

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

REF K-15R11

REF K-11R11

### → USO

Prueba rápida de diagnóstico in vitro para la detección de carbapenemasas OXA-48, KPC, NDM, VIM e IMP en cultivos bacterianos.

Para uso diagnóstico in vitro.

Solo para uso profesional.

### INTRODUCCIÓN

Los organismos productores de carbapenemasas (OPC) y, más específicamente, las enterobacterias resistentes a carbapenémicos (ERC) representan un importante riesgo sanitario en todo el mundo, debido al amplio espectro de resistencia a antibióticos que incluye, además de los carbapenémicos, a la mayoría de tipos de agentes antimicrobianos, lo que deja muy pocas opciones para el tratamiento de los pacientes infectados. Además de las ERC, los OPC también incluyen bacilos gramnegativos no fermentadores (BGNNF) como *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* que muestran resistencia no solo a los betalactámicos y otros grupos de antibióticos, sino también a los carbapenémicos. La rápida expansión de los OPC y de los genes que codifican estas resistencias ha provocado brotes nosocomiales y situaciones endémicas en todo el mundo.

Los expertos internacionales y las autoridades sanitarias consideran que el desarrollo de nuevas pruebas rápidas de diagnóstico para realizar el seguimiento de patrones de resistencia antimicrobiana es una de las prioridades de actuación fundamentales. La NDM y la KPC son dos de las carbapenemasas de mayor y más creciente prevalencia en muchos países. Por otro lado, las carbapenemasas del tipo D OXA-48 son los mecanismos de resistencia con mayor dificultad de detección en los laboratorios clínicos. Las carbapenemasas VIM no solo están presentes en las enterobacterias, sino que también son muy prevalentes en las bacterias no fermentadoras. La IMP debe considerarse un posible problema, ya que no solo degrada las C3G, sino también antibióticos carbapenémicos como imipenem. La prevalencia de la IMP es la más baja excepto en Japón, donde es más prevalente. Existen pruebas fenotípicas basadas en inhibidores para confirmar la presencia de carbapenemasas de clase A (KPC) y de clase B (VIM, IMP, NDM). Actualmente, la confirmación definitiva de mecanismos de resistencia en las ERC se basa en ensayos moleculares. Estas pruebas son caras y solo pueden realizarlas técnicos cualificados en un entorno especializado, lo cual dificulta un uso más generalizado. La prueba O.K.N.V.I. RESIST-5 forma parte de la gama Coris BioConcept RESIST de pruebas diagnósticas de resistencia antimicrobiana.

### PRINCIPIO DE LAS PRUEBAS

Estas pruebas están listas para usar y se basan en una tecnología de membranas con nanopartículas de oro coloidal.

Nuestro kit se ha desarrollado para la detección e identificación de carbapenemasas a partir del aislado de una colonia bacteriana de Enterobacteriaceae o BGNNF cultivada en placa de agar.

Cada bolsa contiene: 2 cartuchos de flujo lateral para la identificación de (1) OXA-48, KPC, NDM y (2) VIM e IMP.

**Identificación de OXA-48, KPC y NDM.** Se sensibiliza una membrana de nitrocelulosa con:

- (1) un anticuerpo monoclonal dirigido contra la carbapenemasa OXA-48 y variantes (excepto las enzimas de tipo OXA-163) (línea "O")
- (2) un anticuerpo monoclonal dirigido contra la carbapenemasa KPC (línea "K")
- (3) un anticuerpo monoclonal dirigido contra la carbapenemasa NDM (línea "N")
- (4) un reactivo de captura de control (línea superior "C").

Se secan en una membrana cuatro conjugados distintos de nanopartículas de oro coloidal: un conjugado dirigido contra un segundo epítipo de la carbapenemasa OXA-48, un conjugado dirigido contra un segundo epítipo de la carbapenemasa KPC, un conjugado, específico para la carbapenemasa NDM y un conjugado de control para validar las condiciones de la prueba.

**Identificación de VIM e IMP.** Se sensibiliza una membrana de nitrocelulosa con:

- (1) un anticuerpo monoclonal dirigido contra la carbapenemasa VIM (línea "V")
- (2) un anticuerpo monoclonal dirigido contra la carbapenemasa IMP (línea "I")
- (3) un reactivo de captura de control (línea superior "C").

Se secan en una membrana tres conjugados distintos de nanopartículas de oro coloidal: un conjugado dirigido contra la carbapenemasa VIM, un conjugado dirigido contra la carbapenemasa IMP y un conjugado de control.

Cuando el tampón suministrado que contiene las bacterias resuspendidas entra en contacto con la membrana, los conjugados solubilizados migran con la muestra por difusión pasiva, mientras que los conjugados y el material de la muestra entran en contacto con los respectivos anticuerpos inmovilizados adsorbidos en la tira de nitrocelulosa. Si la muestra contiene alguna de las carbapenemasas (OXA-48, KPC, NDM, VIM o IMP), los respectivos complejos formados por los conjugados y las carbapenemasas (OXA-48 o KPC o NDM o VIM o IMP) quedarán unidos a las líneas correspondientes (OXA-48: línea "O", KPC: línea "K", NDM: línea "N", VIM: línea "V", IMP: línea "I"). La migración continúa por difusión pasiva y tanto los conjugados como el material de la muestra entran en contacto con el reactivo de control de la línea (superior) que se une al conjugado de control (línea "C"), con lo que se produce una línea roja. El resultado es visible a los 15 minutos, en forma de líneas rojas en la tira.

**REACTIVOS Y MATERIALES**

**1. O.K.N.V.I. RESIST-5 (2 x 10 cartuchos ó 2 x 20 cartuchos)**

10 ó 20 bolsas selladas que contienen dos cartuchos de flujo lateral y un desecante. Cada cartucho contiene una tira sensible.

**2. Vial de tampón LY-D (7 ml)**

Solución Tris-EDTA con NaN3 (< 0,1%) y un detergente.

**3. Instrucciones de uso (1)**

**4. Tubos de recogida desechables (10 ó 20)**

**5. Pipetas de transferencia desechables (10 ó 20)**

Materiales que deben solicitarse por separado:

- RESIST-BC (S-1001): kit de reactivos para hemocultivo
- ReSCape (S-1002): kit de reactivos para hisopo rectal

**PRECAUCIONES ESPECIALES**

- Todas las operaciones relacionadas con el uso de la prueba deben realizarse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio.
- Todos los reactivos son de uso exclusivo para el diagnóstico in vitro.
- La bolsa debe abrirse con cuidado.
- Evite tocar con los dedos la nitrocelulosa.
- Utilice guantes para manipular las muestras.
- No utilice nunca reactivos de otro kit.
- Las líneas verdes indican los lugares de adsorción de los inmunorreactivos. El color verde desaparece durante la prueba.
- La calidad de los reactivos no se puede garantizar pasada la fecha de caducidad o si los reactivos no se conservan en las condiciones requeridas, como se indica en el prospecto.

**ELIMINACIÓN DE RESIDUOS**

- Deseche los guantes, hisopos, tubos de ensayo y dispositivos utilizados de acuerdo con las BPL.
- Cada usuario es responsable de la gestión de los residuos producidos y debe asegurarse de que se eliminan de acuerdo con la legislación vigente.

**CONSERVACIÓN**

- Una bolsa sin abrir se puede mantener entre 4 y 30 °C y usar hasta la fecha de caducidad indicada en el envase. Una vez abierta la bolsa, realice la prueba inmediatamente.
- No congele los dispositivos ni el tampón.

**MANIPULACIÓN Y RECOGIDA DE MUESTRAS**

Las muestras que se van a analizar deben obtenerse y manipularse siguiendo procedimientos microbiológicos habituales. Asegúrese de que las muestras no se tratan con soluciones que contengan formaldehído o sus derivados. Los medios de cultivo analizados y validados con los kits Coris BioConcept RESIST se indican en el sitio web: <https://www.corisbio.com/products/oknvi-resist-5/faq>

**PROCEDIMIENTO**

**Preparación de la prueba:**

Sin abrir la bolsa, deje que los componentes del kit y las muestras (si la placa que contiene la colonia que va a analizar se hubiera

mantenido a 4 °C) alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar la prueba.

Abra la bolsa y extraiga el dispositivo. Una vez abierto, realice la prueba inmediatamente. Anote el nombre y los apellidos del paciente o el número de la muestra en el dispositivo (un dispositivo por muestra).

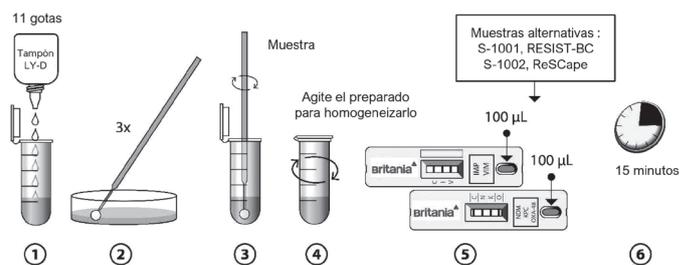
**Procedimiento de preparación de la muestra:**

Se han establecido resultados de rendimiento respecto a tipos de muestra distintos de las colonias bacterianas con los hisopos rectales y los hemocultivos.

Con los hisopos rectales y los hemocultivos, el procedimiento de preparación que debe seguirse es el que se describe en los respectivos kits (S-1002, ReSCape y S-1001, RESIST-BC)

Con las colonias bacterianas se recomienda usar cultivos de agar frescos para que el resultado de la prueba sea óptimo y como se indica a continuación:

1. Prepare un tubo de recogida y añada 11 gotas de tampón LY-D.
2. Recoja 3 colonias de bacterias con un asa bacteriológica desechable y sumérgjala hasta el fondo del tubo de ensayo que contiene el tampón. Se puede usar la misma asa bacteriológica para recoger las 3 colonias.
3. Remueva bien antes de retirar el asa.
4. Cierre el tubo y agite el preparado para homogeneizarlo.
5. Con la pipeta de transferencia suministrada con el kit, añada 100 µl de muestra diluida al pocillo de cada uno de los dos cartuchos marcados como (1) NDM, KPC y OXA-48 y (2) IMP y VIM (la muestra diluida debe alcanzar la línea negra indicada en la pipeta de transferencia para que se aspiren con precisión los 100 µl).
6. Deje que reaccionen durante 15 minutos y lea el resultado.



Los resultados positivos se pueden comunicar en cuanto resulten visibles las líneas de prueba y de control.

No tenga en cuenta la aparición de nuevas líneas una vez superado el tiempo de reacción.

El resultado se debe leer en la tira todavía húmeda.

**INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

Los resultados se deben interpretar del modo siguiente en cada uno de los dos cartuchos:

Resultado negativo de la prueba: aparece una línea rojo-púrpura en la ventana central de lectura, en la posición de la línea de control (C). No aparece ninguna otra línea.

**Resultado positivo de la prueba:** además de la línea rojo-púrpura en la posición de la línea de control (C), se hace visible una línea rojo-púrpura en la posición de alguna de las líneas de prueba ("N", "K" u "O") del cartucho marcado como (1) NDM, KPC y OXA-48, o en la posición de alguna de las líneas de prueba ("I" o "V") del cartucho marcado como (2) IMP y VIM. La intensidad de la línea de prueba puede variar en función de la cantidad de antígenos y del tipo de variante presente en la muestra. Cualquier línea de prueba de color rojo-púrpura (OXA-48, KPC, NDM, VIM e IMP), aunque sea débil, se considerará resultado positivo.

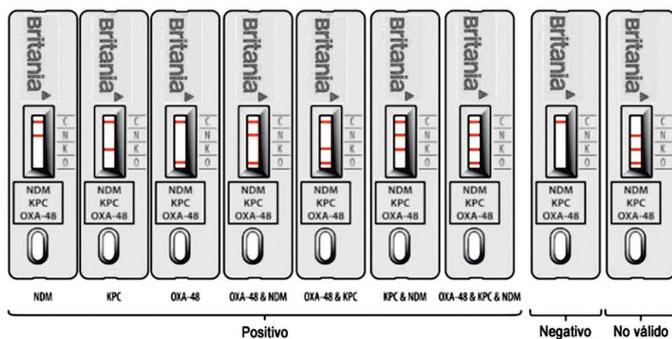
Si aparece una línea de prueba positiva al lado de la marca "O", la muestra contiene variantes OXA-48 o de tipo OXA-48. Si aparece al lado de la marca "K", la muestra contiene variantes KPC; si aparece al lado de la marca "N", contiene NDM; si aparece al lado de la marca "V", contiene VIM y si aparece al lado de la marca "I", contiene IMP. Pueden producirse combinaciones de líneas de prueba positivas.

En tal caso, la muestra contiene varias carbapenemasas.

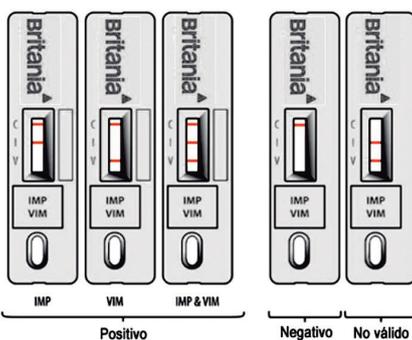
**Resultado de la prueba no válido:** La ausencia de la línea de control indica un fallo en el procedimiento de la prueba. Repita las pruebas no válidas con un nuevo dispositivo de prueba.

**Nota:** Durante el proceso de secado puede aparecer una sombra muy tenue en las posiciones de la línea de prueba. No debe considerarse un resultado positivo.

Cartucho 1: OXA-48 y KPC & NDM



Cartucho 2: VIM y IMP



**RENDIMIENTO**

**A. Límite de detección**

El límite de detección determinado mediante proteínas recombinantes purificadas de OXA-48, KPC, NDM, VIM e IMP es de 0,25 ng/ml, 0,5 ng/ml, 0,0625 ng/ml, 0,23 ng/ml y 0,781 ng/ml, respectivamente.

**B. Estudio retrospectivo**

Los cartuchos de la prueba se validaron por comparación con el método molecular de referencia (PCR múltiple incluida secuenciación, validada internamente) mediante un estudio retrospectivo realizado en 180 aislados clínicos de posibles enterobacterias productoras de carbapenémicos, no duplicados y consecutivos, obtenidos entre 2012 y 2021 en hospitales belgas.

Método molecular Prueba de OXA-48	Positivo	Negativo	Total
Positivo	41	0	41
Negativo	0	139	139
Total	41	139	180

Sensibilidad:	100 %	Intervalo de confianza del 95 % 1 (89,3 a 100 %)	
Especificidad:	100 %	(96,6 a 100 %)	
Valor predictivo positivo:	100 %	(89,3 a 100 %)	
Valor predictivo negativo:	100 %	(96,7 a 100 %)	
Concordancia:	100 %	(180/180)	

Método molecular Prueba de KPC	Positivo	Negativo	Total
Positivo	24	0	24
Negativo	0	156	156
Total	24	156	180

Sensibilidad:	100 %	Intervalo de confianza 95 % 1 (82,8 a 100 %)	
Especificidad:	100 %	(97,0 a 100 %)	
Valor predictivo positivo:	100 %	(82,8 a 100 %)	
Valor predictivo negativo:	100 %	(97,0 a 100 %)	
Concordancia:	100 %	(180/180)	

Método molecular Prueba de NDM	Positivo	Negativo	Total
Positivo	40	0	40
Negativo	0	140	140
Total	40	140	180

Sensibilidad:	100 %	Intervalo de confianza 95 % 1 (89,1 a 100 %)	
Especificidad:	100 %	(96,7 a 100 %)	
Valor predictivo positivo:	100 %	(89,1 a 100 %)	
Valor predictivo negativo:	100 %	(96,7 a 100 %)	
Concordancia:	100 %	(180/180)	

Método molecular Prueba de VIM	Positivo	Negativo	Total
Positivo	43	0	43
Negativo	3	134	137
Total	46	134	180

Sensibilidad:	93,5 %	Intervalo de confianza 95 % 1 (81,1 a 98,3 %)	
Especificidad:	100 %	(96,5 a 100 %)	
Valor predictivo positivo:	100 %	(89,8 a 100 %)	
Valor predictivo negativo:	97,8 %	(93,2 a 99,4 %)	
Concordancia:	98,3 %	(177/180)	

Método molecular Prueba de IMP	Positivo	Negativo	Total
Positivo	19	0	19
Negativo	0	161	161
Total	19	161	180

		Intervalo de confianza 95 %1
Sensibilidad:	100 %	(79,1 a 100 %)
Especificidad:	100 %	(97,1 a 100 %)
Valor predictivo positivo:	100 %	(79,1 a 100 %)
Valor predictivo negativo:	100 %	(97,1 a 100 %)
Concordancia:	100 %	(180/180)

El kit O.K.N.V.I. RESIST-5 también se validó con hisopos rectales y hemocultivos.

**C. Repetibilidad y reproducibilidad**

Para verificar la precisión dentro de un mismo lote (repetibilidad), se procesaron 15 veces las mismas muestras positivas y una solución de tampón de kits del mismo lote y en las mismas condiciones experimentales. Todos los resultados observados se confirmaron según lo previsto. Para verificar la precisión entre los lotes (reproducibilidad) se procesaron algunas muestras (positivas y solución tampón) en kits de tres lotes de producción diferentes. Todos los resultados se confirmaron según lo previsto.

**LÍMITES DEL KIT**

Esta es una prueba cualitativa y no puede predecir la cantidad de antígenos presentes en la muestra. Debe tenerse en cuenta la presentación clínica y los resultados de otras pruebas para establecer un diagnóstico. Un resultado positivo de la prueba no descarta la posibilidad de que puedan estar presentes otros mecanismos de resistencia a los antibióticos.

**PROBLEMAS TÉCNICOS/RECLAMACIONES**

Si surge un problema técnico o si el rendimiento no corresponde con el indicado en el prospecto de este envase:

1. Registre el número de lote del kit correspondiente.
2. Si es posible, conserve la muestra en las adecuadas condiciones de conservación mientras dure la gestión de la reclamación.
3. Póngase en contacto con Laboratorios Britania (deptotecnico@britanialab.com) o con su distribuidor local.

Cualquier incidente grave relacionado con el producto deberá comunicarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que estén establecidos el usuario y/o el paciente.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**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/avi-bactam 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

**AUTORIZACIÓN ANMAT**

PM 1292-50  
Dir. Técnico: Bioq. Alejandro Rossi

**SÍMBOLOS UTILIZADOS**

 DIAGNÓSTICO IN VITRO	 CÓDIGO Nº	 LOTE Nº	 ESTÉRIL
 ELABORADOR	 Nº DE DETERMINACIONES	 INSTRUCCIONES DE USO	 FECHA DE VENCIMIENTO
			 LÍMITE DE TEMPERATURA