

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



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

Hersteller:

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

Hergestellt in BELGIEN

Diagnostischer *in vitro*-Schnelltest für den Nachweis von OXA-48-, KPC-, NDM-, VIM- und IMP- Carbapenemasen in Bakterienkultur

IN-VITRO-DIAGNOSTIKUM

NUR FÜR DEN PROFESSIONELLEN GEBRAUCH

Bestellnummern: K-15R11, 2 x 20 Kassetten, Puffer, 20 Röhrchen und Tropfer

DE

I. EINFÜHRUNG

Carbapenemase-produzierende Organismen (CPO) und insbesondere Carbapenem-resistente Enterobacteriaceae (CRE) stellen aufgrund ihres breiten Resistenzspektrums, das neben der Carbapenem-Resistenz die meisten Klassen antimikrobieller Wirkstoffe umfasst, weltweit eine ernste Bedrohung der öffentlichen Gesundheit dar, weshalb nur sehr wenige Optionen für die Behandlung infizierter Patienten bleiben. Neben CRE umfassen CPO auch nicht-fermentierende gramnegative Bacilli (NFGNB) wie *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter baumannii*, die nicht nur gegen β -Lactam- und andere Antibiotikagruppen, sondern auch gegen Carbapeneme resistent sind. Die rasche Ausbreitung von CPO und der Gene, die für diese Resistenzen codieren, hat zu nosokomialen Ausbrüchen und endemischen Situationen in mehreren Ländern in Europa sowie anderen Regionen der Welt geführt.

Die Entwicklung neuer diagnostischer Schnelltests zur Ermittlung von Antibiotikaresistenzmustern gilt unter internationalen Experten und Gesundheitsbehörden als vorrangige Maßnahme. NDM und KPC sind in zahlreichen Ländern zwei der sich am stärksten ausbreitenden und häufigsten Carbapenemasen. Andererseits stellt der Nachweis der Resistenzmechanismen der Carbapenemasen vom Typ D OXA-48 die größte Herausforderung für klinische Labors dar. VIM kommt nicht nur in Enterobacteriaceae vor, sondern ist auch in nicht fermentierenden Bakterien weit verbreitet.

Die IMP-Typen der Klasse B sind Plasmid-vermittelte Carbapenemasen, die als signifikantes potenzielles Problem angesehen werden sollten, da sie nicht nur C3G, sondern auch Carbapeneme wie Imipenem abbauen. Es gibt Inhibitor-basierte phänotypische Bestätigungstests für die Bestätigung von Carbapenemasen der Klasse A (KPC) und Klasse B (VIM, IMP, NDM). Die endgültige Bestätigung des CPO-Resistenzmechanismus stützt sich heute auf molekular-diagnostische Tests. Diese Tests sind teuer und können nur in einer speziellen Umgebung von fachkundigem Personal durchgeführt werden, was einen allgemeineren Einsatz begrenzt.

O.K.N.V.I. Der RESIST-5 Test gehört zur RESIST Palette an diagnostischen Antibiotikaresistenztests von Coris BioConcept.

II. TESTPRINZIP

Diese Tests sind gebrauchsfertig und stützen sich auf eine Membrantechnologie mit Nanopartikeln aus kolloidalem Gold. Unser Kit dient für den Nachweis von Carbapenemasen in Kolonien eines einzelnen Bakterienisolats von Enterobacteriaceae oder NFGNB auf einer Agarplatte als Nährboden. Jeder Beutel enthält: 2 Lateral-Flow-Kassetten zur Identifizierung von (i) OXA-48, KPC, NDM und (ii) VIM und IMP.

Identifizierung von OXA-48, KPC und NDM. Eine Nitrozellulosemembran wird sensibilisiert mit:

- (1) einem monoklonalen Antikörper gegen OXA-48-Carbapenemasen und Varianten (außer OXA-163-ähnliche Carbapenemasen) („O“-Linie)
- (2) einem monoklonalen Antikörper gegen KPC-Carbapenemasen („K“-Linie)
- (3) einem monoklonalen Antikörper gegen NDM-Carbapenemasen („N“-Linie)
- (4) einem Kontroll-Capture-Reagens (obere „C“-Linie).

Vier verschiedene Konjugate mit Nanopartikeln aus kolloidalem Gold sind auf einer Membran aufgetrocknet: ein Konjugat gegen ein zweites Epitop der OXA-48-Carbapenemase, ein Konjugat gegen ein zweites Epitop der KPC-Carbapenemase, ein drittes Konjugat, das spezifisch gegen die NDM-Carbapenemase ist, sowie ein Kontrollkonjugat zur Validierung der Testbedingungen.

Identifizierung von VIM und IMP. Eine Nitrozellulosemembran wird sensibilisiert mit:

- (1) einem monoklonalen Antikörper gegen VIM-Carbapenemasen („V“-Linie),
- (2) einem monoklonalen Antikörper gegen IMP-Carbapenemasen („I“-Linie)
- (3) einem Kontroll-Capture-Reagens (obere „C“-Linie).

Drei verschiedene Konjugate mit Nanopartikeln aus kolloidalem Gold sind auf einer Membran aufgetrocknet: ein Konjugat gegen VIM-Carbapenemasen, ein Konjugat gegen IMP-Carbapenemasen und ein Kontrollkonjugat.

Wenn der mitgelieferte Puffer, der die resuspendierten Bakterien enthält, mit dem Teststreifen in Kontakt kommt, migrieren die gelösten Konjugate mit der Probe durch passive Diffusion und kommen in Kontakt mit den jeweiligen auf dem Nitrozellulosestreifen immobilisierten Antikörpern. Wenn die Probe eine OXA-48-, KPC-, NDM-, VIM- oder IMP-Carbapenemase enthält, binden die entsprechenden Komplexe aus den Konjugaten und entweder OXA-48, KPC, NDM, VIM oder IMP an die entsprechenden spezifischen Linien (OXA-48: „O“-Linie, KPC: „K“-Linie, NDM: „N“-Linie, VIM: „V“-Linie, IMP: „I“-Linie). Die Migration durch passive Diffusion setzt sich fort und die Konjugate und das Probenmaterial erreichen die (obere) Kontrollreagens-Linie, die ein Kontrollkonjugat bindet („C“-Linie), wodurch eine rote Linie entsteht.

Das Ergebnis wird innerhalb von 15 Minuten in Form von roten Linien auf dem Streifen sichtbar.

III. REAGENZIEN UND MATERIALIEN

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

20 versiegelte Beutel, die jeweils zwei Testkassetten und ein Trockenmittel enthalten. Jede Kassette enthält einen sensibilisierten Teststreifen.

2. LY-A-Verdünnungspuffer (15 ml-Fläschchen)

Gepufferte Kochsalzlösung (pH 7,5), enthält Tris, Na₃ (<0,1 %) und ein Detergenz

3. Gebrauchsanleitung (1)

4. Halbstarre Einweg-Entnahmeröhrchen mit Tropfern (20)

IV. BESONDERE VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle Arbeitsschritte in Zusammenhang mit dem Gebrauch des Tests sind in Übereinstimmung mit der Guten Laborpraxis (GLP) durchzuführen.

- Alle Reagenzien sind ausschließlich für den Gebrauch in der *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.

- Den Beutel vorsichtig öffnen.

- Die Nitrozellulose möglichst nicht mit den Fingern berühren.

- Beim Umgang mit Proben Handschuhe tragen.

- Niemals Reagenzien aus einem anderen Kit verwenden.

- Die Adsorptionsstellen der Immunreagenzien sind durch grüne Linien angezeigt. Die grüne Farbe verschwindet während des Tests.

- Die Qualität der Reagenzien kann nicht garantiert werden, wenn diese nach Ablauf ihres Verfalldatums verwendet oder nicht unter den in der Packungsbeilage angegebenen Bedingungen aufbewahrt werden.

V. ABFALLENTSORGUNG

- Handschuhe, Abstrichröhrchen, Teströhrchen und benutzte Vorrichtungen in Übereinstimmung mit der GLP entsorgen.

- Jeder Anwender ist selbst für die korrekte Entsorgung des Abfalls zuständig und hat sicherzustellen, dass die Entsorgung in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Vorschriften erfolgt.

VI. AUFBEWAHRUNG

- Ungeöffnete Beutel können bei 4 °C bis 30 °C aufbewahrt und bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum benutzt werden. Nach dem Öffnen des Beutels den Test so schnell wie möglich durchführen.

- Testkassetten und Puffer nicht einfrieren.

VII. HANDHABUNG UND GEWINNUNG VON PROBEN

Die zu testenden Proben sollten durch standardmäßige mikrobiologische Methoden gewonnen und behandelt werden.

Darauf achten, dass die Proben nicht mit Lösungen behandelt sind, die Formaldehyd oder Formaldehyd-Derivate enthalten.

Die geprüften und für die Coris BioConcept RESIST Kits validierten Nährmedien sind auf der folgenden Website aufgeführt: <https://www.corisbio.com/Products/Human-Field/OKNVI-RESIST-5.php>

VIII. VERFAHREN

TESTVORBEREITUNGEN:

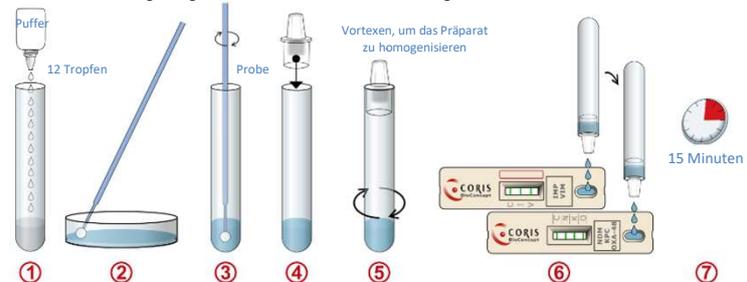
Die Bestandteile des Kits in der ungeöffneten Verpackung und die Proben (falls die Platte mit der zu testenden Kolonie bei 4 °C aufbewahrt wurde) vor der Durchführung eines Tests Raumtemperatur (15-30 °C) annehmen lassen.

Den Beutel öffnen und die Vorrichtung entnehmen. Nach dem Öffnen sofort den Test durchführen. Die Testkassetten mit dem Namen des Patienten oder der Probennummer beschriften (eine Testkassette pro Probe).

PROBENVORBEREITUNGSVERFAHREN:

Die Leistung des Tests mit anderen Probentypen als Bakterienkolonien wurde nicht untersucht. Für optimale Testleistung empfehlen wir die Verwendung von frischem Bakterienkolonien.

1. Ein halbstarres Röhrchen vorbereiten und 12 Tropfen LY-A-Puffer in das Röhrchen geben.
2. Die Bakterien durch Aufnahme einer Kolonie mit einer bakteriologischen Einwegöse entnehmen und die Öse bis zum Boden in das halbstarre Röhrchen mit der Pufferlösung eintauchen.
3. Vor dem Entfernen der Öse gründlich umrühren.
4. Den Tropfer fest auf dem halbstarren Röhrchen einsetzen.
5. Das Präparat durch Mischen auf dem Vortex homogenisieren. Die gesamte Bakterienkolonie muss im Puffer suspendiert werden.
6. Das Teströhrchen umdrehen und langsam jeweils 3 Tropfen verdünnte Probe in die Probenkavität jeder der beiden mit (i) NDM, KPC und OXA-48 sowie (ii) IMP und VIM beschrifteten Kassetten geben. Alternativ 100 µl verdünnte Probe mit einer Mikropipette in jede Probenkavität der Kassetten geben.
7. 15 Min. lang reagieren lassen und dann das Ergebnis ablesen.



Positive Ergebnisse werden unter Umständen früher erkennbar, d. h. bereits sobald die Test- und Kontrolllinien sichtbar werden.

Nach Ablauf der Reaktionszeit dürfen neu erscheinende Linien nicht mehr berücksichtigt werden.

Die Ergebnisse müssen auf den noch nassen Streifen abgelesen werden.

IX. ERGEBNISINTERPRETATION

Die Ergebnisse sind für jede der beiden Kassetten folgendermaßen zu interpretieren:

Negatives Testergebnis: Im mittleren Lesefenster erscheint an der Position der Kontrolllinie (C) eine rötlich-violette Linie. Keine weitere Linie vorhanden.

Positives Testergebnis: Zusätzlich zur rötlich-violetten Kontrolllinie (C) ist eine rötlich-violette Linie an einer der Testlinienpositionen („N“ oder „K“ oder „O“) auf der mit (i) NDM, KPC und OXA-48 beschrifteten Kassette oder an einer der Testlinienpositionen („I“ oder „V“) auf der mit (ii) IMP und VIM beschrifteten Kassette sichtbar. Die Intensität der Testlinie kann je nach der in der Probe vorhandenen Antigenmenge sowie des in der Probe vorhandenen Variantentyps variieren. Jede rötlich-violette Testlinie (OXA-48, KPC, NDM, VIM und IMP), auch wenn sie nur schwach sichtbar ist, sollte als positives Ergebnis gewertet werden.

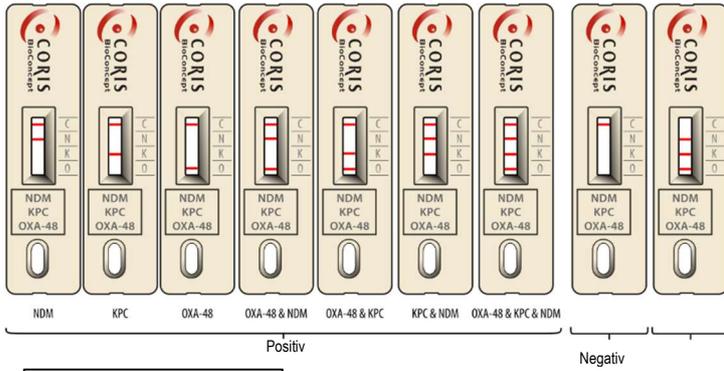
Wenn eine positive Testlinie neben der „O“-Markierung erscheint, enthält die Probe OXA-48- oder OXA-48-ähnliche Varianten. Wenn sie neben der „K“-Markierung erscheint, enthält die Probe KPC-Varianten. Wenn sie neben der „N“-Markierung erscheint, enthält die Probe NDM. Wenn sie neben der „V“-Markierung erscheint, enthält die Probe VIM. Wenn sie neben der „I“-Markierung erscheint, enthält die Probe IMP. Es sind auch Kombinationen aus positiven Testlinien möglich.

In diesem Fall enthält die Probe die entsprechende Kombination mehrerer Carbapenemasen.

Ungültiges Testergebnis: Ist keine Kontrolllinie vorhanden, so weist dies auf ein Fehlschlagen des Testverfahrens hin. Ungültige Tests mit einer neuen Testkassette wiederholen.

Hinweis: Während des Trocknens kann an der Stelle der Testlinie ein sehr schwacher Schatten erscheinen. Dieser ist nicht als positives Ergebnis zu werten.

Kassette 1: OXA-48 & KPC & NDM



Molekular diagnostische Methode	Positiv	Negativ	Gesamt
IMP Test			
Positiv	16	0	16
Negativ	3	145	148
Gesamt	19	145	164

95 % Konfidenzintervall ¹
 Sensitivität: 84,2 % (59,5 - 95,8 %)
 Spezifität: 100 % (96,8 - 100 %)
 Positiver prädiktiver Wert: 100 % (75,9 - 100 %)
 Negativer prädiktiver Wert: 98,0 % (93,7 - 99,5 %)
 Übereinstimmung: 98 % (161/164)

C. Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit

Zur Überprüfung der Genauigkeit innerhalb einer Charge (Wiederholpräzision) wurden jeweils die gleichen positiven Proben und eine Pufferlösung 15 Mal mit Kits aus derselben Herstellungsladung unter einheitlichen Versuchsbedingungen getestet. Alle beobachteten Ergebnisse wurden erwartungsgemäß bestätigt.

Zur Überprüfung der chargenübergreifenden Genauigkeit (Vergleichspräzision) wurden mehrere Proben (Positivproben und Puffer) mit Kits aus drei verschiedenen Herstellungsladungen getestet. Alle Ergebnisse wurden erwartungsgemäß bestätigt.

XI. GRENZEN DES KITS

Der Test ist qualitativ und ist nicht in der Lage, die in der Probe vorhandene Antigenmenge vorherzusagen. Zur Diagnosestellung müssen das klinische Bild und weitere Testergebnisse berücksichtigt werden. Ein positives Testergebnis schließt die Möglichkeit nicht aus, dass andere Antibiotikaresistenzmechanismen vorhanden sein könnten.

XII. TECHNISCHE PROBLEME/REKLAMATIONEN

Wenn ein technisches Problem auftritt oder die Leistung nicht den Angaben in dieser Packungsbeilage entspricht:

1. Notieren Sie sich die Chargennummer des zu reklamierenden Kits.
2. Die problematische Probe wenn möglich eingefroren aufbewahren, solange die Reklamation in Bearbeitung ist.
3. Kontaktieren Sie Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) oder Ihren Vertriebspartner vor Ort.

XIII. QUELLENANGABE

- A. J. Wesley MacDonald and V. Chibbhai 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, Stuelens MJ, Monnet DL, Albigier 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 Enterobacteriales 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. Coite 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 Enterobacteriales 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

Zuletzt aktualisiert am 21. SEPTEMBER 2020

	Katalognummer		Hersteller
	In-vitro-Diagnostikum		Temperaturgrenzwerte
	Enthält ausreichend Material für <n> Tests		Chargennummer
	Gebrauchsanleitung beachten		Nicht wiederverwenden
	Trocken halten		Verwendbar bis
DIL SPE	Verdünnungsprobe	CONT Na ₃	Enthält Natriumazid

X. LEISTUNGSDATEN

A. Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze wurde mit gereinigten rekombinanten OXA-48-, KPC-, NDM-, VIM- und IMP-Proteinen ermittelt und liegt bei 0,125 ng/ml, 0,625 ng/ml, 0,25 ng/ml, 0,23 ng/ml bzw. 1,56 ng/ml.

B. Retrospektive Studie

Die Testkassetten wurde durch Vergleich mit molekulardiagnostischen Referenzmethoden (intern validierte Multiplex-PCR einschließlich Sequenzierung) im Nationalen Referenzlabor für multiresistente gramnegative Bakterien (Belgien) im Rahmen einer prospektiven Studie mit 164 nicht duplizierten, konsekutiven klinischen Isolaten mit Verdacht auf CPE validiert, die zwischen 2013 und 2018 aus 78 belgischen Krankenhäusern entnommen wurden.

Molekular diagnostische Methode	Positiv	Negativ	Gesamt
Oxa-48 Test			
Positiv	40	0	40
Negativ	0	124	124
Gesamt	40	124	164

95 % Konfidenzintervall ¹

Sensitivität: 100 % (89,1 - 100 %)
 Spezifität: 100 % (96,3 - 100 %)
 Positiver prädiktiver Wert: 100 % (89,1 - 100 %)
 Negativer prädiktiver Wert: 100 % (96,3 - 100 %)
 Übereinstimmung: 100 % (164/164)

Molekular diagnostische Methode	Positiv	Negativ	Gesamt
KPC Test			
Positiv	25	0	25
Negativ	0	139	139
Gesamt	25	139	164

95 % Konfidenzintervall ¹

Sensitivität: 100 % (83,4 - 100 %)
 Spezifität: 100 % (96,6 - 100 %)
 Positiver prädiktiver Wert: 100 % (83,4 - 100 %)
 Negativer prädiktiver Wert: 100 % (96,6 - 100 %)
 Übereinstimmung: 100 % (164/164)

Molekular diagnostische Methode	Positiv	Negativ	Gesamt
NDM Test			
Positiv	31	0	31
Negativ	3	130	133
Gesamt	34	130	164

95 % Konfidenzintervall ¹

Sensitivität: 91,2 % (75,2 - 97,7 %)
 Spezifität: 100 % (96,4 - 100 %)
 Positiver prädiktiver Wert: 100 % (86,3 - 100 %)
 Negativer prädiktiver Wert: 97,7 % (93,0 - 99,4 %)
 Übereinstimmung: 98,2 % (161/164)

Molekular diagnostische Methode	Positiv	Negativ	Gesamt
VIM Test			
Positiv	36	0	36
Negativ	4	124	128
Gesamt	40	124	164

95 % Konfidenzintervall ¹

Sensitivität: 90 % (75,4 - 96,7 %)
 Spezifität: 100 % (96,3 - 100 %)
 Positiver prädiktiver Wert: 100 % (88,0 - 100 %)
 Negativer prädiktiver Wert: 96,9 % (91,7 - 99,0 %)
 Übereinstimmung: 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).