

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



www.corisbio.com
IFU-58R9/NL/02

Geproduceerd door:

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

Geproduceerd in BELGIË

Snelle diagnostische test voor de detectie van carbapenemases van OXA-163, OXA-48, KPC, NDM en VIM in bacteriekweken

VOOR IN-VITRO DIAGNOSTISCH GEBRUIK

UITSLUITEND VOOR PROFESSIONEEL GEBRUIK

Referenties: K-15R9, 2x 20 cassettes, buffer, 20 buisjes en druppelaars

NL

I. INLEIDING

Carbapenemase-producerende organismen (CPO) en specifiek nog, carbapenem-resistente Enterobacteriaceae (CRE) vormen een belangrijk probleem voor de volksgezondheid wereldwijd vanwege hun brede resistentiespectrum tegen antibiotica waaronder, naast carbapenems, de meeste klassen antimicrobiële middelen, waardoor er nog maar heel weinig opties overblijven voor de behandeling van geïnfecteerde patiënten. Naast CRE's omvatten CPO's ook niet-fermenterende Gram-negatieve bacilli (NFGNB), zoals *Pseudomonas aeruginosa* en *Acinetobacter baumannii* die resistentie vertonen, niet alleen voor bèta-lactam en andere groepen antibiotica, maar ook voor carbapenems. Door de snelle verspreiding van CPO's en genen die coderen voor deze typen resistentie, zijn er in verschillende landen in Europa evenals elders in de wereld nosocomiale uitbraken opgetreden en endemische situaties ontstaan.

Internationale deskundigen en zorgautoriteiten zien de ontwikkeling van nieuwe snelle diagnostische tests om antimicrobiële resistentiepatronen te volgen als een van de kernacties met hoge prioriteit. NDM en KPC vertegenwoordigen in veel landen twee van de meest voorkomende en snelst toenemende carbapenemases. Aan de andere kant vormen de klasse D type OXA-48 carbapenemases de meest uitdagende resistentiemechanismen voor klinische laboratoria om te detecteren. In het bijzonder is de OXA-163-variant een moeilijk te identificeren enzym. Hoewel OXA-163 een zwakkere carbapenemase-activiteit vertoont in vergelijking met OXA-48, toont het ook een sterkere activiteit tegen ESC's (Expanded-Spectrum Cephalosporin), wat een andere uitdaging vormt voor snelle identificatie. VIM is niet alleen aanwezig in Enterobacteriaceae, maar komt ook zeer veel voor bij niet-fermenterende bacteriën. Het is van het grootste belang die carbapenemases snel te identificeren, zowel om de behandeling van de patiënt te verbeteren als om de verspreiding van antibioticaresistentie in ziekenhuizen onder controle te krijgen.

Er bestaan al wel tests voor fenotypische bevestiging door middel van combinatiedisks met specifieke remmers voor de detectie van bepaalde soorten carbapenemases, waaronder carbapenemases van klasse A (KPC) en klasse B (VIM, IMP, NDM), maar die tests zijn tijdrovend en ze vereisen een extra dag na de resultaten van de gevoeligheidstests voor antimicrobiële middelen. Bovendien zijn fenotypische colorimetrische tests vaak niet gevoelig genoeg voor de detectie van carbapenemases met zwakke activiteit zoals OXA-48 en daarop lijkende varianten (de OXA-48-achtigen) en voor de detectie van de OXA-163-subfamilie, die zeer zwakke carbapenemase-activiteit vertoont. Met verscheidene moleculaire tests en gensequentietests is detectie van carbapenemases mogelijk, speciaal voor definitieve bevestiging van OXA-48 en OXA-163. Die tests zijn echter duur, tijdrovend en alleen uitvoerbaar in een speciaal aangepaste omgeving door deskundig laboratoriumpersoneel, wat een algemene toepassing ervan beperkt.

II. PRINCIPE VAN DE TESTS

Deze tests zijn gebruiksklaar en zijn gebaseerd op een membraantechnologie met colloïdale goud-nanodeeltjes. Onze kit is gericht op de detectie van carbapenemases van een bacterieel kolonie-isolaat van Enterobacteriaceae of NFGNB groeiend op agarplaat. Elk zakje bevat: 2 laterale-flowtestcassettes voor de identificatie van (i) KPC, OXA-163 en OXA-48 en (ii) NDM en VIM. Deze twee cassettes zijn bedoeld om de carbapenemases van KPC, OXA-163, OXA48, NDM en VIM te detecteren in een buffersuspensie (buffer wordt meegeleverd) van kolonies van op een agarplaat gegroeide bacterie-isolaten.

Identificatie van KPC, OXA-163 en OXA-48. Een nitrocellulosemembraan is gesensitiseerd met:

- (1) een monoklonaal antilichaam tegen KPC-carbapenemases (de KPC-lijn)
- (2) een monoklonaal antilichaam tegen een eerste epitoom van OXA-48-carbapenemases en varianten (maar niet de OXA-163-variant) (de 48-lijn)
- (3) een monoklonaal antilichaam tegen een tweede epitoom van OXA-48-carbapenemases en varianten met inbegrip van OXA-163 (de 163-lijn)
- (3) een controle-invangreagens (bovenste C-lijn).

Op een membraan zijn drie verschillende conjugaten met colloïdale goud-nanodeeltjes gedroogd: een conjugaat tegen een tweede epitoom van KPC-carbapenemases, een conjugaat tegen een derde epitoom van OXA-48-carbapenemases en varianten met inbegrip van OXA-163, en een controleconjugaat.

Identificatie van NDM en VIM. Een nitrocellulosemembraan is gesensitiseerd met:

- (1) een monoklonaal antilichaam tegen NDM-carbapenemases (onderste N-lijn),
- (2) een monoklonaal antilichaam tegen VIM-carbapenemases (middelste V-lijn)
- (3) een controle-invangreagens (bovenste C-lijn).

Op een membraan zijn drie verschillende conjugaten met colloïdale goud-nanodeeltjes gedroogd: een conjugaat tegen NDM-carbapenemases, een conjugaat tegen VIM-carbapenemases en een controleconjugaat.

Wanneer de bacteriënbevattende suspensiebuffer (buffer werd meegeleverd) in aanraking komt met de strip, migreren de oplosbaar gemaakte conjugaten met het monster door middel van passieve diffusie, en komen de conjugaten en het monstermateriaal in contact met de respectievelijke geïmmobiliseerde antilichamen die op de nitrocellulosestrip zijn geabsorbeerd. Als het monster een carbapenemase van KPC, OXA-163, OXA-48, NDM of VIM bevat, blijven de complexen die zijn gemaakt van de conjugaten en KPC of OXA-163 of OXA-48 of NDM of VIM, aan de betreffende lijnen gebonden (KPC-conjugaat aan KPC-lijn; OXA-48-conjugaat aan 48-lijn; OXA-163-conjugaat aan 163-lijn; NDM-conjugaat aan N-lijn; VIM-conjugaat aan V-lijn). De migratie door passieve diffusie blijft doorgaan, en zowel de conjugaten als het monstermateriaal komen in contact met de (bovenste) lijn met controle-reagens dat aan een controleconjugaat (C-lijn) bindt, waarbij een rode lijn zichtbaar wordt.

*Als het tweede conjugaat tegen alle OXA-163- en alle OXA-48-varianten is gericht en als het monster een zeer grote hoeveelheid OXA-48 bevat, zal de tweede lijn (op de cassette gelabeld als "48") sterk positief zijn; terwijl de derde lijn (op de cassette gelabeld als "163") een zwak signaal kan vertonen omdat iets van het teveel aan OXA-48 niet

door de specifieke OXA-48-lijn (tweede lijn) wordt ingevangen maar door de OXA-163-lijn (derde lijn).

Het resultaat is binnen 15 minuten zichtbaar in de vorm van rode lijnen op de strip.

III. REAGENTIA EN MATERIAAL

1. RESIST-5 O.O.K.N.V. (2x 20 cassettes)

20 verzegelde zakjes met twee laterale-flowtestcassettes en een droogmiddel.

Elk instrument bevat een gesensitiseerde strip.

2. Flacon met LY-A-buffer (15 ml)

Gebufferde zoutoplossing met een pH van 7,5 met Tris, Na₂S ($< 0,1\%$) en een detergenten.

3. Gebruiksaanwijzing (1)

4. Half-stijve wegwerpzamelbuisjes met druppelaars (20)

IV. SPECIALE VOORZORGSMATREGELEN

- Alle handelingen bij het uitvoeren van deze test moeten gebeuren in overeenstemming met GLP (Good Laboratory Practice).

- Alle reagentia zijn alleen bestemd voor *in-vitro*diagnostiek.

- Open het zakje voorzichtig.

- Vermijd de nitrocellulose aan te raken met uw vingers.

- Draag handschoenen tijdens de hantering van monsters.

- Gebruik nooit reagentia uit een andere kit.

- De groene lijnen geven de plaatsen aan waar de immunoreagentia werden geabsorbeerd. De groene kleur verdwijnt tijdens de test.

- De kwaliteit van de reagentia kan slechts worden gegarandeerd tot de vervaldatum, op voorwaarde dat bij de opslag is voldaan aan de vermelde condities in de bijsluiter.

V. AFVALVERWIJDERING

- Gooi handschoenen, wattenstaafjes, testbuisjes en gebruikte hulpmiddelen weg in overeenstemming met GLP.

- Elke gebruiker is zelf verantwoordelijk voor de verwijdering van het geproduceerde afval en dient ervoor te zorgen dat het afgevoerd wordt volgens de geldende wetgeving.

VI. OPSLAG

- Een ongeopend zakje bewaren tussen 4 en 30 °C en gebruiken voordat de vervaldatum op de verpakking is verstreken. Als het zakje eenmaal geopend is, moet de test onmiddellijk worden uitgevoerd.

- De instrumenten en de buffer mogen niet ingevroren worden.

VII. MONSTERHANTERING EN -AFNAME

De te testen monsters moeten worden verkregen en gehanteerd volgens de standaard microbiologische methoden.

Zorg ervoor dat de monsters niet worden behandeld met oplossingen die formaldehyde of derivaten ervan bevatten.

Kweekmedia die zijn getest en gevalideerd met Coris BioConcept RESIT-kits worden vermeld op de website: <https://www.corisbio.com/Products/Human-Field/RESIST-5-OOKNV.php>

VIII. PROCEDURE

VOORBEREIDINGEN VAN DE TEST:

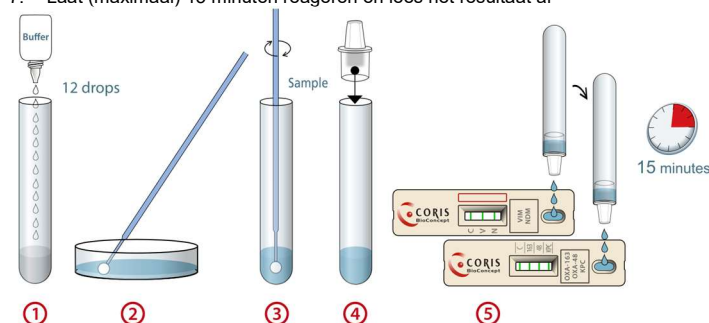
Laat de onderdelen van de kit (in de ongeopende verpakking), en de monsters (indien de plaat met de te testen kolonie op 4 °C werd gehouden) op kamertemperatuur komen (15-30 °C) voordat u een test uitvoert.

Open het zakje en haal het instrument eruit. Voer na opening de test meteen uit. Geef de naam van de patiënt of het nummer van het monster op het instrument aan (voor elk monster één instrument).

MONSTER-VOORBEREIDINGSPROCEDURE:

Er bestaat geen duidelijkheid over prestaties met andere monstertypes dan bacteriekolonies. Voor optimale testprestaties adviseren wij het gebruik van verse bacteriekolonies.

1. Zet één halfhard reageerbuisje klaar en doe 12 druppels LY-A-buffer in het buisje.
2. Oogst bacteriën door één kolonie te nemen met een bacteriologische wegwerplus en doop de lus onderin de halfstijve buis waarin zich de buffer bevindt.
3. Goed roeren voordat u de lus verwijdert.
4. Plaats de druppelaar stevig op het halfharde buisje.
5. De bereiding vortexen om te homogeniseren. De volledige bacteriekolonie moet gesuspenderd zijn in de buffer.
6. Draai de reageerbuis om en druppel langzaam 3 druppels verdund monster in het monsterwielletje van beide cassettes, met de labels (i) KPC, OXA-48 en OXA-163, en (ii) NDM en VIM. U kunt ook 100 µl toevoegen aan beide cassettes met een micropipet.
7. Laat (maximaal) 15 minuten reageren en lees het resultaat af



Zodra de testlijnen en de controlelijn zichtbaar worden, kunnen er positieve resultaten worden gemeld.

Laat nieuwe lijnen die zichtbaar worden na het verstrijken van de reactietijd buiten beschouwing.

Het resultaat moet worden afgelezen wanneer de strip nog nat is.

IX. INTERPRETATIE VAN RESULTATEN

De resultaten van beide cassettes dienen als volgt te worden geïnterpreteerd:

Negatief testresultaat: er is een roodpaarse lijn zichtbaar in het midden van het afleesvenster op de plaats van de controlelijn (C). Er is geen andere lijn aanwezig.

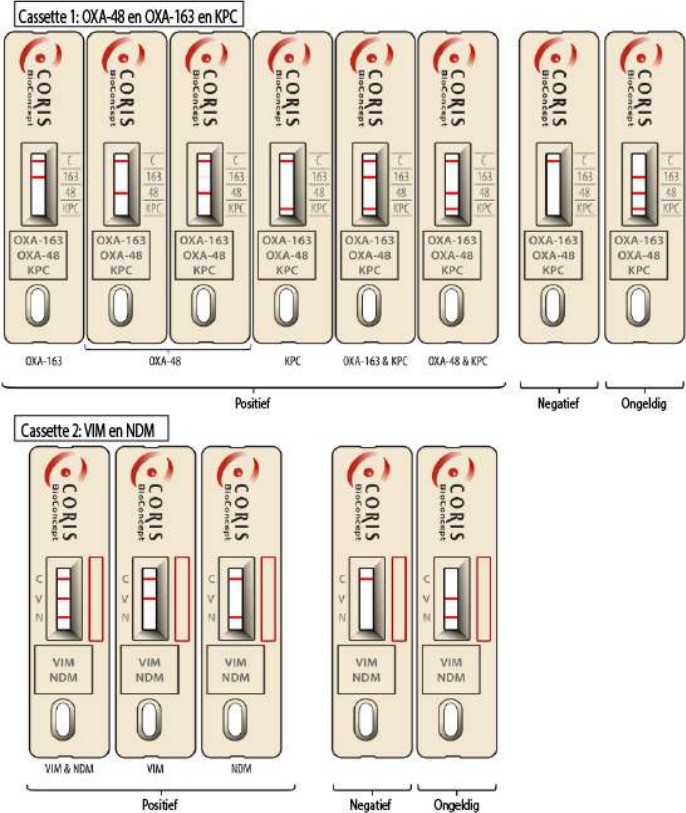
Positief testresultaat: afgezien van een roodpaarse lijn op de positie van de controlelijn (C) is er ook een roodpaarse lijn zichtbaar op de plaats van een van de testlijnen ("KPC" of "163" of "48") van de cassette met label (i) KPC, OXA-48, OXA-163, of op de plaats van een van de testlijnen ("V" of "N") van de cassette met label (ii) NDM en VIM. De intensiteit van de testlijn kan variëren afhankelijk van de hoeveelheid antigenen en van het varianttype in het monster. Iedere rood-paarse testlijn (KPC, OXA-48, OXA-163, NDM en VIM) moet worden beschouwd als een positief resultaat. Ook als dit signaal zwak is.

Als er een positieve testlijn naast de KPC-markering verschijnt, bevat het monster KPC-varianten. Als deze naast de 48-markering verschijnt, bevat het monster OXA-48 of OXA-48-achtige varianten. Als deze naast de 163-markering ligt, bevat het monster een

OXA-163-variant of nauw verwante varianten zoals OXA-247, 405 of 438; indien naast de N-markering dan bevat het monster NDM; en indien naast de V-markering dan is er VIM in het monster aanwezig. Er kunnen combinaties van positieve testlijnen optreden. In dat geval bevat het monster een combinatie van verschillende carbapenemases. Desondanks kan er in geval van een zeer positieve OXA-48-testlijn, een zwak signaal op de OXA-163-testlijn verschijnen. In dat geval moet de test worden geïnterpreteerd als een OXA-48-positief en OXA-163-negatief resultaat.

Ongeldig testresultaat: De afwezigheid van een controlelijn duidt op een fout in de testprocedure. Herhaal ongeldige tests met een nieuw testinstrument.

Opmerking: tijdens het drogen kan op de plaatsen van de testlijnen een zeer zwakke schaduw zichtbaar worden. Dit moet niet als een positief resultaat worden beschouwd.



X. PRESTATIE
A. Detectielimiet

De detectielimiet die is vastgesteld met gezuiverde recombinant-eiwitten van OXA-48, OXA-163, KPC, NDM en VIM is geëvalueerd bij respectievelijk 0,125 ng/ml, 0,49 ng/ml, 0,625 ng/ml, 0,25 ng/ml en 0,23 ng/ml.

B. Prospectieve studie (op basis van de RESIST-3 O.K.N. K-SeT-kit)

De cassette-test voor OXA-48 en KPC werd gevalideerd door vergelijking met een moleculaire referentiemethode (gevalideerde multiplex-PCR inclusief sequentiëring) in het Belgische nationale referentielaboratorium voor multigeneesmiddelresistente gramnegatieve bacillen, in een prospectieve studie met 173 niet-geduplicateerde, opeenvolgende klinische CPE-verdachte isolaten, gedateerd van juli tot september 2016.

OXA-48-test	Positief	Negatief	Totaal
Positief	69	0	69
Negatief	0	104	104
Totaal	69	104	173

95%-betrouwbaarheidsinterval ¹

Gevoeligheid:	100 %	(95,7 tot 100 %)
Specificiteit:	100 %	(97,2 tot 100 %)
Positief voorspellende waarde:	100 %	(95,7 tot 100 %)
Negatief voorspellende waarde:	100 %	(97,2 tot 100 %)
Overeenstemming:	100 %	(173/173)

KPC-test	Positief	Negatief	Totaal
Positief	9	0	9
Negatief	0	164	164
Totaal	9	164	173

95%-betrouwbaarheidsinterval ¹

Gevoeligheid:	100 %	(68,4 tot 100 %)
Specificiteit:	100 %	(98,2 tot 100 %)
Positief voorspellende waarde:	100 %	(68,4 tot 100 %)
Negatief voorspellende waarde:	100 %	(98,2 tot 100 %)
Overeenstemming:	100 %	(173/173)

C. Validatie op verzameling van referentiestammen

De OXA-48-type en OXA-163-type carbapenemases van de K-SeT-test werden geëvalueerd op een verzameling van 75 volledig gekenmerkte klinische stammen in het Argentijnse nationale referentielaboratorium voor antimicrobiotica.

75 stammen	50 stammen testten positief voor OXA-48 en OXA-163	17 stammen waren dragers van OXA-48-type en OXA-48-achtig type carbapenemase	OXA-48, OXA-162, OXA-181, OXA-232, OXA-244 van <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>
		33 stammen waren dragers van OXA-163-varianten van carbapenemase	OXA-163, OXA-247, OXA-438 van <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Providencia stuartii</i> , <i>Enterobacter kobei</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella ozonae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Kluyvera georgiana</i>

25 stammen testten negatief voor OXA-48 en OXA-163	14 stammen waren dragers van een non-OXA-48-carbapenemase	GES-5, IMP-8, KPC-2, KPC-3, NDM-1, VIM-1, VIM-2, SPM-1, OXA-23, OXA-58, OXA-72, OXA-143, Sme, IMI
	11 stammen produceerden geen carbapenemase	Waaronder OXA-1, -,3, -,4, -,5, -,6, -,7, -,9, CMY-2, GES-1 + OXA-2, AmpC + porinen, CTX-M + porinen

D. Retrospectieve studie

De cassette-test voor VIM en NDM werd in het Belgische nationale referentielaboratorium voor multigeneesmiddelresistente gramnegatieve *Bacilli* in een retrospectieve studie met een verzameling referentiestammen gevalideerd door vergelijking met een moleculaire referentiemethode.

NDM-test	Positief	Negatief	Totaal
Positief	24	0	24
Negatief	0	95	95
Totaal	24	95	119

95%-betrouwbaarheidsinterval ¹

Gevoeligheid:	100 %	(82,8 tot 100 %)
Specificiteit:	100 %	(95,2 tot 100 %)
Positief voorspellende waarde:	100 %	(82,8 tot 100 %)
Negatief voorspellende waarde:	100 %	(95,2 tot 100 %)
Overeenstemming:	100 %	(119/119)

VIM-test	Positief	Negatief	Totaal
Positief	38	0	38
Negatief	1*	80	81
Totaal	39	80	119

*: Het vals-negatieve resultaat betreft een *P. aeruginosa*-kolonie die drager was van VIM-5 en NDM-1 genen. Deze kolonie werd gedetecteerd als NDM-positief maar VIM-negatief. De productie van VIM-5 werd niet bepaald.

95%-betrouwbaarheidsinterval ¹

Gevoeligheid:	97,4 %	(84,9 tot 99,9 %)
Specificiteit:	100 %	(94,3 tot 100 %)
Positief voorspellende waarde:	100 %	(88,6 tot 100 %)
Negatief voorspellende waarde:	98,8 %	(92,4 tot 99,9 %)
Overeenstemming:	99,2 %	(118/119)

E. Herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid

Om de nauwkeurigheid binnen eenzelfde partij te controleren (herhaalbaarheid) werden dezelfde positieve monsters en een bufferoplossing 15 keer verwerkt op kits van dezelfde productiepartij onder dezelfde experimentele omstandigheden. Alle waargenomen resultaten werden bevestigd, zoals verwacht.

Om de nauwkeurigheid tussen verschillende partijen te controleren (reproduceerbaarheid) werden sommige monsters (positief en buffer) verwerkt op kits uit drie verschillende productiepartijen. Alle resultaten werden bevestigd, zoals verwacht.

XI. BEPERKINGEN VAN DE KIT

De test is kwalitatief en is niet in staat om de hoeveelheid van de aanwezige antigenen in het monster te bepalen. De klinische presentatie en andere testresultaten moeten in overweging worden genomen bij het stellen van een diagnose. Een positieve test sluit de mogelijke aanwezigheid van andere antibioticaresistentie-mechanismen niet uit.

XII. TECHNISCHE PROBLEMEN OF KLACHTEN

Indien u een technisch probleem vaststelt of indien de prestaties niet overeenstemmen met de informatie in de bijsluiter:

- Noteer het partijnummer van de betrokken kit.
- Bewaar het monster onder geschikte condities gedurende de klachtbehandeling, als dat mogelijk is.
- Neem contact op met Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) of uw lokale distributeur.

XIII. BIBLIOGRAFISCHE REFERENTIES

- Y. Glupczynski, A. Jousset, S. Evrard, R. Bonnin, T. Huang, L. Dortet, P. Bogaerts and T. Naas. Prospective evaluation of the OKN K-SeT assay, a new multiplex immunochromatographic test for the rapid detection of OXA-48-like, KPC and NDM carbapenemases. *J Antimicrob Chemother.* 2017 Mar (7):1955-1960
- DW. Wareham and MH. Abdul Momin Rapid Detection of Carbapenemases in Enterobacteriaceae: 1 Evaluation of the RESIST-3 O.K.N. (OXA-48, KPC, NDM) Multiplexed Lateral Flow Assay. *J Clin Microbiol.* 2017 Feb (4):1223-1225
- 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.* 2016 Aug 17. pii: JCM.01175-16
- D. Meunier, A. Vickers, R. Pike, R.L. Hill, N. Woodford and 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.* 2016 Aug; 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.* 2016 Feb;54 (2):471-3
- Fernández J, Fleites A, Rodicio 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.* 2016 May;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.* 2016 Jul;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.* 2016 May;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 April 09 – 12, 2016

Laatst bijgewerkt: 07 AUGUSTUS 2019

REF	Catalogusnummer		Geproduceerd door
IVD	In-vitro diagnostisch medisch hulpmiddel		Temperatuurlimieten
	Bevat voldoende voor <n> tests	LOT	Partijnummer
	De gebruiksaanwijzing raadplegen		Niet hergebruiken
	Niet blootstellen aan vocht		Uiterste gebruiksdatum
DIL SPE	Monster-verdunningsmiddel	CONT NaNO ₃	Bevat natriumazide

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