

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



www.corisbio.com  
IFU-58R11/PL/06

Wytwórca:

Coris BioConcept  
CREALYS Science Park  
Rue Guillaume Fouquet, 11  
5032 GEMBLoux  
BELGIUM  
Tel.: +32(0)81.719.917  
Fax: +32(0)81.719.919  
info@corisbio.com  
Wyprodukowano w BELGII

## Szybki test diagnostyczny *in vitro* do wykrywania karbapenemaz 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 bakteriiach 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 karbapenemaz 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 wchodzą 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 koniugatów 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 wchodzą 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 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (<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/fac>

### 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).

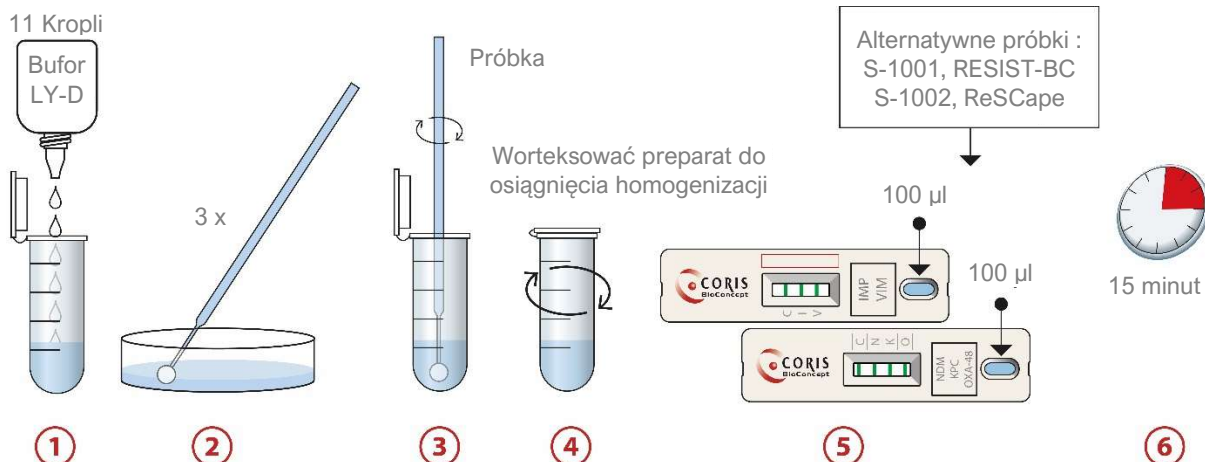
Otworzyć woreczek i wyjąć urządzenie. Po otwarciu woreczka należy natychmiast przeprowadzić test. Wskazać nazwisko pacjenta lub numer próbki na urządzeniu (jedno urządzenie na próbkę).

#### 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 próbówki 11 kropli bufora LY-D.
2. Pobrać bakterie, pobierając 3 kolonie jednorazową eżą bakteriologiczną i zanurzyć eżę na 30 sekund w próbce zawierającej bufor. Tej samej eży bakteriologicznej można użyć do pobrania 3 kolonii.
3. Przed usunięciem eży dokładnie wymieszać.
4. Zamknięcie rury i 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	40	0	40
Ujemny	0	140	140
Razem	40	140	180

95% przedział ufności 1

Czułość: 100 % (89,1 do 100 %)

Swoistość: 100 % (96,7 do 100 %)

Dodatnia wartość przewidywania: 100 % (89,1 do 100 %)

Ujemna wartość przewidywania: 100 % (96,7 do 100 %)

Zgodność: 100 % (180/180)

Metoda molekularna	Dodatni	Ujemny	Razem
Test VIM			
Dodatni	43	0	43
Ujemny	3	134	137
Razem	46	134	180

95% przedział ufności 1

Czułość: 93,5 % (81,1 do 98,3 %)

Swoistość: 100 % (96,5 do 100 %)

Dodatnia wartość przewidywania: 100 % (89,8 do 100 %)

Ujemna wartość przewidywania: 97,8 % (93,2 do 99,4 %)

Zgodność: 98,3 % (177/180)

Metoda molekularna	Dodatni	Ujemny	Razem
Test IMP			
Dodatni	19	0	19
Ujemny	0	161	161
Razem	19	161	180

95% przedział ufności 1

Czułość: 100 % (79,1 do 100 %)

Swoistość: 100 % (97,1 do 100 %)

Dodatnia wartość przewidywania: 100 % (79,1 do 100 %)

Ujemna wartość przewidywania: 100 % (97,1 do 100 %)

Zgodność: 100 % (180/180)

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.

Każdy poważny incydent związany z wyrobem należy zgłosić producentowi i właściwemu organowi państwa członkowskiego, w którym użytkownik lub pacjent mają miejsce zamieszkania.

**XIII. ODNIESIENIA 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, Albigier 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 Enterobacteriales with proposal of a new algorithm. Clin Microbiol Infect. 18 marca 2019. pii: S1198-743X(19)30104-1

G. 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. 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

Ostatnia aktualizacja : 20 LUTY 2023

**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 180 niepowielonych, kolejnych izolatach klinicznych z podejrzeniem CPE, pobranych w latach 2012 and 2021 z belgijskich szpitali.

Metoda molekularna	Dodatni	Ujemny	Razem
Test OXA-48			
Dodatni	41	0	41
Ujemny	0	139	139
Razem	41	139	180

95% przedział ufności 1

Czułość: 100 % (82,8 do 100 %)

Swoistość: 100 % (97,0 do 100 %)

Dodatnia wartość przewidywania: 100 % (82,8 do 100 %)

Ujemna wartość przewidywania: 100 % (97,0 do 100 %)

Zgodność: 100 % (180/180)

Metoda molekularna	Dodatni	Ujemny	Razem
Test KPC			
Dodatni	24	0	24
Ujemny	0	156	156
Razem	24	156	180

95% przedział ufności 1












Czułość: 100 % (82,8 do 100 %)

Swoistość: 100 % (97,0 do 100 %)

Dodatnia wartość przewidywania: 100 % (82,8 do 100 %)

Ujemna wartość przewidywania: 100 % (97,0 do 100 %)

Zgodność: 100 % (180/180)

 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 użytkownika		Nie używać ponownie
	Chronić przed wilgocią		Zużyć do
DIL SPE	Próbka rozcieńczająca	CONT NaN <sub>3</sub>	Zawiera azydek sodu
 UDI	Niepowtarzalny kod identyfikacyjny wyrobu		

<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).