

# KPC K-Set



www.corisbio.com

IFU-58R2/IT/01

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

## Test diagnostico rapido *in vitro* per la ricerca della carba<sup>n</sup>penemasi KPC su colonia batterica

### PER UTILIZZO *IN VITRO*

ESCLUSIVAMENTE PER USO PROFESSIONALE

Codice: K-15R2, 20 card, tampone, 20 provette e contagocce



### I. INTRODUZIONE

Da un punto di vista sanitario, i ceppi di Enterobacteriaceae produttori di carba<sup>n</sup>penemasi (CPE) o Enterobacteriaceae resistenti ai carba<sup>n</sup>penemi (CRE) sono motivo di grande preoccupazione nel mondo per la loro elevata resistenza agli antibiotici, anche diversi dai carba<sup>n</sup>penemi, la quale riduce le opzioni terapeutiche efficaci sui soggetti infetti. La rapida diffusione di queste CPE o dei geni che codificano queste resistenze ha condotto a epidemie nosocomiali e situazioni endemiche in svariati paesi europei e nel mondo.

In molti paesi la KPC è una delle carba<sup>n</sup>penemasi a maggior prevalenza. Una rapida individuazione della KPC è di essenziale importanza per migliorare la terapia somministrata ai pazienti e il controllo della diffusione di questa forma antibiotico-resistente nei nosocomi.

I test fenotipici di conferma che utilizzano dischi di combinazione con inibitori specifici per l'individuazione di determinati tipi di carba<sup>n</sup>penemasi, comprese quelle di classe A (KPC) e di classe B (VIM, IMP, NDM) sono già disponibili; tuttavia, richiedono tempo e richiedono un giorno di attesa dopo i risultati del test di sensibilità agli antibiotici. Svariati saggi molecolari basati su formati diversi permettono l'identificazione delle carba<sup>n</sup>penemasi KPC, ma si tratta di test costosi, che richiedono ambienti dedicati e personale qualificato, dunque il loro impiego generalizzato ne risulta limitato.

### 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 carba<sup>n</sup>penemasi KPC. Un altro anticorpo monoclonale diretto contro un secondo epitopo della carba<sup>n</sup>penemasi KPC si coniuga con l'oro colloidale. Questo coniugato è disidratato su una membrana.

Questo test serve all'individuazione della carba<sup>n</sup>penemasi KPC su una singola colonia di Enterobacteriaceae produttrici di carba<sup>n</sup>penemasi (CPE) coltivata su piastre di Agar.

Il campione deve essere diluito nel tampone di diluizione fornito con il test. Quando il tampone contenente i batteri in risospensione 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-KPC adsorbito sulla nitrocellulosa. Se il campione contiene carba<sup>n</sup>penemasi KPC, il complesso coniugato-antigene rimarrà legato al reagente anti-KPC e si formerà una linea rossa. La soluzione continua a migrare fino a incontrare un secondo reagente che lega il coniugato di controllo della migrazione dando luogo a una linea rossa che conferma il corretto funzionamento del test. Il risultato è visibile entro 15 minuti.

### III. REAGENTI E MATERIALI

#### 1. KPC 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, NaN<sub>3</sub> (<0,1%) e un detergente.

#### 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 analizzare devono essere ottenuti e manipolati con metodi microbiologici standard per la coltura delle CPE.

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 con il sistema per il prelievo di campioni fecali (K-1520):

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. Il mezzo di coltura e le condizioni di proliferazione delle colonie validate per questo test sono illustrati alla sezione 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 immergerla fino al fondo della 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 massimo minuti 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.**

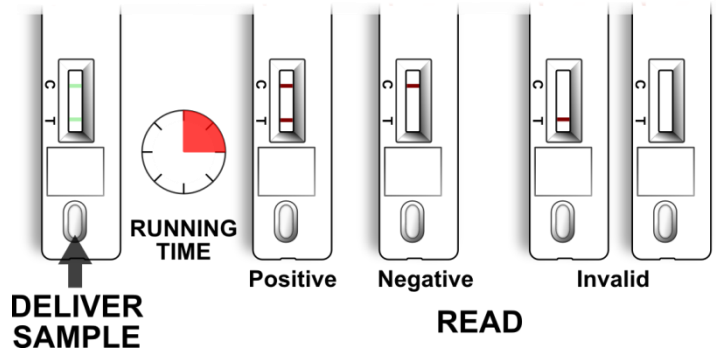
### IX. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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 della variante di KPC presente 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.



**DELIVER SAMPLE**

**READ**

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 KPC ed è stato valutato a 0,625 ng/ml.

### B. Validazione sulla raccolta di ceppi di riferimento

KPC K-SeT è stato valutato su una raccolta di 76 ceppi clinici completamente caratterizzati presso il laboratorio nazionale di riferimento per batteri produttori di carbapenemasi (Belgio).

32 ceppi	12 ceppi hanno dato risultati positivi con KPC K-SeT	12 ceppi che trasportano carbapenemasi KPC	<i>Citrobacter koseri</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> (positivo for KPC-2 or KPC-3).  Di questi 12 ceppi, 1 <i>K. pneumoniae</i> trasportano un'altra carbapenemasi oltre a OXA-48: KPC-3.
	20 ceppi hanno dato risultati negativi con KPC K-SeT	10 ceppi che trasportano carbapenemasi non-KPC	<i>GIM-1</i> , <i>IMP-4</i> , <i>NDM-1</i> , <i>VIM-1</i> , <i>VIM-4</i> , <i>OXA-48</i> , <i>OXA-162</i> , <i>OXA-181</i> , <i>OXA-204</i> , <i>OXA-232</i> , <i>OXA-244</i>
10 ceppi privi di carbapenemasi			

### C. Studio prospettico

Il kit KPC K-SeT è stato validato per confronto con un metodo molecolare di riferimento (compreso sequenziamento) presso il laboratorio nazionale di riferimento per i batteri Gram-negativi multiresistenti (Belgio) in uno studio prospettico condotto su 342 isolati clinici non duplicati, consecutivi sospetti per CPE da marzo a luglio 2015.

KPC K-SeT	Stato	Positivi	Negativi	Totali
Positivi		33	0	33
Negativi		0	309	309
Totali		33	309	342

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

Sensibilità:	100%	(87.0 - 100%)
Specificità:	100%	(98.5 - 100%)
Valore predittivo positivo:	100%	(87.0 - 100%)
Valore predittivo negativo:	100%	(98.5 - 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.

## 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. Borlon C. et al. Development of a novel immunochromatographic combo test for rapid identification of OXA-48 and KPC carbapenemases in Enterobacteriaceae. 115<sup>th</sup> American Society for Microbiology May 30 - June 2, 2015 New Orleans .

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 NaNO <sub>3</sub>	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).