

OXA-48 K-Set



www.corisbio.com

IFU-58R1/IT/01

Produttore:

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

Prodotto in BELGIO

Test diagnostico rapido *in vitro* per la ricerca della carbapenemasi OXA-48 su colonia batterica

PER UTILIZZO *IN VITRO*

ESCLUSIVAMENTE PER USO PROFESSIONALE

Codice: K-15R1, 20 card, tampone, 20 provette e contagocce



I. INTRODUZIONE

Da un punto di vista della salute pubblica, i ceppi di Enterobacteriaceae produttori di carbapenemasi (CPE) o Enterobacteriaceae resistenti ai carbapenemi (CRE) sono motivo di grande preoccupazione nel mondo per la loro elevata resistenza comprendente oltre alla resistenza ai carbapenemi anche la maggior parte delle classi di agenti antimicrobici, la quale riduce di molto le opzioni terapeutiche efficaci sui soggetti infetti. La rapida diffusione di queste CPE ha determinato focolai nosocomiali e situazioni endemiche in molti paesi europei e del mondo.

Le carbapenemasi di tipo D OXA-48 rappresentano il meccanismo di resistenza più impegnativo da individuare per i laboratori clinici. Sebbene esistano test fenotipici basati su inibitori per la conferma delle carbapenemasi di classe A (KPC) e classe B (VIM, IMP, NDM), non esistono per l'individuazione delle carbapenemasi di classe D (tipo OXA-48). Altri saggi colorimetrici fenotipici in alcuni casi non sono sufficientemente sensibili per l'individuazione della carbapenemasi espressa a basso livello come la OXA-48. Attualmente la conferma definitiva di OXA-48 si affida ai saggi molecolari. Questi test sono costosi e possono essere eseguiti solo in ambiente dedicato da personale qualificato, limitandone così un uso più generalizzato.

Lo sviluppo di nuovi test diagnostici rapidi per individuare modelli di resistenza antimicrobica è considerato di priorità fondamentale dagli esperti internazionali e dalle autorità sanitarie.

II. PRINCIPIO DEL TEST

Questo è un test pronto all'uso basato su una tecnologia a membrana con oro colloidale. Una membrana di nitrocellulosa viene sensibilizzata con anticorpo monoclonale diretto contro un epitopo della carbapenemasi OXA-48. Un altro anticorpo monoclonale diretto contro un secondo epitopo della carbapenemasi OXA-48 se coniuga con oro colloidale. Questo coniugato è disidratato su una membrana.

Questo test è mirato all'individuazione di carbapenemasi di tipo OXA-48 su una singola colonia di isolati di Enterobacteriaceae in coltura su una piastra di agar.

Quando il tampone fornito contenente i batteri risospesi entra in contatto con la striscia, il coniugato solubilizzato migra con il campione per diffusione passiva e sia il coniugato che il materiale del campione entrano in contatto con l'anticorpo anti-OXA-48 adsorbito sulla nitrocellulosa. Se il campione contiene carbapenemasi OXA-48, il complesso coniugato-OXA-48 rimarrà legato all'anticorpo anti-OXA-48 adsorbito sulla nitrocellulosa. Il risultato è visibile entro 15 minuti sotto forma di una linea rossa che si sviluppa sulla striscia. La soluzione continua a migrare fino a incontrare un reagente di controllo che lega il coniugato di controllo dando luogo a una seconda linea rossa.

III. REAGENTI E MATERIALI

1. OXA-48 K-Set (20)

20 sacchetti sigillati contenenti una card per test e un agente essiccante. Ogni card per test contiene una striscia sensibilizzata.

2. Tampone di diluizione LY-A (15 mL)

Soluzione salina tamponata a pH 7,5 contenente Tris, Na₃N (<0,1%), un detergente e proteine bloccanti.

3. Istruzioni per l'uso (1)

4. Provette semirigide monouso con contagocce (20)

IV. PRECAUZIONI SPECIALI

- Tutte le operazioni correlate all'uso del test devono essere effettuate in conformità con le buone pratiche di laboratorio (BPL).
- Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.
- Prestare attenzione quando si apre il sacchetto.
 - Evitare di toccare la nitrocellulosa con le dita.
 - Indossare i guanti per manipolare i campioni.
 - Non utilizzare mai reagenti di un altro kit.
 - Le linee Verdi indicano i siti di adsorbimento degli immunoreagenti. Il colore verde scompare durante il test.
 - La qualità dei reagenti non è garantita oltre la data di scadenza o nel caso in cui i reagenti vengano conservati in condizioni diverse da quelle indicate nel foglietto illustrativo.

V. SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

- Smaltire guanti, tamponi, provette e card usati in conformità alle buone pratiche di laboratorio (BLP).
- Ogni utente è responsabile della gestione degli eventuali rifiuti prodotti e deve assicurarsi che questi vengano smaltiti in conformità con le normative vigenti.

VI. CONSERVAZIONE

- Un sacchetto non aperto può essere conservato a una temperatura compresa tra 4 e 30°C e utilizzato entro la data di scadenza indicata sulla confezione. Una volta aperto il sacchetto, eseguire immediatamente il test.
- Evitare di congelare card per test e tampone.

VII. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni da testare devono essere ottenuti e gestiti tramite metodi microbiologici standard.

Assicurarsi che i campioni non vengano trattati con soluzioni contenenti formaldeide o suoi derivati.

VIII. PROCEDURA

OPERAZIONI PRELIMINARI:

Prima di eseguire il test, lasciare che i componenti del kit, in confezione sigillata, (nel caso in cui la piastra contenente la colonia da analizzare sia stata conservata a 4°C) e i campioni raggiungano la temperatura ambiente (15-30°C).

Aprire il sacchetto ed estrarre la card per test. Una volta aperto il sacchetto, eseguire immediatamente il test. Scrivere sulla card per test il nome del paziente o il numero del campione (una card per campione).

PROCEDURA DI PREPARAZIONE DEL CAMPIONE:

Le prestazioni previste con tipi di campioni diversi dalle colonie batteriche non sono state definite. Per prestazioni ottimali si consiglia l'uso di colonie batteriche fresche.

I mezzi di coltura e le condizioni di coltivazione delle colonie convalidati per questo test sono dettagliati al capitolo X. Prestazioni.

1. Preparare una provetta semirigida.
2. Aggiungere 10 gocce di tampone LY-A nella provetta.
3. Prelevare i batteri toccando una colonia con un'ansa batteriologica monouso e immergendola nella provetta semirigida che contiene il tampone.
4. Agitare bene per omogeneizzare la soluzione.
5. Inserire saldamente il contagocce sulla provetta semirigida.
6. Capovolgere la provetta e aggiungere lentamente 3 gocce di campione diluito nel pozzetto per campioni della card.
7. Lasciar reagire per 15 minuti max. e leggere il risultato.

I risultati possono essere interpretati come positivi non appena appaiono la linea del test e quella di controllo.

Non tenere in considerazione la comparsa di nuove linee una volta trascorso il tempo di reazione.

I risultati devono essere letti sulle strisce ancora bagnate.

IX. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

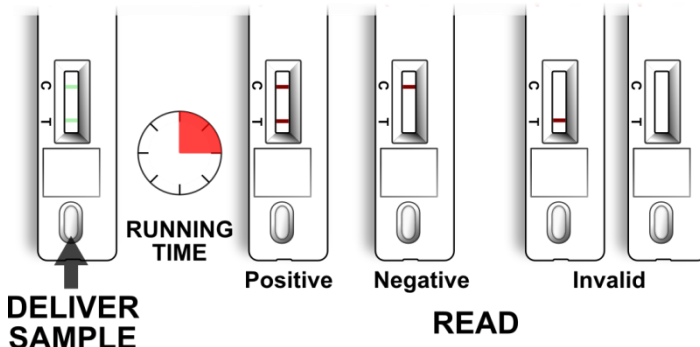
I risultati devono essere interpretati nel modo seguente:

Risultato negativo: appare una banda di colore rosso-violaceo nella finestra di lettura centrale in corrispondenza della posizione della linea di controllo (C). Non sono presenti altre bande.

Risultato positivo: oltre alla banda di colore rosso-violaceo in corrispondenza della linea di controllo (C), appare un'altra banda dello stesso colore in corrispondenza della posizione della linea del test (T). L'intensità della linea del test varia a seconda della quantità di antigeni e del tipo di variante di OXA-48 rilevati nel campione. Una qualsiasi linea di colore rosso-violaceo (T), anche se poco intensa, deve essere considerata indice di risultato positivo.

Risultato non valido: l'assenza di una linea di controllo indica un errore nella procedura di test. Ripetere i test non validi utilizzando un nuovo kit. In caso di urina viscosa, diluirla con soluzione salina. Una singola diluizione (v/v) dell'urina aiuta a ripristinare il flusso corretto del liquido.

Nota: durante l'asciugatura è possibile che appaia una debolissima ombreggiatura in corrispondenza della linea del test. Tale ombreggiatura non deve essere considerata indice di risultato positivo.



X. PRESTAZIONI

A. Limite di rilevazione

Il limite di rilevazione è stato determinato con una proteina ricombinante purificata OXA-48 ed è stato valutato a 0,125 ng/ml.

B. Validazione sulla raccolta di ceppi di riferimento

OXA-48 K-SeT è stato valutato su una raccolta di 76 ceppi clinici completamente caratterizzati presso il laboratorio nazionale di riferimento per bacilli Gram-negativi resistenti a più farmaci (Belgio).

76 ceppi	28 ceppi hanno dato risultati positivi con OXA-48 K-SeT	22 ceppi che trasportano carbapenemasi OXA-48	<i>Citrobacter braakii</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Enterobacter asburiae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter kobei</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Serratia marcescens</i> Di questi 22 ceppi, 3 <i>K. pneumoniae</i> trasportano un'altra carbapenemasi oltre a OXA-48: KPC, NDM o VIM.
		6 ceppi che trasportano varianti con carbapenemasi OXA-48	OXA-181, OXA-162, OXA-204, OXA-232, OXA-204 e OXA-244.
	48 ceppi hanno dato risultati negativi con OXA-48 K-SeT	20 ceppi che trasportano carbapenemasi non-OXA-48	GES-6, GIM-1, IMP-4, IMP-8, IMP-11, KPC-2, KPC-3, NDM-1, NDM-5, VIM-1, VIM-4, VIM-27, OXA-23, OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-58, OXA-198
		28 ceppi che trasportano varie ESBL o la variante priva di carbapenemasi di OXA-48	Incluso: OXA-163 et OXA-405

C. Studio prospettico

Il kit OXA-48 K-SeT è stato validato per confronto con un metodo molecolare di riferimento (compreso sequenziamento) presso il laboratorio nazionale di riferimento per bacilli Gram-negativi resistenti a più farmaci (Belgio) in uno studio prospettico condotto su 342 isolati clinici consecutivi sospetti per CPE inviati da marzo a luglio 2015.

Stato	Positivi	Negativi	Totali
OXA-48 K-SeT			
Positivi	129	0	129
Negativi	0	213	213
Totali	129	213	342

95% Intervallo di confidenza¹

Sensibilità:	100%	(96,4 - 100%)
Specificità:	100%	(97,8 - 100%)
Valore predittivo positivo:	100%	(96,4 - 100%)
Valore predittivo negativo:	100%	(97,8 - 100%)
Accuratezza:	100%	(342/342)

D. Accuratezza

Per controllare la precisione intralotto, gli stessi campioni positivi e una soluzione tampone sono stati analizzati 15 volte con kit dello stesso lotto di produzione nelle stesse condizioni sperimentali. Tutti i risultati osservati sono stati confermati come previsto.

Per controllare la precisione interlotto alcuni campioni (positivi e tampone) sono stati analizzati con kit di tre diversi lotti di produzione. Tutti i risultati sono stati confermati come previsto.

E. Condizioni di coltura convalidate

Mezzi di coltura: agar soia triptico (TSA) + 5% di sangue di pecora, Columbia agar +5% di sangue di pecora, agar Mueller-Hinton II, CLED, agar MacConkey, agar Drigalski, piastre cromogeniche non selettive, piastre cromogeniche selettive CPE/CRE. Sono stati esaminati un totale di 18 isolati CPE del tipo OXA-48 e 10 isolati di Enterobacteriaceae non trasportanti carbapenemasi del tipo OXA-48 utilizzando il kit OXA-48 K su 14 diverse piastre di agar. Tutte le CPE del tipo OXA-48 hanno prodotto risultati positivi su tutti i mezzi mentre tutte le altre hanno dato risultati negativi (dati archiviati presso il laboratorio nazionale belga di riferimento per il monitoraggio della resistenza antimicrobica nei batteri Gram-negativi, luglio 2015).

Invecchiamento della coltura: due isolati CPE (*K. oxytoca* OXA-48, *E. coli* OXA-181) sono stati coltivati su tre mezzi di agar solidi (TSA+5% SB, due agar cromogenici). Le colonie sono state testate con il kit OXA-48 K da piastre di coltura mantenute ad aria ambiente dal giorno 1 al giorno 3, quindi conservate a 4°C per un massimo di 28 giorni. Tutti i test sulle diverse piastre hanno prodotto risultati positivi a tutte le diverse età della coltura.

XI. LIMITI DEL KIT

Il test è qualitativo, pertanto non può essere utilizzato per valutare la quantità di antigeni presenti nel campione. Ai fini della diagnosi è necessario tenere in considerazione anche i dati clinici e altri risultati di laboratorio disponibili.

Un test positivo non esclude la possibilità della presenza di altri meccanismi di resistenza agli antibiotici.

XII. PROBLEMI TECNICI / RECLAMI








In caso di problemi tecnici o di prestazioni difformi a quelle indicate in questo foglietto illustrativo :

1. Prendere nota del numero di lotto del kit in cui è stato riscontrato il problema
2. Se possibile, conservare il campione utilizzato in congelatore fino alla risoluzione del problema che ha causato il reclamo
3. Contattare Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) o il distributore locale

XIII. BIBLIOGRAFIA

- A. Glasner, C. et al., and the European Survey on Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) working group. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. Eurosurveillance, 11 July 2013.
- B. Bogaerts, P et al. Validation of a new lateral flow assay for the detection of OXA-48-like-producing Enterobacteriaceae. 25th ECCMID, Copenhagen, April, 26th, 2015, Abstract # 0261.
- C. Ote I, et al. Development of a novel immunochromatographic confirmatory test for the detection of OXA-48 carbapenemase in Enterobacteriaceae || 25th ECCMID, Copenhagen, April, 26th, 2015, Oral Presentation #0047

Data ultimo aggiornamento: AGOSTO 2015

REF	Codice		Produttore
IVD	Dispositivo medico per test diagnostici in vitro		Limiti di temperatura
	Quantità sufficiente per <n> test	DIL SPE	Diluyente (campione)
	Consultare le istruzioni per l'uso		Non riutilizzare
	Conservare in luogo asciutto		Utilizzare entro
DIL AS	Diluyente (test)	CONT NaN ₃	Contiene sodio azide

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