RESIST-3 O.O.K. *K*-SeT

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
Produit en BELGIQUE

www.corisbio.com

IFU- 58R4/FR/04

Test rapide de diagnostic <u>in vitro</u> pour la détection des carbapénèmases OXA-48, OXA-163 et KPC sur cultures bactériennes

AUX FINS DE DIAGNOSTIC IN VITRO **FR**
POUR USAGE PROFESSIONEL UNIQUEMENT
Références: K-15R4, 20 cassettes, 20 tubes et 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 negatives non fermentantes (NFGNB), tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* qui présentent des résistances non seulement aux béta-lactames et à d'autres groupes d'antibiotiques mais également aux carbapénèmes. 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. KPC représente une des carbapénèmases les plus répandues dans de nombreux pays.
D'autre part, les carbapénèmases de type D OXA-48 et leurs variants représentent le mécanisme de résistance le plus difficile à détecter pour les laboratoires cliniques. En particulier, le variant OXA-163 est une enzyme difficile à identifier. En effet, bien que l'OXA-163 présente une activité carbapénèmase plus faible que celle de l'OXA-48, elle montre une activité accrue envers les céphalosporines à spectre élargi (ESC) qui représentent un autre défi pour une identification rapide. L'identification rapide de ces carbapénèmases est cruciale pour améliorer à la fois la thérapie du patient et le contrôle de la propagation d'une telle résistance aux antibiotiques dans les hôpitaux. 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) ; cependant, ces tests prennent énormément de temps et nécessitent un jour supplémentaire pour obtenir les résultats. Par ailleurs, les tests phénotypiques colorimétriques ne sont pas assez sensibles pour détecter les carbapénèmases faiblement exprimées telles qu'OXA-48 et les variants étroitement apparentés et pour la sous-famille OXA-163 qui présente une très faible activité carbapénèmase. De nos jours, la confirmation définitive de l'OXA-48 ou de l'OXA-163 repose sur des dosages moléculaires et sur le séquençage de gènes. Ces tests sont coûteux et ne peuvent être réalisés que par du personnel qualifié dans un environnement adapté, limitant ainsi leur utilisation plus généralisée.

II. PRINCIPE DU TEST

Le test est prêt à l'emploi et repose sur l'utilisation d'une technologie sur membrane avec des nanoparticules d'or colloïdal. Notre trousse est destinée à la détection de carbapénémases provenant d'une seule colonie bactérienne d'entérobactérie ou de NFGNB d'une culture sur boîte gélosée. Une membrane de nitrocellulose est sensibilisée avec (1) un anticorps monoclonal dirigé contre un épitope du carbapénèmase OXA-48 et les variants (mais pas le variant OXA-163), avec (2) un second anticorps monoclonal dirigé contre un autre épitope du carbapénèmase OXA-48 et variants (incluant OXA-163) et avec (3) un troisième anticorps monoclonal dirigé contre un épitope du carbapénèmase KPC.
Il y a 3 différents conjugués couplés à des particules d'or colloïdal qui sont insolubilisés sur une membrane : un conjugué dirigé contre un troisième épitope à la carbapénèmase OXA-48 (+ 163), un conjugué dirigé contre un second épitope à la carbapénèmase KPC et un conjugué contrôle pour valider les conditions de tests. Ce test est destiné à la détection des carbapénèmases OXA-48, OXA-163 et KPC sur une unique colonie d'entérobactéries isolée d'une culture sur boite gélosée. L'échantillon doit être dilué dans le tampon de dilution fourni avec le test. 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 rencontre le premier anticorps anti-KPC adsorbé sur la nitrocellulose du test.
Si l'échantillon contient une carbapénèmase de la famille KPC, le complexe conjugué-KPC restera fixé sur la première ligne (bas) contenant le réactif anti-KPC adsorbé sur la membrane de nitrocellulose. La solution continue à migrer par diffusion passive et rencontre la seconde ligne d'anticorps anti-OXA-48 et ensuite la troisième ligne d'anticorps anti-OXA-163 (+48) qui sont adsorbés sur la membrane. Si l'échantillon contient une carbapénèmase OXA-48, le complexe conjugué-OXA-48 restera fixé sur la seconde ligne d'anticorps anti-OXA-48. Si l'échantillon contient une carbapénèmase OXA-163, le complexe conjugué-OXA-163 restera fixé sur la troisième ligne d'anticorps anti-OXA-163 (+48)*. Finalement, la solution continue à migrer et rencontre la quatrième ligne (haut) de 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.

* Comme le second conjugué est dirigé contre tous les variants d'OXA-163 mais également tous les variants d'OXA-48, si l'échantillon contient une quantité très élevée d'OXA-48, la deuxième ligne (noté "48" sur la cassette) sera très positive et la troisième ligne (noté "163" sur la cassette) peut donner un signal faible avec l'OXA-48 non capturé par la deuxième ligne.

III. REACTIFS ET MATERIELS

1. RESIST-3 O.O.K. *K*-SeT (20)
20 pochettes scellées contenant une cassette 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, démarré 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 un dérivé de formaldéhyde.
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/RESIST-3-OOK/FAQ.php

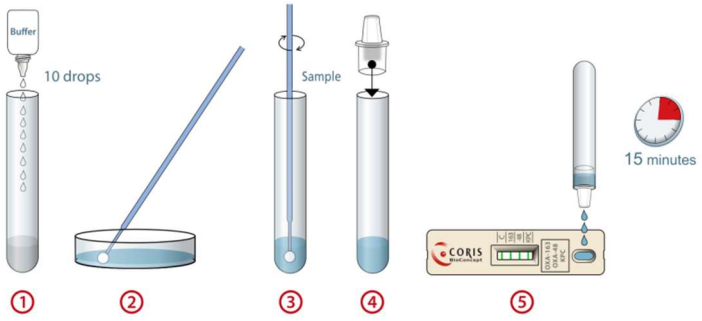
VIII. PROCEDURE

<u>Préparation du test</u>:

Laisser les réactifs, dans leur emballage fermé, et les échantillons (lorsque la plaque 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 la cassette. Lorsque la pochette a été ouverte, utiliser la cassette le plus rapidement possible. Marquer les numéros des prélèvements sur la cassette (une cassette par échantillon).

<u>Procédure de préparation des échantillons:</u>
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 **10** 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. Alternativement, ajouter 100µl avec une micropipette dans le puit de la cassette.
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

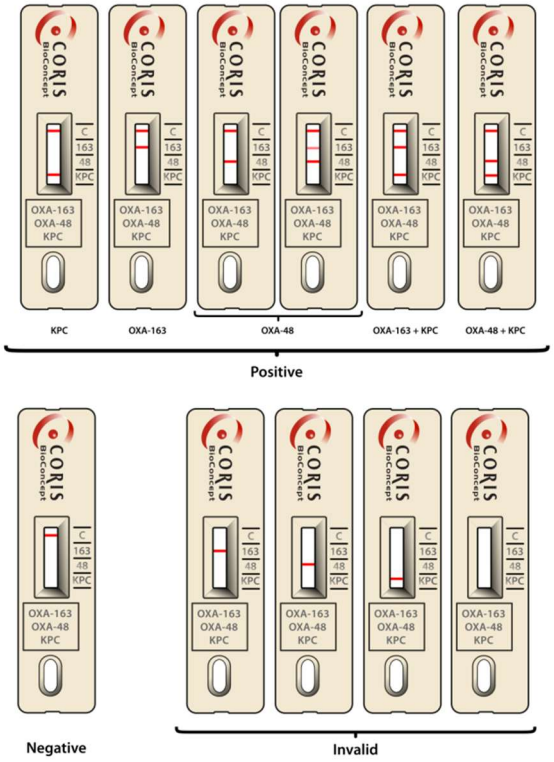
Les résultats doivent être interprétés comme suit:

Test négatif : une bande 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 de pourpre rougeâtre à la ligne de contrôle (C), une bande de pourpre-pourpre visible apparaît à une des lignes de test (OXA-48, KPC ou

OXA-163). 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 ou OXA-163) doit être interprété comme un résultat positif.
Si la seule ligne test positive est la ligne KPC, l'échantillon contient le variant type KPC. Si la seule ligne test positive est la ligne 163, l'échantillon contient le variant OXA-163 (ou un variant apparenté type OXA-247, 405 ou 438). Si la seule ligne test positive est la ligne 48, l'échantillon contient une carbapénèmase OXA-48 (ou des variants apparentés mais pas de la sous-famille OXA-163, c-à-d OXA-163, 247, 405 ou 438).
Dans le cas d'une ligne de test OXA-48 très positive, un faible signal peut apparaître sur la ligne de test OXA-163. Dans ce cas, le test doit être interprété comme un résultat positif OXA-48 et négatif OXA-163.
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 retesté avec une nouvelle cassette.

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 et OXA-163 purifiées et a été évaluée à 0,125 ng/mL et 0,49 ng/mL, respectivement. La limite de détectabilité pour le KPC du test a été évaluée à 0,625 ng/mL.

B. Validation sur souches de référence

Les carbapénèmases de type OXA-48 et OXA-163 du test K-SeT ont été évaluées sur une collection de 75 souches cliniques entièrement caractérisées dans le laboratoire national de référence pour les antimicrobiens (Argentine).

75 souches	**50 souches** testées positives en OXA-48 et OXA-163	**17 souches** porteuses d'une carbapénémase OXA-48 et variants	OXA-48, OXA-162, OXA-181, OXA-232, OXA-244 de *Escherichia coli, Klebsiella oxytoca, Klebsiella pneumoniae*
		33 souches porteuses de variants OXA-163	OXA-163, OXA-247, OXA-438 de *Citrobacter freundii, Enterobacter cloacae, Providencia stuartii, Enterobacter kobei, Escherichia coli, Klebsiella ozoneae, Klebsiella pneumoniae, Kluyvera georgiana*
	25 souches testées négatives pour OXA-48 et OXA-163	**14 souches** porteuses d'une carbapénèmase non-OXA-48	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 souches non porteuses de carbapénèmases	Incluant OXA-1, -3, -4, -5, -6, -7, -9, CMY-2, GES-1 + OXA-2, AmpC + porines, CTX-M + porines

C. Etude prospective

La trousse RESIST-3 O.O.K. K-SeT a été validée par comparaison avec la méthode de référence moléculaire (y compris le séquençage) dans le Centre National de Référence des *Enterobacteriaceae* multi-résistants (Belgique) dans une étude prospective réalisée sur 173 isolats cliniques consécutifs soupçonnés de CPE (de Juillet à Septembre 2016).

Statut KPC RESIST-3 O.O.K. *K*-SeT	Positifs	Négatifs	Total
Positifs	9	0	9
Négatifs	0	164	164
Total	9	164	173

		95% Intervalle de confiance[1]
Sensibilité:	100%	(68.4 to 100 %)
Spécificité:	100%	(98.2 to 100 %)
Valeur Prédictive Positive:	100%	(68.4 to 100 %)
Valeur Prédictive Négative:	100%	(98.2 to 100 %)
Concordance:	100%	(173/173)

D. Précision

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 du problème
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. BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

A. **DW Wareham and MH Abdul Momin.** Rapid Detection of Carbapenemases in Enterobacteriaceae: Evaluation of the RESIST-3 O.K.N (OXA-48, KPC, NDM) Multiplexed Lateral Flow Assay. J Clin Microbiol. 2017 Feb 1. pii: JCM.02471-16
B. **E Rubio, Y Zboromyrska, C Pitart, I Campo, I Alejo-Cancho, A Fasanella, A Vergara, F Marco, J Vila.** Evaluation of a rapid immunochromatographic test for the detection of OXA-48 carbapenemase. Diagn Microbiol Infect Dis. 2017 Mar;87(3):266-267
C. **F Koroska, S Göttig, M Kaase, J Steinmann, S Gatermann, J Sommer, T Wille, G Plum, A Hamprecht.** Comparison of phenotypic tests and an immunochromatographic assay and development of a new algorithm for OXA-48-like detection. J Clin Microbiol. 2016 Dec 28. Pii: JCM.01929-16
D. **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; 54(11):2832-2836
E. **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
F. **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
G. **Fernández J, Fleites A, Rodcio 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
H. **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
I. **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
J. **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
K. **C.S. Nodari, A. Barth, C. Magagnin, A. Zavascki, A. Gales, C. Carvalhaes** OXA-370 is rapidly detected from different culture media using OXA-48 K-SeT® immunochromatography. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam April 09 – 12, 2016
L. **P. Bogaerts, S. Evrard, G. Cuzon, TD. Huang, T. Naas and Y. Glupczynski** Specificity of the OXA-48 immunochromatographic K-SeT for the detection of OXA-48 like in Shewanella spp. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Infectious Amsterdam April 09 – 12, 2016
M. **L. Dortet, A. Jousset, V. Sainte-Rose, G. Cuzon, and T. Naas** Prospective evaluation of the OXA-48 K-SeT for the detection of OXA-48-type carbapenemase producing Enterobacteriaceae. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam April 09 – 12, 2016
N. **P. Bogaerts, S. Evrard, M. Dozen, TD. Huang and Y. Glupczynski** Impact of the isolation medium for the detection of OXA-48 and KPC-producing Gram negative bacteria by immunochromatographic assays. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam April 09 – 12, 2016
O. **I. De Toro Peinado, MªC.M. Gradolph, R. S. Rodriguez, M. V. Troya, MªP. B. Ruiz, B. Palop** A rapid test for detection of OXA-48 carbapenemase. 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam April 09 – 12, 2016

Dernière révision: 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	2	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		