

# IMP K-SeT



www.corisbio.com  
IFU-58R10/IT/02

## Test diagnostico rapido *in vitro* per la ricerca della carbapenemasi IMP su colture batteriche

PER UTILIZZO IN VITRO  
ESCLUSIVAMENTE PER USO PROFESSIONALE

Codice: K-15R10, 20 card, tampone, 20 provette e contagocce

### I. INTRODUZIONE

I microrganismi produttori di carbapenemasi (CPO) e, più specificamente, gli enterobatteri produttori di carbapenemasi (CPE) costituiscono una importante fonte di preoccupazione per la salute pubblica in tutto il mondo, a causa del loro ampio spettro di resistenza agli antibiotici comprese, oltre ai carbapenemi, la maggior parte delle classi di agenti antimicrobici; questo lascia pochissime opzioni per il trattamento dei pazienti infetti. Oltre alle CPE, i CPO includono anche bacilli gram-negativi non fermentanti (NFGNB), come *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, che mostrano resistenza non solo al beta lattame e ad altri gruppi di antibiotici, ma anche ai carbapenemi. La rapida diffusione dei CPO e dei geni che codificano queste resistenze ha causato la comparsa di focolai nosocomiali e situazioni endemiche in diversi Paesi in Europa e in tutto il mondo.

Metallo- $\beta$ -lattamasi (MBL),  $\beta$ -lattamasi a spettro esteso (ESBL) e  $\beta$ -lattamasi AmpC appartengono alla famiglia delle  $\beta$ -lattamasi. Le MBL di tipo IMP vengono individuate da batteri Gram negativi, in particolar modo nei Paesi asiatici, sebbene la loro prevalenza sia in aumento in Europa e in alcune aree del Nord e Sud America.

Il tipo IMP di classe B è una carbapenemasi mediata da plasmidi che dovrebbe essere considerata un potenziale problema di grande entità, in quanto degrada non solo i C3G, ma anche i carbapenemici come Imipenem. Esistono test a conferma fenotipica basati sugli inibitori per la ricerca di carbapenemasi di classe A (KPC) e B (VIM, IMP, NDM); attualmente la conferma definitiva del tipo IMP si basa su analisi molecolari. Questi test sono costosi e possono essere eseguiti solo in un ambiente dedicato e da personale qualificato, il che ne limita l'uso generalizzato. Gli esperti internazionali e le autorità sanitarie ritengono prioritario ed essenziale lo sviluppo di test diagnostici rapidi per individuare i pattern di resistenza antimicrobica.

Il test IMP K-SeT fa parte della linea di test diagnostici per la resistenza antimicrobica RESIST di Coris BioConcept.

### II. PRINCIPIO DEL TEST

Si tratta di un test pronto all'uso basato su una tecnologia a membrana con nanoparticelle di oro colloidale. Il nostro kit è finalizzato alla rilevazione delle carbapenemasi IMP da una singola colonia batterica isolata di enterobatteri o NFGNB. Una membrana di nitrocellulosa è sensibilizzata con un anticorpo monoclonale diretto contro un epitopo di carbapenemasi IMP. Un altro anticorpo monoclonale contro un secondo epitopo di carbapenemasi IMP è coniugato con particelle di oro colloidale. Il coniugato viene disidratato su una membrana.

Il test mira alla rilevazione di IMP come le carbapenemasi su colonie di isolati di enterobatteri o batteri gram-negativi non fermentanti coltivati su una piastra di agar.

Quando il tampone fornito contenente batteri risospesi entra in contatto con la striscia, il coniugato solubilizzato migra insieme al campione per diffusione passiva, e sia il coniugato sia il materiale del campione entrano in contatto con l'anticorpo anti-IMP adsorbito sulla striscia di nitrocellulosa. Se il campione contiene carbapenemasi IMP, il complesso coniugato-IMP rimane legato all'anticorpo anti IMP 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 raggiungere un reagente di controllo che si lega a un coniugato di controllo, dando origine a una seconda linea rossa.

### III. REAGENTI E MATERIALI

#### 1. IMP 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, Na<sub>3</sub>N (<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.

Produttore:

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

Prodotto in BELGIO

- Evitare di toccare la nitrocellulosa con le dita.
- Indossare i guanti per manipolare i campioni.
- Non utilizzare mai reagenti di un altro kit.
- Le line 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.

I terreni di coltura testati e convalidati con i kit Coris BioConcept RESIT sono elencati sul sito web: <https://www.corisbio.com/Products/Human-Field/IMP.php>

### VIII. PROCEDURA

#### OPERAZIONI PRELIMINARI:

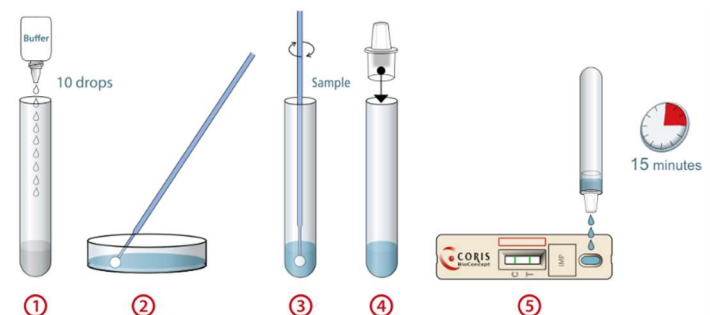
Prima di eseguire il test, lasciare che i componenti del kit, in confezione sigillata, (nel caso in cui la piastra contenente la colonia da analizzare sia stata conservata a 4 °C) e i campioni raggiungano la temperatura ambiente (15-30°C).

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 affermazioni sulle prestazioni di tipologie di campioni diverse dalle colonie batteriche non sono state accertate. Per prestazioni ottimali del test si raccomanda l'uso di colonie batteriche fresche.

1. Preparare una provetta semirigida e aggiungervi 10 gocce di tampone LY-A.
2. Raccogliere i batteri prelevando una colonia con un'ansa batteriologica monouso e immergere l'ansa fino in fondo nella provetta semirigida contenente il tampone.
3. Mescolare a fondo prima di rimuovere il loop.
4. Inserire saldamente il contagocce sulla provetta semirigida.
5. Utilizzare il Vortex per omogeneizzare il preparato. L'intera colonia batterica deve essere sospesa nel tampone.
6. Capovolgere la provetta e aggiungere lentamente 3 gocce di campione diluito nel pozzetto per campioni del dispositivo. In alternative, aggiungere 100  $\mu$ l con una micropipette nel pozzetto per campioni del dispositivo.
7. Lasciar reagire per un massimo di 15 minuti e leggere il risultato.



I risultati positivi possono essere riportati non appena la linea di test e la linea di controllo risultano visibili.

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:

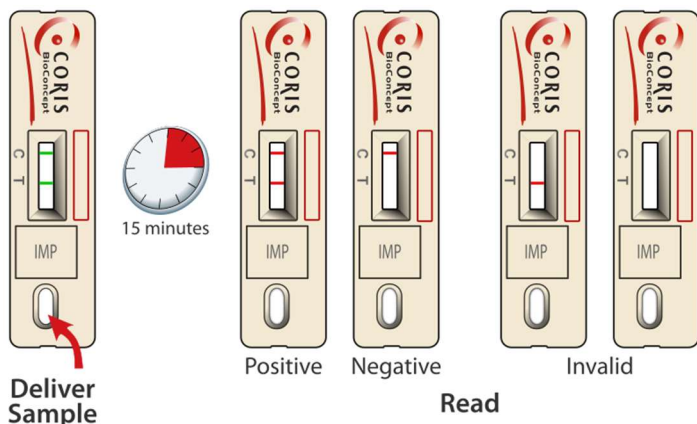
**Risultato negativo:** appare una banda di colore rosso-violaceo nella finestra di lettura centrale in corrispondenza della posizione della linea di controllo (C). Non sono presenti altre bande.

**Risultato positivo del test:** oltre a una banda rosso porpora sulla linea di controllo (C), all'altezza della linea di test (T) è visibile un'altra banda rosso porpora. L'intensità della linea di test può variare in funzione della quantità di antigeni presente nel

campione. Seppur tenue, qualunque linea di test dal colore rosso-porpora (T) deve essere considerata come 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 determinato con una proteina ricombinante purificata di IMP è stato valutato in 1,5625 ng/ml.

### B. Convalida della raccolta dei ceppi di riferimento

Il test IMP K-SeT è stato valutato su una raccolta di 94 ceppi clinici completamente caratterizzati presso il National Reference Laboratory for Multidrug-Resistant Gram Negative Bacilli (Belgio) e il Laboratory of Microbiology of University Hospital di Bruxelles (Belgio)

| IMP K-SeT     | Stato     |           |           |
|---------------|-----------|-----------|-----------|
|               | Positivi  | Negativi  | Totale    |
| Positivi      | 32        | 0         | 32        |
| Negativi      | 1         | 61        | 62        |
| <b>Totale</b> | <b>33</b> | <b>61</b> | <b>94</b> |

Intervallo di confidenza al 95%<sup>1</sup>

|                             |        |                 |
|-----------------------------|--------|-----------------|
| Sensibilità:                | 97.0 % | (82.5 – 99.8 %) |
| Specificità:                | 100 %  | (92.6 - 100 %)  |
| Valore predittivo positivo: | 100 %  | (86.7 - 100 %)  |
| Valore predittivo negativo: | 98.4 % | (90.2 – 99.9 %) |
| Concordanza:                | 98.9 % | (93/94)         |

### C. 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.

## 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](mailto:client.care@corisbio.com)) o il distributore locale

## XIII. BIBLIOGRAFIA

- A. **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

- A. **Oliveira J, Reyaert WC.** Gram Negative Bacteria. StatPearls Publishing; 2019 Jan-2019 Mar 9.
- B. **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
- 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
- D. **Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL; European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) working group.** Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. Euro Surveill. 2015; 20(45) 1560-7917
- E. **Castanheira M, Deshpande LM, Costello A, Davies TA, Jones RN.** Epidemiology and carbapenem resistance mechanisms of carbapenem-non-susceptible Pseudomonas aeruginosa collected during 2009-11 in 14 European and Mediterranean countries. J Antimicrob Chemother. 2014 Jul; 69(7):1804-14
- F. **Notake S., Matsuda M., Tamai K., Yanagisawa H, Hiramatsu K. and Kikuchi K.** Detection of IMP Metallo-β-Lactamase in Carbapenem-Nonsusceptible Enterobacteriaceae and Non-Glucose-Fermenting Gram-Negative Rods by Immunochromatography Assay. Journal of Clinical Microbiology 2013 51(6) 1762-1768

Data ultimo aggiornamento: 03 OTTOBRE 2019

|            |   |                        |                       |
|------------|---|------------------------|-----------------------|
| <b>REF</b> | Codice  |                        | Produttore            |
| <b>IVD</b> | Dispositivo medico per test diagnostici <i>in vitro</i> |                        | Limiti di temperatura |
|            | Quantità sufficiente per <n> test                       | <b>LOT</b>             | numero di lotto       |
|            | Consultare le istruzioni per l'uso                      |                        | Non riutilizzare      |
|            | Conservare in luogo asciutto                            |                        | Utilizzare entro      |
| DIL SPE    | Diluente (campione)                                     | CONT Na <sub>2</sub> S | Contiene sodio azide  |

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