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

Fabricant:

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

Produit en BELGIQUE

www.corisbio.com
IFU-58R11/FR/01

Test rapide de diagnostic in vitro pour la détection de cinq carbapénèmases OXA-48, KPC, NDM, VIM et IMP sur une culture bactérienne

A DES FINS DE DIAGNOSTIC IN VITRO ***FR***
POUR USAGE PROFESSIONEL UNIQUEMENT
References: K-15R11, 2x20 cassettes, tampon, 20 tubes and compte-gouttes

I. INTRODUCTION

Les organismes producteurs de carbapénèmase (CPO) et plus particulièrement les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (CRE) représentent un problème majeur de santé publique dans le monde entier en raison de leur large spectre de résistance aux antibiotiques, y compris la plupart des classes d'agents antimicrobiens autres que les carbapénèmes, laissant très peu d'options pour la prise en charge thérapeutique des patients. A côté des CREs, les CPOs incluent aussi des bacilles Gram négatifs non fermentant (NFGNB), tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* qui présentent des résistances non seulement aux béta-lactames dont les carbapénèmes ainsi qu'à d'autres groupes d'antibiotiques. La propagation rapide de ces CPOs ou des gènes codant ces résistances a conduit à des épidémies nosocomiales et des situations endémiques dans plusieurs pays en Europe et ailleurs dans le monde.
Le développement de nouveaux tests de diagnostic rapide permettant de suivre les modèles de résistance antimicrobienne est considéré par les experts internationaux et les autorités sanitaires comme l'une des actions prioritaires pour contrôler ces résistances. NDM et KPC représentent deux des carbapénèmases les plus répandues dans de nombreux pays. La classe D du type OXA-48 est le mécanisme de résistance le plus difficile à détecter pour les laboratoires cliniques. VIM n'est pas seulement présent chez les Enterobacteriaceae, mais elle est également très répandue chez les bacilles Gram négatifs non fermentant.
IMP est une carbapénèmase de la classe B (tout comme NDM et VIM) qui devrait être considérée comme un problème potentiel majeur car elle ne dégrade pas seulement les C3G mais également les antibiotiques tel que l'imipenem. Des tests phénotypiques de confirmation à base d'inhibiteurs existent pour confirmer la présence des carbapénèmases de la classe A (KPC) et de classe B (VIM, IMP, NDM). Actuellement, la confirmation du mécanisme de résistance des CPO se base essentiellement sur des essais moléculaires. Ces essais sont chers et ne peuvent être réalisés que dans un environnement spécifique et par du personnel qualifié, ce qui limite leur usage généralisé.
Le test O.K.N.V.I. RESIST-5 de Coris BioConcept fait partie de la gamme RESIST des tests de diagnostic de résistance antimicrobienne.

II. PRINCIPE DES TESTS

Les tests sont prêts à l'emploi et reposent sur l'utilisation d'une technologie sur membrane avec des nanoparticules d'or colloïdal. Notre trousse est destinée à la détection de carbapénèmases provenant d'une seule colonie bactérienne d'entérobactéries ou de NFGNB d'une culture sur boîte gélosée. Chaque pochette contient 2 cassettes pour l'identification de (i) OXA-48, KPC et NDM et (ii) VIM et IMP.
Identification de OXA-48, KPC et NDM. Une membrane de nitrocellulose est sensibilisée avec :
(1) un anticorps monoclonal dirigé contre un premier épitope de la carbapénèmase OXA-48 et ses variants (mais pas le variant OXA-163) (ligne "O")
(2) un anticorps monoclonal dirigé contre un épitope de la carbapénèmase KPC (ligne "K")
(3) un anticorps monoclonal dirigé contre un épitope de la carbapénèmase NDM (ligne "N")
(4) un réactif contrôle (ligne supérieure "C").
Quatre différents conjugués couplés à des particules d'or colloïdal qui sont insolubilisés sur une membrane : un conjugué dirigé contre un second épitope de la carbapénèmase OXA-48, un conjugué dirigé contre un second épitope de la carbapénèmase KPC, un troisième conjugué spécifique de la carbapénèmase NDM et un conjugué contrôle.
Identification de VIM et IMP. Une membrane de nitrocellulose est sensibilisée avec :
(1) un anticorps monoclonal dirigé contre la carbapénèmase VIM (ligne centrale "V"),
(2) un anticorps monoclonal dirigé contre la carbapénèmase IMP (ligne "I")
(3) un réactif contrôle (ligne supérieure "C").
Trois différents conjugués couplés à des particules d'or colloïdal qui sont insolubilisés sur une membrane : un conjugué dirigé contre la carbapénèmase VIM, un conjugué dirigé contre la carbapénèmase IMP et un conjugué contrôle.
Lorsque le tampon contenant la suspension de bactéries entre en contact avec la bandelette, les conjugués solubilisés migrent par diffusion passive avec l'échantillon et l'ensemble entre en contact avec les anticorps adsorbés sur la membrane de nitrocellulose. Si l'échantillon contient une carbapénémase OXA-48, KPC, NDM, VIM ou IMP, les complexes respectifs constitués des conjugués et des carbapénèmases correspondantes resteront fixés à leurs lignes spécifiques (OXA-48, ligne "O"; KPC, ligne "K"; NDM, ligne "N"; VIM, ligne "V"; IMP, ligne "I"). Finalement, la solution continue à migrer et rencontre la ligne supérieure ("C", en haut de la membrane) du réactif qui fixe le conjugué de contrôle générant la ligne rouge de contrôle qui confirme le bon fonctionnement du test. Le résultat est visible dans les 15 minutes sous la forme de lignes rouges sur la tigette.

III. REACTIFS ET MATERIELS

1. O.K.N.V.I. RESIST-5 (2x20 cassettes)
20 pochettes scellées contenant deux cassettes et un dessicant. Chaque cassette contient une tigette sensibilisée.
2. Tampon de dilution LY-A (15 mL)
Solution saline tamponnée à pH 7.5 contenant du TRIS, du NaN_3 (<0,1%) et un détergent.
3. Notice d'utilisation (1)
4. 20 tubes semi-rigides à usage unique et 20 compte-gouttes

IV. PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Toutes les manipulations liées à l'utilisation de ce test doivent être effectuées selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).
- Les composants de la trousse sont à utiliser en diagnostic *in vitro*, uniquement.
- Ouvrir la pochette avec précaution.
- Eviter de toucher directement la nitrocellulose.
- Porter des gants pendant la manipulation des échantillons.
- Ne jamais mélanger les constituants de trousses différentes.
- Les sites d'adsorption des immunoréactifs sont signalés par les bandes vertes. La couleur verte disparaît pendant la réaction.
- La qualité des réactifs est garantie seulement jusqu'à leur date de péremption et s'ils ont été conservés dans les conditions indiquées dans cette notice.

V. ELIMINATION DES DECHETS

- Eliminer tous les consommables utilisés selon les bonnes pratiques de laboratoire.
- Chaque utilisateur est responsable de la gestion des déchets qu'il produit et doit assurer l'élimination de ces derniers en fonction de la réglementation applicable.

VI. CONSERVATION

- Une trousse non ouverte doit être conservée entre 4 et 30°C et utilisée avant la date de péremption indiquée sur l'emballage. Une fois la pochette ouverte, démarrer le test immédiatement.
- Les cassettes et le tampon ne doivent pas être congelés.

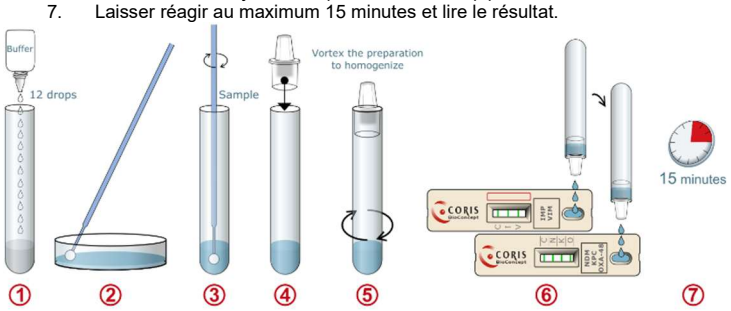
VII. PRELEVEMENTS

Les échantillons à tester doivent être obtenus et traités en suivant les méthodes classiques de culture des CPE.
S'assurer que les prélèvements n'ont pas été traités avec des échantillons contenant du formaldéhyde ou ses dérivés.
Les milieux de culture testés et validés avec les trousses Coris BioConcept RESIST sont listés sur le site internet : https://www.corisbio.com/Products/Human-Field/OKNVI-RESIST-5.php

VIII. PROCEDURE

Préparation du test :
Laisser les réactifs, dans leur emballage fermé, et les échantillons (lorsque la boîte de Petri contenant la colonie à tester a été gardée à 4 °C) s'équilibrer à température ambiante (15-30 °C) avant de débuter le test.
Ouvrir la pochette et ôter les 2 cassettes. Lorsque la pochette a été ouverte, utiliser les cassettes le plus rapidement possible. Marquer les numéros de l'échantillon sur les cassettes (deux cassettes par échantillon).
Procédure de préparation des échantillons :
Les performances du test n'ont pas été établies avec des échantillons autres que les colonies bactériennes. Coris BioConcept recommande l'utilisation de colonies bactériennes fraîches pour une performance optimale de test.

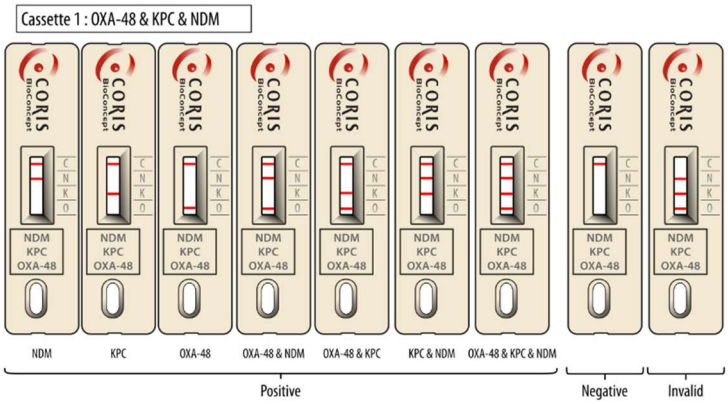
1. Préparer 1 tube semi-rigide et ajouter **12** gouttes de tampon LY-A dans le tube.
2. Récolter une colonie avec une anse bactériologique jetable et la plonger jusqu'au fond du tube semi-rigide contenant le tampon.
3. Bien mélanger avant de retirer l'anse.
4. Insérer fermement le compte-goutte sur le tube.
5. Vortexer la préparation pour homogénéiser. L'entièreté de la colonie bactérienne doit être en suspension dans le tampon.
6. Retourner le tube et ajouter lentement **3** gouttes dans le puits de chacune des deux cassettes marquées (i) NDM, KPC, OXA-48 et (ii) IMP et VIM. Ou alternativement, ajouter 100µl avec une micropipette aux deux cassettes.
7. Laisser réagir au maximum 15 minutes et lire le résultat.

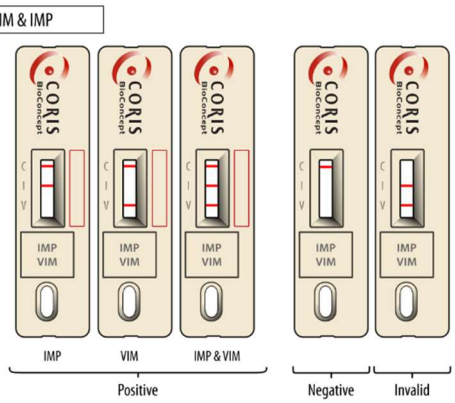


Un résultat positif peut être déclaré plus tôt dès l'instant où la ligne de contrôle et la ligne de test apparaissent.
Ne pas tenir compte de l'apparition de nouvelles lignes une fois le temps de réaction dépassé.
Les résultats doivent être lus sur une tigette encore humide.

IX. INTERPRETATION DES RESULTATS

Les résultats doivent être interprétés comme suit pour chacune des deux cassettes :
Test négatif : une bande de couleur pourpre apparaît dans la fenêtre de lecture au niveau de la ligne Contrôle (C). Aucune autre ligne n'est présente.
Test positif : en plus d'une bande pourpre sur la ligne de contrôle (C), une bande pourpre apparaît à une des lignes de test ("N" ou "K" ou "O") sur la cassette marquée (i) NDM, KPC, OXA-48 ou à l'une des lignes de test ("I" ou "V") sur la cassette marquée (ii) IMP et VIM. L'intensité des lignes tests peut varier en fonction de la quantité d'antigènes présente dans l'échantillon ainsi que du type de variant. Un signal faible sur une ligne Test (OXA-48, KPC, NDM, VIM et IMP) doit être interprété comme un résultat positif.
Si une ligne de test positive apparaît à côté de la marque "O", l'échantillon contient une carbapénèmase OXA-48 ou un variant OXA-48. Si le signal apparaît à côté de la marque "K" l'échantillon contient une carbapénèmase KPC; à côté de la marque "N", l'échantillon contient une carbapénèmase NDM; à côté de la marque "V", l'échantillon contient une carbapénèmase VIM et à côté de la marque "I", une carbapénèmase IMP est présente dans l'échantillon. Une combinaison de plusieurs lignes tests positives est possible. Dans ce cas, l'échantillon contient plusieurs carbapénèmases.
Test invalide : aucune bande pourpre n'apparaît au niveau de la ligne Contrôle (C). L'absence de la ligne contrôle (C) rend le résultat ininterprétable. Dans ce cas, l'échantillon doit être re-testé avec deux nouvelles cassettes.
Note : après séchage, une très légère ombre peut apparaître au niveau de la ligne test. Il ne faut pas en tenir compte dans l'interprétation des résultats.





X. PERFORMANCES

A. Limite de détection

La limite de détectabilité a été définie avec des préparations de protéines recombinantes OXA-48, KPC, NDM, VIM et IMP purifiées et a été évaluée à 0.125 ng/mL, 0.625 ng/mL, 0.25 ng/mL, 0.23 ng/mL and 1.56 ng/mL, respectivement.

B. Etude rétrospective

Les tests cassettes ont été validés par comparaison avec une méthode de référence moléculaire (PCR multiplexe suivie de séquençage) dans le Centre National de Référence des *Bacilli* gram-négatifs multi-résistants (Belgique) dans une étude rétrospective réalisée sur 164 isolats cliniques consécutifs non-dupliqués soupçonnés de CPE et prélevés entre 2013 et 2018 dans 78 hôpitaux belges.

Méthode moléculaire OXA-48 test	Positive	Negative	Total
Positive	40	0	40
Negative	0	124	124
Total	40	124	164

		Intervalle de confiance à 95 % [1]
Sensibilité:	100 %	(89.1 to 100 %)
Spécificité:	100 %	(96.3 to 100 %)
Valeur Prédictive Positive:	100 %	(89.1 to 100 %)
Valeur Prédictive Négative:	100 %	(96.3 to 100 %)
Concordance:	100 %	(164/164)

Méthode moléculaire KPC test	Positive	Negative	Total
Positive	25	0	25
Negative	0	139	139
Total	25	139	164

		Intervalle de confiance à 95 % [1]
Sensibilité:	100 %	(83.4 to 100 %)
Spécificité:	100 %	(96.6 to 100 %)
Valeur Prédictive Positive:	100 %	(83.4 to 100 %)
Valeur Prédictive Négative:	100 %	(96.6 to 100 %)
Concordance:	100 %	(164/164)

Méthode moléculaire NDM test	Positive	Negative	Total
Positive	31	0	31
Negative	3	130	133
Total	34	130	164

		Intervalle de confiance à 95 % [1]
Sensibilité:	91.2 %	(75.2 to 97.7 %)
Spécificité:	100 %	(96.4 to 100 %)
Valeur Prédictive Positive:	100 %	(86.3 to 100 %)
Valeur Prédictive Négative:	97.7 %	(93.0 to 99.4 %)
Concordance:	98.2 %	(161/164)

Méthode moléculaire VIM test	Positive	Negative	Total
Positive	36	0	36
Negative	4	124	128
Total	40	124	164

		Intervalle de confiance à 95 % [1]
Sensibilité:	90 %	(75.4 to 96.7 %)
Spécificité:	100 %	(96.3 to 100 %)
Valeur Prédictive Positive:	100 %	(88.0 to 100 %)
Valeur Prédictive Négative:	96.9 %	(91.7 to 99.0 %)
Concordance:	97.6 %	(160/164)

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

Méthode moléculaire IMP test	Positive	Negative	Total
Positive	16	0	16
Negative	3	145	148
Total	19	145	164

		Intervalle de confiance à 95 % [1]
Sensibilité:	84.2 %	(59.5 to 95.8 %)
Spécificité:	100 %	(96.8 to 100 %)
Valeur Prédictive Positive:	100 %	(75.9 to 100 %)
Valeur Prédictive Négative:	98.0 %	(93.7 to 99.5 %)
Concordance:	98 %	(161/164)

C. Répétabilité et reproductibilité

Des essais de répétabilité intra-lot ont été menés en répétant 15 fois des mesures sur des échantillons positifs et des tampons. Les résultats ont été confirmés dans 100% des cas. Des essais de répétabilité inter-lots ont été menés sur 3 lots de production différents et dans les mêmes conditions d'échantillons que ci-dessus. Les résultats ont été confirmés dans 100% des cas.

XI. LIMITES DE LA TROUSSE

Il s'agit d'un test qualitatif qui ne permet pas de quantifier la quantité d'antigènes présente dans l'échantillon. Le contexte clinique et tous les autres résultats (anamnèse) doivent être pris en considération pour établir le diagnostic.
Un test positif ne permet pas d'éliminer la possibilité de présence d'autres mécanismes de résistance aux antibiotiques.

XII. PROBLEMES TECHNIQUES / RECLAMATIONS

Si vous rencontrez un problème technique ou si les performances ne correspondent pas à celles indiquées dans cette notice.

1. Notez le numéro de lot du kit concerné
2. Si possible, conservez l'échantillon ayant posé problème au congélateur, le temps de la gestion de celui-ci
3. Contactez Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) ou votre distributeur local

XIII. BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

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 November 15th, 2019 Belgium

C. **Oueslati S, Iorga BI, Tlili 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**

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, July 2018. Euro Surveill. 2019 Feb; 24 (9) 1560-7917**

E. **Oliveira J, Reygaert WC.** Gram Negative Bacteria. **StatPearls Publishing; 2019 Jan-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. 2019 Mar 18. 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. 2019 Mar;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. 2019 Feb 6. doi: 10.1093**

I. **Cointe A, Bonacorsi S, Truong J, Hobson C, Doit C, Monjault A, Bidet P, Birgy A** Detection of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Positive Blood Culture Using an Immunochromatographic RESIST-4 O.K.N.V. Assay. **Antimicrob Agents Chemother. 2018 Nov 26;62(12). pii: e01828-18**

J. **Köck R, Daniels-Haardt I, Becker K, Mellmann A, Friedrich AW, Mevius D, Schwarz S, Jurke A.** Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in wildlife, food-producing, and companion animals: a systematic review. **Clin Microbiol Infect. 2018 Dec;24(12):1241-1250**

K. **Greissl C, Saleh A and Hamprecht A.** Rapid detection of OXA-48-like, KPC, NDM, and VIM carbapenemases in Enterobacterales by a new multiplex immunochromatographic test. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2018 Nov 17. doi: 10.1007/s10096-018-3432-2**

L. **Kolenda C, Benoit R, Carricajo A, Bonnet R, Dauwalder O, Laurent F.** Evaluation of the New Multiplex Immunochromatographic O.K.N.V. K-SeT Assay for Rapid Detection of OXA-48-like, KPC, NDM, and VIM Carbapenemases. **J Clin Microbiol. 2018 Oct 25;56(11).: e01247-18.**

M. **K.Villageois-Tran, A.A. Mariaggi, A. Godmer, M. Lambot, T. Leclitpeux, G. Arlet, Y. Benzerara and S. Gallah. P2333 -** A new method for detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae carriage. **28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Infectious Diseases April 21 – 24, 2018.**

N. **Y. Glupczynski, T.D. Huang, S. Evrard and P. Bogaerts. P2328 –** Evaluation of the NV K-SeT, a new lateral flow assay for the detection of VIM and NDM producing bacteria. **28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Infectious Diseases April 21 – 24, 2018.**

O. **P. Bogaerts, S. Evrard, L. Denorme, Q. Gilleman, P. Mertens, T.-D. Huang,1 and Y. Glupczynski.** Evaluation of a new lateral flow assay for the detection of VIM-producing bacteria. **37e Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse 18-19 décembre, 2017 Paris**

P. **C.Mathlouthi N, Al-Bayssari C, Bakour S, Rolain JM, Chouchani C.** Prevalence and emergence of carbapenemases-producing Gram-negative bacteria in Mediterranean basin**. Crit Rev Microbiol. 2017 Feb; 43(1):43-61**

Dernière révision : 21 Septembre 2020

REF	Numéro de catalogue		Fabriqué par
IVD	Dispositif de diagnostic *in vitro*		Limites de températures
Σ	Contenu suffisant pour <n> tests	LOT	Numéro de lot
	Lire le manuel d'instructions		Usage unique
	Conserver au sec		A utiliser avant
DIL SPE	Diluant (specimen)	CONT NaN_3	Contient de l'azide de sodium