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

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

Fabricant :

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.919
info@corisbio.com

Fabriqué en BELGIQUE

Test de diagnostic rapide <u>in vitro</u> pour la détection des carbapénèmases de types OXA-48, KPC, NDM, VIM et IMP dans une culture bactérienne

À USAGE DIAGNOSTIQUE <u>IN VITRO</u> (FR)
À USAGE STRICTEMENT PROFESSIONNEL
Références : K-15R11, 2 x 20 cassettes, tampon, 20 tubes et pipettes de transfert

I. INTRODUCTION

Les organismes producteurs de carbapénèmases, et plus spécifiquement les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes, constituent un problème de santé publique majeure dans le monde en raison de leur grande résistance aux antibiotiques, notamment, outre les carbapénèmes, à la plupart des classes d'agents antimicrobiens, ce qui limite les possibilités de prise en charge des patients infectés. Outre les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes, les organismes producteurs de carbapénèmases comprennent également les bacilles à Gram négatif non fermentants (BGNNF), tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, qui présentent une résistance non seulement aux bêta-lactames et à d'autres groupes d'antibiotiques, mais également aux carbapénèmes. La propagation rapide des organismes producteurs de carbapénèmases et des gènes codant ces résistances a entraîné des flambées nosocomiales et des situations endémiques dans le monde entier.
La mise au point de nouveaux tests de diagnostic rapide pour suivre les profils de résistance aux antimicrobiens est considérée comme l'une des actions prioritaires par les experts internationaux et les autorités sanitaires. Les NDM et KPC représentent deux des carbapénèmes les plus répandus et qui augmentent le plus rapidement dans de nombreux pays. D'autre part, les carbapénèmases de type OXA-48 de classe D sont les mécanismes de résistance les plus difficiles à détecter par les laboratoires cliniques. Les carbapénèmases de type VIM sont non seulement présentes dans les entérobactéries, mais également très répandues dans les bactéries non fermentantes. Les carbapénèmases de type IMP doivent être considérées comme un problème potentiel puisqu'elles dégradent non seulement les C3G mais également les antimicrobiens de la classe des carbapénèmes comme l'imipénème. La prévalence des carbapénèmases de type IMP est la plus faible, sauf au Japon où elle est plus répandue.
Des tests phénotypiques à base d'inhibiteurs sont disponibles pour la confirmation des carbapénèmases de classe A (KPC) et de classe B (VIM, IMP, NDM). De nos jours, la confirmation définitive du mécanisme de résistance des organismes producteurs de carbapénèmases repose sur des tests moléculaires. Ces tests sont coûteux et peuvent être effectués uniquement dans un environnement dédié et par un personnel qualifié, ce qui limite une utilisation plus généralisée.
O.K.N.V.I. Le test RESIST-5 fait partie de la gamme de tests de diagnostic des résistances aux antimicrobiens « RESIST » de Coris BioConcept.

II. PRINCIPE DES TESTS

Les tests sont prêts à l'emploi et reposent sur une technologie à membrane avec des nanoparticules d'or colloïdal. Notre trousse est destinée à la détection des carbapénèmases provenant de l'isolat d'une colonie bactérienne d'entérobactéries ou de BGNNF se développant sur une plaque de gélose. Chaque sachet contient : 2 cassettes à flux latéral pour l'identification de (i) OXA-48, KPC, NDM et (ii) VIM et IMP.
Identification des carbapénèmases de types OXA-48, KPC et NDM. Une membrane de nitrocellulose est sensibilisée à :
(1) un anticorps monoclonal dirigé contre les carbapénèmases de type OXA-48 et leurs variants (à l'exception des enzymes de type OXA-163) (ligne « O »)
(2) un anticorps monoclonal dirigé contre les carbapénèmases de type KPC (ligne « K »)
(3) un anticorps monoclonal dirigé contre les carbapénèmases de type NDM (ligne « N »)
(4) un réactif de capture de contrôle (ligne « C » supérieure).
Quatre conjugués à nanoparticules d'or colloïdal différents sont séchés sur une membrane : un conjugué dirigé contre un deuxième épitope des carbapénèmases de type OXA-48, un conjugué dirigé contre un deuxième épitope des carbapénèmases de type KPC, un troisième conjugué spécifique des carbapénèmases de type NDM et un conjugué de contrôle pour valider les conditions du test.
Identification des carbapénèmases de types VIM et IMP. Une membrane de nitrocellulose est sensibilisée à :
(1) un anticorps monoclonal dirigé contre les carbapénèmases de type VIM (ligne « V »),
(2) un anticorps monoclonal dirigé contre les carbapénèmases de type IMP (ligne « I »)
(3) un réactif de capture de contrôle (ligne « C » supérieure).
Trois conjugués à nanoparticules d'or colloïdal différents sont séchés sur une membrane : un conjugué dirigé contre les carbapénèmases de type VIM, un conjugué dirigé contre les carbapénèmases de type IMP et un conjugué de contrôle.
Lorsque le tampon contenant les bactéries resuspendues entre en contact avec la membrane, les conjugués solubilisés migrent avec l'échantillon par diffusion passive et, les mélanges conjugué/échantillon entrent en contact avec les anticorps respectifs immobilisés qui sont absorbés par la bandelette de nitrocellulose. Si l'échantillon contient des carbapénèmases de type OXA-48, KPC, NDM, VIM ou IMP, les complexes respectifs constitués des conjugués et de l'une des carbapénèmases de type OXA-48, KPC, NDM, VIM ou IMP resteront liés à leurs lignes spécifiques respectives (OXA-48 : ligne « O »; KPC : ligne « K »; NDM : ligne « N », VIM : ligne « V », IMP : ligne « I »). La migration se poursuit par diffusion passive et les mélanges conjugué/échantillon entrent en contact avec le réactif de contrôle de la ligne (supérieure) et se lient au conjugué de contrôle (ligne « C »), produisant ainsi une ligne rouge.
Le résultat est visible dans les 15 minutes sous la forme de lignes rouges sur la bandelette.

III. RÉACTIFS ET MATÉRIELS

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

20 sachets hermétiques contenant deux cassettes à flux latéral et un déshydratant.
Chaque cassette contient une bandelette sensibilisée.

2. **Flacon de tampon LY-D (7 ml)**

Solution de Tris-EDTA contenant du NaN_3 (<0,1 %) et un détergent.

3. **Notice d'utilisation (1)**
4. **Tubes de prélèvement jetables (20)**
5. **Pipettes de transfert jetables (20)**

<u>Matériels à commander séparément :</u>
- RESIST-BC (S-1001) : trousse de réactifs à utiliser pour l'hémoculture
- ReSCape (S-1002) : trousses de réactifs à utiliser avec l'écouvillon rectal

IV. PRÉCAUTIONS PARTICULIÈRES

- Toutes les manipulations liées à l'utilisation de ce test doivent être effectuées selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire.
- Tous les réactifs sont destinés uniquement au diagnostic *in vitro*.
- Les sachets doivent être ouverts avec précaution.
- Évitez de toucher la nitrocellulose avec les doigts.
- Portez des gants pendant la manipulation des échantillons.
- N'utilisez jamais les réactifs d'une autre trousse.
- Les lignes vertes indiquent les sites d'adsorption des immunoréactifs. La couleur verte disparaît pendant le test.
- La qualité des réactifs ne peut être garantie au-delà des dates de péremption ou si les réactifs ne sont pas conservés selon les conditions requises indiquées dans la notice.

V. ÉLIMINATION DES DÉCHETS

- Éliminez les gants, les écouvillons, les tubes de prélèvement et les dispositifs usagés conformément à la législation sur les BPL.
- Chaque utilisateur est responsable de la gestion des déchets générés, et doit veiller à ce qu'ils soient éliminés conformément à la législation applicable.

VI. CONSERVATION

- Le sachet non ouvert doit être conservé à une température comprise entre 4 et 30 °C, et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage. Réalisez le test immédiatement après ouverture du sachet.
- Évitez de congeler les dispositifs et le tampon.

VII. MANIPULATION ET PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

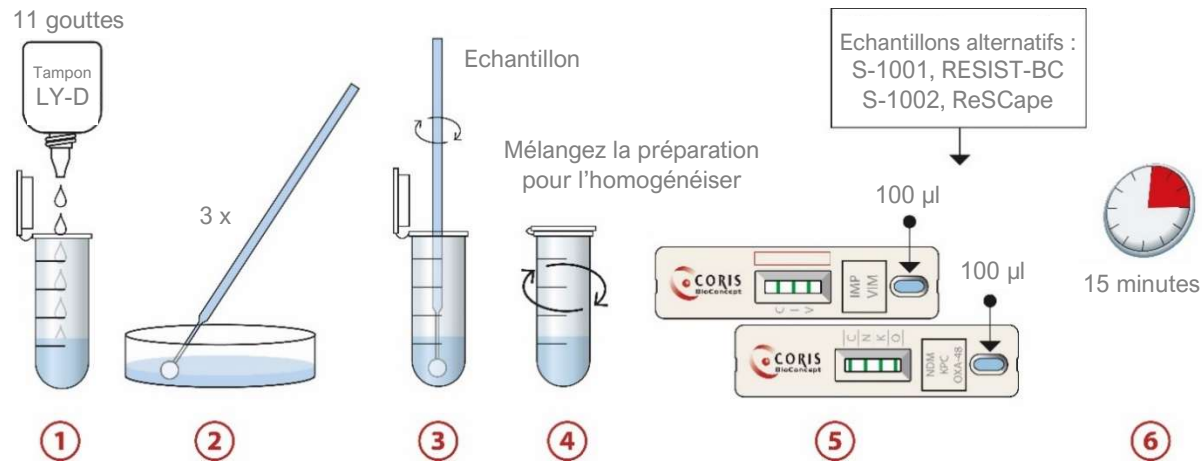
Les échantillons à tester doivent être obtenus et manipulés selon des méthodes microbiologiques standard.
Veillez à ce que les échantillons ne soient pas traités avec des solutions contenant du formaldéhyde ou ses dérivés.
Les milieux de culture testés et validés avec les trousses RESIST de Coris BioConcept sont répertoriées sur le site Web : https://www.corisbio.com/products/oknvi-resist-5/faq

VIII. PROCÉDURE

<u>PRÉPARATION DU TEST :</u>
Laissez les composants de la trousse dans leur emballage fermé, et les échantillons (si la plaque contenant la colonie à tester a été conservée à 4 °C) se stabiliser à température ambiante (15-30 °C) avant de réaliser un test.
Ouvrez le sachet et retirez le dispositif. Réalisez le test immédiatement après ouverture. Indiquez le nom du patient ou le numéro de l'échantillon sur le dispositif (un dispositif par échantillon).

<u>PROCÉDURE DE PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON :</u>
Les déclarations de performances d'échantillons autres que les colonies bactériennes ont été établies pour les écouvillons rectaux et les hémocultures.
En ce qui concerne les écouvillons rectaux et les hémocultures, la procédure de préparation de l'échantillon décrite dans les trousses correspondantes (S-1002, ReSCape ET S-1001, RESIST-BC) doit être respectée.
En ce qui concerne les colonies bactériennes, il est recommandé d'utiliser des cultures sur gélose fraîches pour obtenir des performances de test optimales et de procéder comme suit :

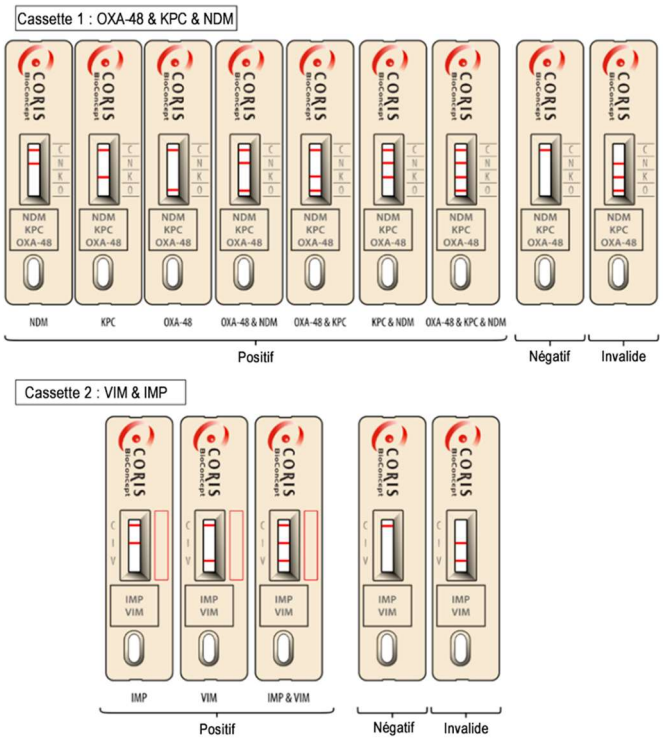
1. Préparez un tube de prélèvement et ajoutez **11 gouttes** de tampon LY-D dans le tube
2. Récoltez les bactéries en prenant **3 colonies** avec une anse d'inoculation jetable et plongez-la dans le fond du tube contenant le tampon. La même anse d'inoculation jetable peut être utilisée pour récolter les 3 colonies.
3. Agitez soigneusement avant de retirer l'anse.
4. Fermez le tube et mélangez la préparation pour l'homogénéiser.
5. Utilisez la pipette de transfert fournie dans la trousse et ajoutez 100 µl d'échantillon dilué dans le puits destiné à l'échantillon sur chacune des deux cassettes étiquetées (i) NDM, KPC et OXA-48 et (ii) IMP et VIM (**l'échantillon dilué doit atteindre la ligne noire présente sur la pipette de transfert pour aspirer avec précision 100 µl**).
6. Laissez réagir pendant 15 minutes et lisez le résultat.



Les résultats positifs peuvent être consignés dès que les lignes de test apparaissent.
Ne tenez pas compte des nouvelles lignes de faible intensité qui s'affichent une fois le temps de réaction écoulé.
Le résultat doit toujours être lu avec une bandelette humide.

IX. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats doivent être interprétés comme suit pour chacune des deux cassettes :
Résultat du test négatif : une ligne rouge-violette apparaît dans la fenêtre de lecture à l'emplacement de la ligne de contrôle (C). Aucune autre ligne n'apparaît.
Résultat du test positif : outre la ligne rouge-violette à l'emplacement de la ligne de contrôle (C), une ligne rouge-violette visible apparaît à l'emplacement de l'une des lignes de test (« N » ou « K » ou « O ») sur la cassette étiquetée (i) NDM, KPC, OXA-48 ou à l'emplacement de l'une des lignes de test (« I » ou « V ») sur cassette étiquetée (ii) IMP et VIM. L'intensité de la ligne de test dépend de la quantité d'antigènes ainsi que du type de variant présent dans l'échantillon. Toute ligne rouge-violette (OXA-48, KPC, NDM, VIM et IMP), même de faible intensité, doit être considérée comme un résultat positif.
Si une ligne de test positive apparaît à côté du repère « O », l'échantillon contient des carbapénèmases de type OXA-48 ou des variants de celles-ci. Si elle apparaît à côté du repère « K », l'échantillon contient des variants de KPC ; à côté du repère « N », l'échantillon contient des carbapénèmases de type NDM ; à côté du repère « V », l'échantillon contient des carbapénèmases de type VIM ; et à côté du repère « I », l'échantillon contient des carbapénèmases de type IMP. Les combinaisons de lignes de test positives sont possibles.
Dans ce cas, l'échantillon contient plusieurs carbapénèmases.
Résultat du test invalide : L'absence de ligne de contrôle indique un échec de la procédure de test. Si le résultat est invalide, renouvelez le test en utilisant un nouveau dispositif.
Remarque : pendant le processus de séchage, une ombre très légère peut apparaître au niveau de l'emplacement des lignes de test. Cela ne doit pas être considéré comme un résultat positif.



X. PERFORMANCES

A. Limite de détection

La limite de détection déterminée avec les protéines recombinantes purifiées OXA-48, KPC, NDM, VIM et IMP a été évaluée respectivement à 0,25 ng/ml, 0,5 ng/ml, 0,0625 ng/ml, 0,23 ng/ml et 0,781 ng/ml.

B. Étude rétrospective

Les cassettes de test ont été validées par comparaison avec la méthode moléculaire de référence (validée en interne par PCR multiplexe, y compris le séquençage) dans le cadre d'une étude rétrospective réalisée sur 180 isolats cliniques de CPE consécutifs non dupliqués, prélevés entre 2012 et 2021 dans hôpitaux belges.

Méthode moléculaire / Test OXA-48	Positif	Négatif	Total
Positif	41	0	41
Négatif	0	139	139
Total	41	139	180

Intervalle de confiance de 95 % [1]

Sensibilité :	100 %	(entre 89,3 et 100 %)
Spécificité :	100 %	(entre 96,6 et 100 %)
Valeur prédictive positive :	100 %	(entre 89,3 et 100 %)
Valeur prédictive négative :	100 %	(entre 96,7 et 100 %)
Concordance :	100 %	(180/180)

Méthode moléculaire / Test KPC	Positif	Négatif	Total
Positif	24	0	24
Négatif	0	156	156
Total	24	156	180

Intervalle de confiance de 95 % [1]

Sensibilité :	100 %	(entre 82,8 et 100 %)
Spécificité :	100 %	(entre 97,0 et 100 %)
Valeur prédictive positive :	100 %	(entre 82,8 et 100 %)
Valeur prédictive négative :	100 %	(entre 97,0 et 100 %)
Concordance :	100 %	(180/180)

Méthode moléculaire / Test NDM	Positif	Négatif	Total
Positif	40	0	40
Négatif	0	140	140
Total	40	140	180

Intervalle de confiance de 95 % [1]

Sensibilité :	100 %	(entre 89,1 et 100 %)
Spécificité :	100 %	(entre 96,7 et 100 %)
Valeur prédictive positive :	100 %	(entre 89,1 et 100 %)
Valeur prédictive négative :	100 %	(entre 96,7 et 99,4 %)
Concordance :	100 %	(180/180)

Méthode moléculaire / Test VIM	Positif	Négatif	Total
Positif	43	0	43
Négatif	3	134	137
Total	46	134	180

Intervalle de confiance de 95 % [1]

Sensibilité :	93,5 %	(entre 81,1 et 98,3 %)
Spécificité :	100 %	(entre 96,5 et 100 %)
Valeur prédictive positive :	100 %	(entre 89,8 et 100 %)
Valeur prédictive négative :	97,8 %	(entre 93,2 et 99,4 %)
Concordance :	98,3 %	(177/180)

Méthode moléculaire / Test IMP	Positif	Négatif	Total
Positif	19	0	19
Négatif	0	161	161
Total	19	161	180

Intervalle de confiance de 95 % [1]

Sensibilité :	100 %	(entre 79,1 et 100 %)
Spécificité :	100 %	(entre 97,1 et 100 %)
Valeur prédictive positive :	100 %	(entre 79,1 et 100 %)
Valeur prédictive négative :	100 %	(entre 97,1 et 100 %)
Concordance :	100 %	(180/180)

La trousse O.K.N.V.I. RESIST-5 a également été validée pour les écouvillons rectaux et les hémocultures.

C. Répétabilité et reproductibilité

Pour vérifier la précision intra-lot (répétabilité), les mêmes échantillons positifs et une solution tamponnée ont été analysés 15 fois sur les trousses issues du même lot de production dans les mêmes conditions expérimentales. Tous les résultats observés ont été confirmés comme prévu.
Pour vérifier la précision inter-lots (reproductibilité), certains échantillons (positifs et tampon) ont été analysés sur des trousses issues de trois lots de production différents. Tous les résultats ont été confirmés comme prévu.

XI. LIMITES DE LA TROUSSE

Le test est qualitatif et ne permet pas d'estimer la quantité d'antigènes présents dans l'échantillon. La présentation clinique et les autres résultats du test doivent être pris en compte pour établir un diagnostic. Un test positif n'exclut pas la possibilité que d'autres mécanismes de résistance aux antibiotiques soient présents.

XII. PROBLÈMES TECHNIQUES/RÉCLAMATIONS

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 de la trousse concernée.
2. Si possible, conservez l'échantillon dans des conditions de stockage appropriées en attendant le traitement de la plainte.
3. Contactez Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) ou votre distributeur local.

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

XIII. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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**

Dernière mise à jour : 20 FEVRIER 2023

REF	Numéro du catalogue		Fabricant
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro		Limites de température
Σ	Contenu suffisant pour <n> tests	LOT	Code du lot
	Lire la notice d'utilisation		Ne pas réutiliser
	Conserver au sec		Date de péremption
DIL SPE	Échantillon de diluant	CONT NaN_3	Contient de l'azoture de sodium
UDI	Identifiant unique des dispositifs		

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