

KARBADIA

Istruzioni per l'uso - Italiano

Prima di utilizzare il test, leggere attentamente il presente manuale d'uso.

USO PREVISTO

KarbaDia è un test immunocromatografico rapido da utilizzare per la rilevazione qualitativa di carbapenemasi di tipo KPC, NDM, IMP, VIM e OXA-48 in colonie batteriche. Il test è destinato esclusivamente all'uso professionale e può aiutare nella diagnosi di ceppi resistenti alle carbapenemasi di tipo KPC, NDM, IMP, VIM e OXA-48. Il test deve essere utilizzato insieme ad altre procedure diagnostiche, come l'analisi molecolare, i test di suscettibilità e altre analisi微生物.

SOMMARIO

Gli Enterobatteri resistenti ai carbapenem (CRE) sono diventati un problema di salute pubblica globale a causa della loro resistenza ai farmaci ad ampio spettro e le opzioni di trattamento per i pazienti sono molto limitate. La carbapenemasi si riferisce a un enzima β -lattamasi che idrolizza in modo significativo l'imipenem o il meropenem. Secondo la struttura molecolare di Ambler, la classe B è costituita dalle metallo- β -lattamasi (MBL), comprese le carbapenemasi come IMP, VIM e NDM, che si trovano principalmente nei batteri *Pseudomonas aeruginosa* ed *Enterobacteriaceae*. Le classi A e D sono serinasi. La classe A, come la carbapenemasi di tipo KPC, è stata rilevata principalmente nei batteri delle *Enterobacteriaceae*, mentre la classe D, come la carbapenemasi di tipo OXA, è stata rilevata frequentemente negli *Acinetobacter*. La KPC è diventata uno dei più importanti patogeni contemporanei. Le infezioni dovute alle KPC sono associate a un elevato fallimento terapeutico e a tassi di mortalità di almeno il 50%. Lo sviluppo di prodotti diagnostici rapidi per le carbapenemasi è di grande importanza per la tipizzazione precoce dei ceppi resistenti ai farmaci, l'utilizzo dei farmaci e il miglioramento degli standard medici e sanitari dell'uomo.

PRINCIPIO DI RILEVAMENTO

KarbaDia è un test immunocromatografico a sandwich. Il test prevede 5 linee di test pre-rivestite (K N I V O) su membrana di nitrocellulosa e una linea di controllo (C) per ogni test. Se nel campione sono presenti carbapenemasi di tipo KPC, NDM, IMP, VIM o OXA-48, esse si leggeranno agli anticorpi oro-coniugati anti-KPC, anti-NDM, anti-IMP, anti-VIM o anti-OXA48, pre-essiccati sulla strip. Il complesso oro coniugato anticorpo-antigene risale la membrana per azione capillare, dove reagisce con le linee di saggio. Gli anticorpi monoclonali immobilizzati anti-KPC, anti-NDM, anti-IMP, anti-VIM o anti-OXA-48 sulle linee del test cattureranno il complesso anticorpo-antigene oro coniugato e formeranno

linee rosse. Sia se il campione è positivo, sia se è negativo, il complesso di nanoparticelle continua a muoversi attraverso la membrana dove gli anticorpi di capra anti-topo immobilizzati (linea di controllo) legano l'oro coniugato e formano una linea di controllo rossa visibile. I risultati positivi del test formano una o più linee rosse nell'area del test (K/N/I/V/O). I risultati negativi formano solo una linea di controllo (linea C). La linea di controllo (linea C) è un controllo di qualità interno che serve a (1) verificare che sia stato aggiunto un volume sufficiente, (2) che si ottenga un flusso adeguato e (3) un controllo interno per i reagenti. La linea di controllo deve sempre comparire.

COMPONENTI DEL KIT

Componenti	Quantità per kit
Test per la resistenza ai carbapenem K.N.I.V.O	25
Soluzione di trattamento del campione	10.0 mL
Provette contagocce per la preparazione dei campioni	25
Istruzioni per l'uso	1

Nota: i componenti del kit non possono essere sostituiti.

Materiali richiesti ma non forniti

1. Timer
2. Ansa di inoculazione (5 μ L)
3. Opzionale: Pipette e puntali sterili
4. Opzionale: Provette sterili monouso per microcentrifuga (1,5 ml)

CONDIZIONI DI STOCCAGGIO E DURATA DI CONSERVAZIONE

1. Conservare a 2-30°C per 24 mesi, in luogo asciutto e fresco.
2. Il test rapido deve essere utilizzato entro 1 ora dall'apertura della busta di alluminio. La soluzione di trattamento del campione deve essere conservata a 2-8°C dopo l'apertura.
3. La data di scadenza è stampata sulle etichette.

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

1. Tipo di campione: Colonie batteriche in coltura fresca
2. Terreni di coltura convalidati: Luria Broth (LB) agar, Trypticase soja agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar, Columbia agar + 5 % sangue di cavallo, ChromID® ESBL agar, ChromID® CARBA SMART, CHROMagar™ mSuperCARBA™, TSA + 5 % sangue di pecora, Mac Conkey, Hardy CHROM™ CRE agar.
3. Raccolta dei campioni: I campioni da analizzare devono essere ottenuti e trattati secondo le buone pratiche di laboratorio.
4. Evitare la contaminazione durante la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni

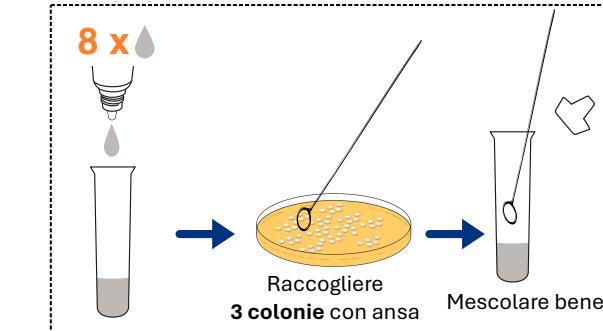
PROCEDURA DI PROVA

Fare in modo che la temperatura del kit e dei campioni di colonie batteriche raggiunga la temperatura ambiente (15-30°C). Aprire la confezione ed estrarre la cassetta del test. Identificare chiaramente il test e l'ID del campione sulle cassette del test.

1. Pre-trattamento del campione

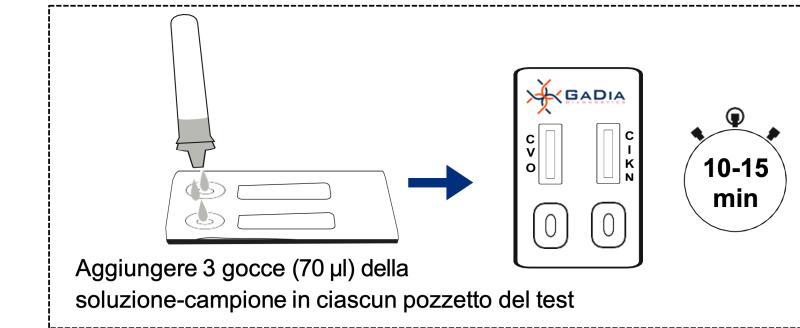
- Aggiungere **8 gocce (200 μ L)** di soluzione di trattamento del campione in una provetta con contagocce per campioni o in una provetta da microcentrifuga sterile monouso (non fornita)
- Raccogliere i batteri prelevando **3 colonie** con ansa batteriologica monouso (equivalente a 3 anse con capacità di 1 μ L) e risospenderli bene nella provetta contenente la soluzione di trattamento del campione. Utilizzare la stessa ansa batteriologica per raccogliere le 3 colonie.
- Mescolare bene.

Colonie mucose: Utilizzare **10 gocce** di soluzione di trattamento del campione, prelevare metà di una colonna batterica e risospenderla nella soluzione, mescolare per 3 minuti con un vortex e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente prima di eseguire il test.



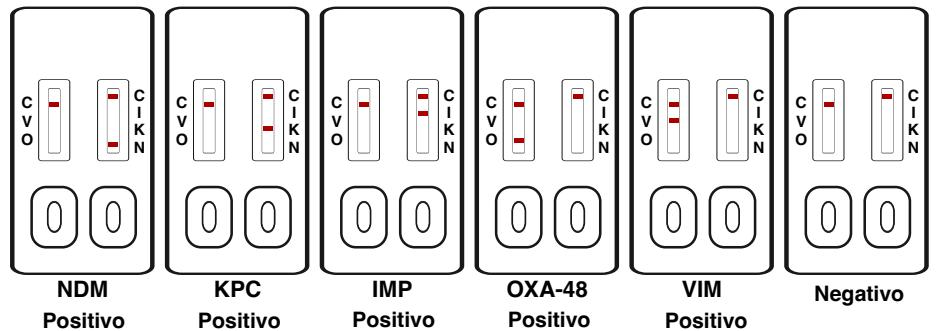
2. Esecuzione del test

- Estrarre il dispositivo di prova dalla busta di alluminio e posizionarlo su un banco orizzontale pulito.
- Aggiungere **3 gocce (70 μ L)** di miscela di campioni nel pozzetto di ciascun dispositivo di analisi.
- Attendere **10-15 minuti** e leggere il risultato. Non spostare il test durante l'incubazione. Non interpretare il risultato dopo **20 minuti**.



INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

- + La presenza di una o più linee rosse nell'area del test, indipendentemente dalla loro intensità, indica un risultato positivo per il tipo di carbapenemasi corrispondente (K N I O V).
- La presenza unicamente della linea di controllo (C) indica un risultato negativo.
- Se la linea di controllo (C) non appare, il risultato non è valido e il test deve essere ripetuto.
- 1. Un risultato negativo non esclude la presenza di altri organismi produttori di carbapenemasi.
- 2. Un test positivo o negativo non esclude la presenza di altri meccanismi di resistenza agli antibiotici.
- 3. L'intensità del colore delle linee del test non può essere usata come base per determinare il contenuto totale di carbapenemasi (solo qualitativo).



CONTROLLO QUALITÀ

Il test include un controllo di qualità interno. Quando si sviluppa la linea di controllo, si conferma che il volume del campione era sufficiente e che la procedura è stata svolta correttamente. I ceppi di riferimento possono essere utilizzati come controllo positivo esterno per i test. Se necessario, contattare il produttore per ulteriori informazioni.

LIMITAZIONI

- Il prodotto viene utilizzato solo per testare ceppi coltivati. Le caratteristiche di prestazione del test non sono state stabilite per campioni di ceppi non batterici. La presenza o l'assenza di carbapenemasi è legata ai batteri, non ai pazienti.
- Questo test è un'analisi qualitativa e non fornisce un risultato quantitativo.
- I risultati del test di questo kit devono essere utilizzati come ausilio per la rapida identificazione di batteri con resistenza agli antibiotici carbapenemici. I risultati devono essere confermati con procedure diagnostiche alternative o complementari. La gestione clinica dei pazienti deve essere presa in considerazione in modo completo in relazione ai sintomi, all'anamnesi, agli altri esami di laboratorio e alle risposte al trattamento.

PRESTAZIONI

1. Limite di rilevamento (LOD)

I limiti di rilevazione (LOD), determinati con proteine ricombinanti, di KPC, NDM, IMP, VIM e OXA-48 sono rispettivamente 0,50 ng/mL; 0,15 ng/mL; 0,20 ng/mL; 0,30 ng/mL e 0,10 ng/mL.

2. Effetto prozona

Non è stato osservato alcun effetto prozona con concentrazioni fino a 1 µg/mL di carbapenemasi.

3. Sostanze interferenti e cross-reazioni

Non sono state osservate sostanze interferenti o cross reazioni. Non sono state rilevate cross reazioni con batteri specifici (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*). Non è stata osservata alcuna reazione crociata con altre resistenze antimicrobiche (enzimi ESBL, MCR-1, TEM, SHV e OXA-1). È stato condotto uno studio sulle varianti rilevate, il cui elenco è riportato nella tabella seguente.

Tipo di carbapenemasi	Variante rilevata
KPC	KPC-1, KPC-2, KPC-3, KPC-4, KPC-27, KPC-74
NDM	NDM-1, NDM-2, NDM-5, NDM-6, NDM-7, NDM-9, NDM-24
VIM	VIM-1, VIM-2, VIM-4, VIM-5, VIM-9, VIM-10, VIM-19, VIM-53
IMP	IMP-1, IMP-3, IMP-4, IMP-5, IMP-6, IMP-10, IMP-11, IMP-15, IMP-25, IMP-26, IMP-29, IMP-30, IMP-34, IMP-38, IMP-40, IMP-42
OXA	OXA-48, OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-204, OXA-232, OXA-244

4. Ripetibilità e riproducibilità

La ripetibilità e la riproducibilità del test sono state valutate internamente con tre diversi lotti ed è stato osservato un coefficiente di variazione (CV) inferiore al 10%.

5. Prestazioni cliniche

Nel 2019 e nel 2020 sono stati raccolti in totale 212 isolati clinici da ospedali europei (81%) e americani (15%), tra cui 19 isolati carbapenemasi-negativi (9%) e 193 (91%) di enterobatteri resistenti ai carbapenemici (CRE) con vari tipi di carbapenemasi. Questi sono stati raccolti da varie fonti di infezione, tra cui l'apparato respiratorio, il tratto urinario, l'addome e il prelievo dei villi coriali. L'analisi molecolare è stata eseguita su tutti gli isolati e la determinazione della MIC sui risultati discordanti. Gli isolati sono stati coltivati su agar sangue per 24 ore a 37°C e analizzati con il test rapido KarbaDia [6].

KPC	+	-	Sensibilità 100% (CI95%: 87-100%) Specificità 100% (CI95%: 97-100%) PPV 100% (CI95%: 87-100%) NPV 100% (CI95%: 97-100%)
	+	32	
	-	0	
OXA	+	-	Sensibilità 98% (CI95%: 90-100%) Specificità 99% (CI95%: 95-100%) PPV 97% (CI95%: 87-99%) NPV 99% (CI95%: 96-100%)
	+	58	
	-	1	
NDM	+	-	Sensibilità 97% (CI95%: 89-99%) Specificità 99% (CI95%: 95-100%) PPV 98% (CI95%: 91-100%) NPV 99% (CI95%: 94-100%)
	+	65	
	-	2	
IMP	+	-	Sensibilità 93% (CI95%: 66-100%) Specificità 100% (CI95%: 98-100%) PPV 100% (CI95%: 73-100%) NPV 99% (CI95%: 97-100%)
	+	14	
	-	1	
VIM	+	-	Sensibilità 100% (CI95%: 85-100%) Specificità 100% (CI95%: 97-100%) PPV 100% (CI95%: 85-100%) NPV 100% (CI95%: 97-100%)
	+	29	
	-	0	
	+	183	

È stato condotto un secondo studio in un centro di riferimento svizzero utilizzando una collezione di 252 ceppi ben caratterizzati produttori di carbapenemasi e non. I batteri sono stati coltivati per 20 ore su piastre di Muller Hinton agar a 37°C prima della valutazione. La sensibilità complessiva di KarbaDia è stata del 96,8% (CI95: 93,6%-98,4%) e la specificità del 100% (CI95: 79,6%-100%).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Leggere attentamente le istruzioni per l'uso prima di utilizzare il test.
- Identificare chiaramente l'ID del campione sulle cassette del test.
- Questo prodotto è destinato esclusivamente alla diagnostica in vitro e all'uso professionale.
- Non riutilizzare il test
- Non utilizzare il test dopo la data di scadenza
- Leggere i risultati del test entro i tempi previsti per evitare interpretazioni errate.
- Non utilizzare componenti di lotti diversi o tipi diversi di reagenti.
- Smaltire correttamente il campione e i materiali usati seguendo le norme locali sullo smaltimento dei rifiuti biologici.
- Utilizzare dispositivi di protezione durante l'uso del test e la manipolazione dei campioni in quanto possono contenere agenti infettivi, componenti umane o animali.
- La sodio azide è utilizzata come conservante nella soluzione di trattamento dei campioni. Smaltire il materiale secondo le normative locali vigenti ed evitare il contatto con gli occhi e la pelle.
- Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui è stabilito l'utilizzatore e/o il paziente.

RIFERIMENTI

- Nordmann et al. Rapid Detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerging Infectious Diseases. 2012; 18(9).
- Bush et al. Updated Functional Classification of β-Lactamases. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2010; 54(3):969-976.
- Oteo et al. Evolution of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae at the global and national level: what should be expected in the future? Enferm. Infec. Microbiol. Clin. 2014; 32 Suppl 4:17-23.
- Nordmann et al. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. Clin. Microbiol. Infect. 2014; 20:821-830.
- Sadek et al. Evaluation of novel immunological rapid test for rapid detection of carbapenemase producers in multidrug-resistant gram negatives, Diagnostic Microbiology and Infectious Disease (2022)
- Hawser et al. Preliminary evaluation of KarbaDiag, a new rapid test for the detection of carbapenemase in bacterial colonies, ECCMID 2022 Poster, 05084

SIMBOLI

	Produttore		Data di scadenza
	Non riutilizzare		Numero di lotto
	Data di produzione		Autorizzato dall'Europa Rappresentante
	Consultare le istruzioni per l'uso		Medicina diagnostica in vitro dispositivo
	Limitazione della temperatura		Numero di catalogo
	Sufficiente per il test <n>		Marchio CE
	Non per i test in prossimità del paziente		Non per l'autoanalisi

GaDia SA
Route de l'Ile-au-Bois 1A
1870 Monthey (Svizzera)
www.gadia.ch
info@gadia.ch

SWISS MADE

IVD