkę należy przechowywać w odpowiednim stanie.
- Proszę skontaktować się z Coris BioConcept ([client.care@corisbio.com](mailto:client.care@corisbio.com)) lub z lokalnym dystrybutorem.

**XIII. ODNIIESIENIA BIBLIOGRAFICZNE**

- A. 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
- B. 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 15 listopada 2019 Belgia
- C. 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. 1 sierpnia 2019;74(8):2239-2246
- D. 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, lipiec 2018. Euro Surveill. Luty 2019; 24 (9) 1560-7917
- E. Oliveira J, Reygaert WC. Gram Negative Bacteria. StatPearls Publishing; 2019 Styczeń-2019
- F. 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 Enterobacterales with proposal of a new algorithm. Clin Microbiol Infect. 18 marca 2019. pii: S1198-743X(19)30104-1
- G. Rösner S, Kamalanabhai 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. Marzec 2019;68(3):379-381.
- H. 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. 6 lutego 2019. doi: 10,1093

**X. WYDAJNOŚĆ**

**A. Granica wykrywalności**

Granica wykrywalności określona dla oczyszczonych rekombinowanych białek OXA-48, KPC, NDM, VIM i IMP została oceniona odpowiednio na 0,25 ng/mL, 0,5 ng/mL, 0,0625 ng/mL, 0,23 ng/mL i 0,781 ng/mL.

**B. Badanie retrospektywne**

Kasety testowe zostały zwalidowane przez porównanie z referencyjną metodą molekularną (zwalidowane wewnętrznie multipleksowe PCR, w tym sekwencjonowanie) w badaniu retrospektywnym przeprowadzonym na 164 niepowielonych, kolejnych izolatach klinicznych z podejrzeniem CPE, pobranych w latach 2013 i 2018 z 78 belgijskich szpitali. Dane dotyczące wydajności są przedstawione w odniesieniu do całkowitych docelowych karbapenemaz:

Metoda molekularna	Dodatni	Ujemny	Razem
Test OXA-48			
Dodatni	40	0	40
Ujemny	0	124	124
Razem	40	124	164

		95% przedział ufności 1
Czułość:	100 %	(89,1 do 100 %)
Swoistość:	100 %	(96,3 do 100 %)
Dodatnia wartość przewidywania:	100 %	(89,1 do 100 %)
Ujemna wartość przewidywania:	100 %	(96,3 do 100 %)
Zgodność:	100 %	(164/164)

Metoda molekularna	Dodatni	Ujemny	Razem
Test KPC			
Dodatni	25	0	25
Ujemny	0	139	139
Razem	25	139	164

		95% przedział ufności 1
Czułość:	100 %	(83,4 do 100 %)
Swoistość:	100 %	(96,6 do 100 %)
Dodatnia wartość przewidywania:	100 %	(83,4 do 100 %)
Ujemna wartość przewidywania:	100 %	(96,6 do 100 %)
Zgodność:	100 %	(164/164)

Ostatnia aktualizacja23 MAJA 2022

REF	Numer katalogowy		Wytwórca
IVD	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro		Granice temperatury
	Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów	LOT	Kod partii
	Należy zapoznać się z instrukcją użytkowania		Nie używać ponownie
	Chronić przed wilgocią		Zużyć do
DIL SPE	Próbka rozcieńczająca	CONT NaN <sub>3</sub>	Zawiera azydek sodu

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