

KARBADIA

Instrução de Uso – Português

Por favor, leia este manual do utilizador cuidadosamente antes de usar o teste

UTILIZAÇÃO PREVISTA

KarbaDia é um teste imunocromatográfico rápido destinado a ser usado para a deteção qualitativa de carbapenemase do tipo KPC, NDM, IMP, VIM e OXA-48, em colónias bacterianas. O ensaio é apenas para uso profissional e pode ajudar no diagnóstico de estirpes resistentes a carbapenemase do tipo KPC, NDM, IMP, VIM e OXA-48. O teste deve ser utilizado em conjunto com outros procedimentos de diagnóstico, tais como análise genética, testes de suscetibilidade e outras análises microbianas.

RESUMO

Os Enterobacter resistentes ao carbapenem (CRE) tornaram-se um problema de saúde pública mundial devido à sua resistência aos medicamentos de largo espectro, e as opções de tratamento para os doentes são muito limitadas. A carbapenemase é um tipo de enzima β -lactamase que hidrolisa significativamente imipenem ou meropenem e por estrutura molecular de Ambler. A classe B são metalo- β -lactamases (MBLs), incluindo carbapenemases como IMP, VIM e NDM, encontradas principalmente nas bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacteriaceae*. As classes A e D são serinase. A classe A, como as carbapenemases do tipo KPC, foi detetada principalmente em bactérias Enterobacteriaceae, e a classe D, como as carbapenemase do tipo OXA, foi frequentemente detetada em Acinetobacteria. KPC tornou-se um dos mais importantes patógenos contemporâneos. As infeções devidas a KPCs estão associadas a altas taxas de falha terapêutica e mortalidade de pelo menos 50%. O desenvolvimento de produtos de diagnóstico rápido de carbapenemase é de grande importância para a tipagem precoce de estirpes resistentes aos medicamentos, a orientação de medicamentos e a melhoria dos padrões médicos e de saúde humanos.

PRINCÍPIO DE DETEÇÃO

KarbaDia é um ensaio imunocromatográfico sanduíche. O teste tem 5 linhas de teste pré-revestidas (K N I V O) em membrana de nitrocelulose e uma linha de controle (C) por teste. Se a carbapenemase do tipo KPC, NDM, IMP, VIM ou OXA-48 estiver presente na amostra, ela liga-se aos anticorpos anti-KPC, anti-NDM, anti-IMP, anti-VIM ou anti-OXA-48, respetivamente, conjugados com ouro, pré-secos na almofada conjugada. O complexo anticorpo-antígeno conjugado com ouro move-se para cima na membrana, por ação capilar, onde reagirá com as linhas de teste. Os anticorpos monoclonais anti-KPC, anti-NDM, anti-IMP, anti-VIM ou anti-OXA-48 imobilizados nas linhas de teste captam o complexo anticorpo-

antígeno conjugado com ouro e formam linha(s) vermelha(s). Quer a amostra seja positiva ou não, o complexo de nanopartículas continua a mover-se através da membrana onde os anticorpos anti-camundongo imobilizados (linha de controlo) se ligam ao anticorpo conjugado com ouro e formam uma linha de controlo vermelha visível. Os resultados positivos dos testes formam uma ou mais linhas vermelhas na área de teste. Os resultados negativos do teste formam apenas uma linha de controle (linha C). A linha de controlo de qualidade (linha C) é um controlo de qualidade interno que serve como (1) verificação de que é adicionado volume suficiente, (2) que é obtido um fluxo adequado e (3) um controlo interno para os reagentes. A linha de controlo deve sempre aparecer.

COMPONENTES DO KIT

Componentes	Quantidade por kit
Duo-Teste K.N.I.V.O resistente a carbapenem	25
Solução de tratamento de amostras	10,0 ml
Tubos conta-gotas para preparação de amostras	25
Instruções de utilização	1

Nota: Os componentes dos kits não podem ser trocados

Materiais Necessários, mas Não Fornecidos

1. Temporizador
2. Alça de inoculação (5 μ l)
3. Opcional: Pipetas e pontas estéreis
4. Opcional: Tubos de microcentrífuga estéreis descartáveis (1,5 ml)

CONDIÇÕES DE CONSERVAÇÃO E PRAZO DE VALIDADE

1. Conservar a 2-30°C durante 24 meses, conservar em local seco e fresco.
2. O teste rápido deve ser usado dentro de 1 hora após a abertura do saco de folha de alumínio. A solução de tratamento da amostra deve ser armazenada a 2-8°C após a abertura.
3. O prazo de validade está impresso nos rótulos.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

1. Tipo de amostra: Colónias bacterianas recém-cultivadas
Meios de cultura validados: ágar Luria Broth (LB), ágar soja Trypticase (TSA), ágar Mueller Hinton (MH), ágar Columbia + 5% sangue de cavalo, ágar ChromID® ESBL, ChromID® CARBA SMART, CHROMagar™ mSuperCARBATM, TSA + 5% sangue de ovelha, Mac Conkey, ágar Hardy CHROM™ CRE.
2. Colheita de amostras: As amostras a testar devem ser obtidas e manuseadas por métodos microbiológicos padrão
3. Evite a contaminação durante a colheita, transporte e preservação da amostra.

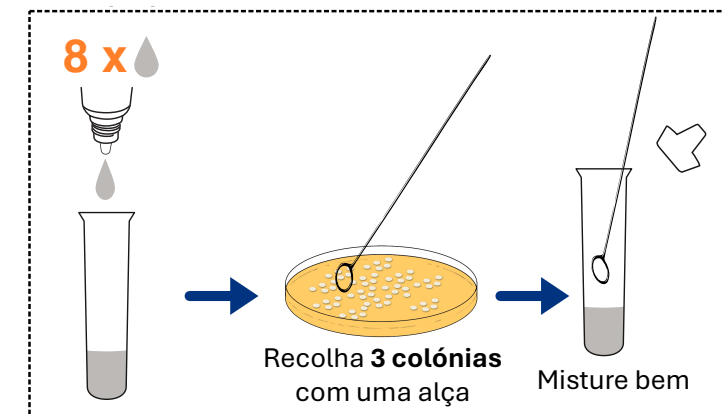
PROCEDIMENTO DE ENSAIO

Permita que a temperatura do kit e das amostras de colónias bacterianas atinjam a temperatura ambiente (15-30°C). Abra a embalagem e retire a cassete do teste. Identifique claramente o teste e o ID da amostra na cassete do teste.

1. Pré-tratamento da amostra

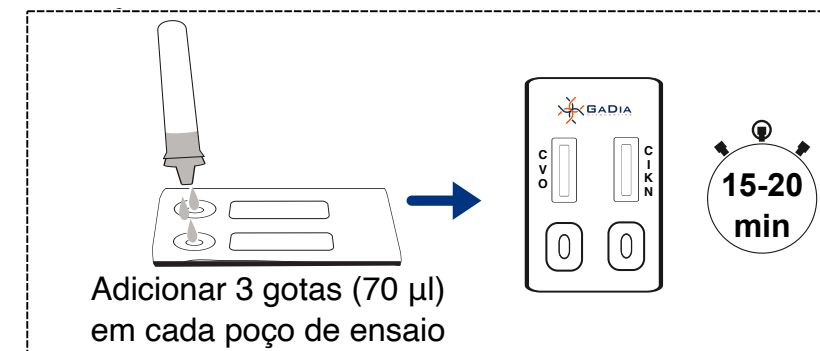
- Adicione **8 gotas (200 μ l)** de solução de tratamento de amostras num tubo conta-gotas para amostras ou num tubo de microcentrífuga estéril descartável (não fornecido).
- Recolha as bactérias retirando **3 colónias** com uma alça bacteriológica descartável (*equivalente a 3 alças com capacidade de 1 μ l*) e suspende-as bem no tubo que contém a solução de tratamento da amostra. Use a mesma alça bacteriológica para recolher as 3 colónias.
- Misture bem.

Colónias mucosas: Utilizar 10 gotas de solução de tratamento da amostra, colher metade de uma colónia bacteriana e suspender na solução, misturar 3 minutos utilizando um vórtex e incubar durante 10 minutos à temperatura ambiente antes de realizar o teste.



2. Deteção

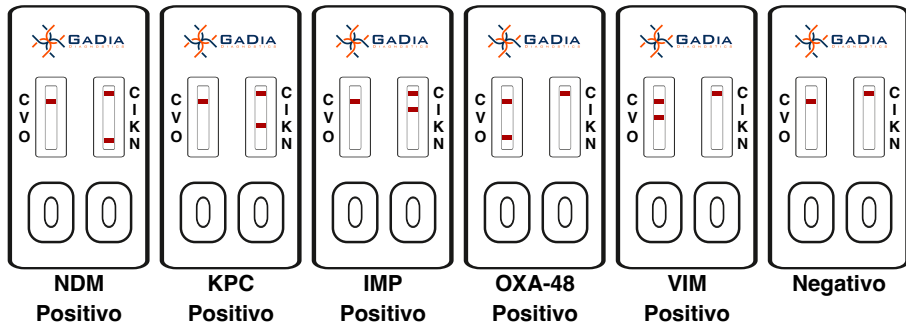
- Retire o dispositivo de teste da bolsa de folha de alumínio e coloque-o em uma bancada horizontal limpa.
- Adicionar 3 gotas (70 μ l) de mistura de amostras no poço de ensaio em cada dispositivo de ensaio.
- Aguarde **10-15 minutos** e leia o resultado. Não deslocar o dispositivo durante a incubação. Não interpretar o resultado **após 20 minutos**.



INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

- + A presença de uma ou mais linha(s) vermelha(s) na área de ensaio, independentemente da intensidade da linha de ensaio, indica um resultado positivo do seu tipo correspondente de carbapenemase.
 - Uma única linha de controlo (C) indica um resultado negativo.
 - Se a linha de controlo (C) não aparecer, o resultado é inválido e o ensaio deve ser repetido.
1. Um resultado negativo não exclui a presença de outros organismos produtores de carbapenemase.
 2. Um teste positivo ou negativo não exclui a presença de outros mecanismos de resistência aos antibióticos.

- A intensidade de cor das linhas de ensaio não pode ser utilizada como base para determinar o teor total de carbapenemase (apenas qualitativa).



CONTROLO DE QUALIDADE

Um controle de qualidade interno está incluído no teste. Quando a linha de controlo se desenvolve, confirma que o volume da amostra foi suficiente e que o procedimento foi correto. As estirpes de referência podem ser utilizadas como controlo positivo externo para os testes. Se necessário, contacte o fabricante para obter mais informações.

LIMITAÇÕES

- O produto é utilizado apenas para testar estirpes cultivadas. As características de desempenho do ensaio não foram estabelecidas para amostras de estirpes não bacterianas. A presença ou ausência de carbapenemase está relacionada a bactérias, não a pacientes.
- Este teste é um ensaio qualitativo e não dará um resultado quantitativo.
- Os resultados dos testes deste kit devem ser utilizados como uma ajuda para a rápida identificação de bactérias com resistência aos antibióticos carbapenêmicos. Os resultados devem ser confirmados com procedimentos de diagnóstico alternativos ou complementares. O controlo clínico dos doentes deve ser exaustivamente considerado em conjunto com os seus sintomas, história clínica, outros testes laboratoriais e respostas ao tratamento.

DESEMPENHO

1. Limite de deteção (LOD)

O Limite de Deteções (LODs), determinado com proteínas recombinantes, de KPC, NDM, IMP, VIM e OXA-48 é de 0,50 ng/mL; 0,15 ng/ml; 0,20 ng/mL; 0,30 ng/ml e 0,10 ng/ml, respetivamente.

2. Efeito gancho

Não foi observado qualquer efeito Hook com concentrações até 1 µg/ml de carbapenemase.

3. Substâncias interferentes e reações cruzadas

Não foi detetada qualquer reação cruzada com bactérias específicas (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*). Não foi observada reação cruzada com outras resistências antimicrobianas (enzimas ESBLs, MCR-1, TEM, SHV e OXA-1). Um estudo de variantes detetadas foi realizado e a lista de variantes é apresentada na tabela a seguir.

Tipo do carbapenemase	Variante detectada
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. Repetibilidade e reprodutibilidade

A reprodutibilidade e reprodutibilidade do teste foram avaliadas internamente com três lotes diferentes e foi observado um coeficiente de variação (CV) inferior a 10%.

5. Desempenho clínico

Um total de 212 isolados clínicos foram colhidos em hospitais europeus (81%) e americanos (15%) em 2019 e 2020, incluindo 19 isolados negativos para carbapenemase (9%) e 193 (91%) Enterobacterales resistentes a carbapenem (CRE) com vários tipos de carbapenemase. Estes foram colhidos de várias fontes de infeção, incluindo amostras respiratórias, do trato urinário, intra-abdominais e vilosidades coriônicas. Foi realizada a análise molecular em todos os isolados e a determinação da CIM nos resultados discordantes. Os isolados foram cultivados em ágar-sangue por 24h a 37°C e analisados com o teste rápido KarbaDia [6].

KPC	+	-	Sensibilidade	100%	(CI95%: 87-100%)
+	32	0	Especificidade	100%	(CI95%: 97-100%)
-	0	180	PPV	100%	(CI95%: 87-100%)
			NPV	100%	(CI95%: 97-100%)
OXA	+	-	Sensibilidade	98%	(CI95%: 90-100%)
+	58	2	Especificidade	99%	(CI95%: 95-100%)
-	1	149	PPV	97%	(CI95%: 87-99%)
			NPV	99%	(CI95%: 96-100%)
NDM	+	-	Sensibilidade	97%	(CI95%: 89-99%)
+	65	1	Especificidade	99%	(CI95%: 95-100%)
-	2	139	PPV	98%	(CI95%: 91-100%)
			NPV	99%	(CI95%: 94-100%)
IMP	+	-	Sensibilidade	93%	(CI95%: 66-100%)
+	14	0	Especificidade	100%	(CI95%: 98-100%)
-	1	190	PPV	100%	(CI95%: 73-100%)
			NPV	99%	(CI95%: 97-100%)
VIM	+	-	Sensibilidade	100%	(CI95%: 85-100%)
+	29	0	Especificidade	100%	(CI95%: 97-100%)
-	0	183	PPV	100%	(CI95%: 85-100%)
			NPV	100%	(CI95%: 97-100%)

Um segundo estudo foi conduzido num centro de referência suíço utilizando uma coleção de 252 cepas bem caracterizadas produtoras de carbapenemase e não-carbapenemase. As bactérias foram cultivadas 20h em placas de ágar Muller Hinton a 37°C antes da avaliação. A sensibilidade global do KarbaDia foi de 96,8% (IC95: 93,6%–98,4%) e a especificidade foi de 100% (IC95: 79,6%–100%).











ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

- Leia atentamente as instruções de utilização antes de utilizar o teste.
- Identificar claramente o ID da amostra na cassete do teste.
- Este produto é apenas para *diagnóstico in vitro* e uso profissional.
- Não reutilize o teste
- Não utilize o teste após o prazo de validade
- Leia os resultados do teste dentro do tempo específico para evitar interpretações erradas.
- Não utilize componentes de lotes diferentes ou de tipos diferentes de reagentes.
- Elimine adequadamente a amostra e os materiais usados de acordo com o regulamento local de eliminação de riscos biológicos.
- Utilize equipamento de proteção ao manusear as amostras de teste, uma vez que podem conter agentes infecciosos e componentes humanos ou animais.
- A azida de sódio é utilizada como conservante na solução de tratamento da amostra. Elimine o material de acordo com os regulamentos locais relevantes e evite o contacto com os olhos e a pele.
- Qualquer incidente grave ocorrido em relação ao dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o doente estão estabelecidos.

REFERÊNCIAS

- 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. Infecc. 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

SIMBOLOS

	Fabricante		Data de validade
	Não reutilizar		Número do lote
	Data de fabrico		Representante Autorizado Europeu
	Consultar instruções para utilização		Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Limitação de temperatura		Número de catálogo
	Suficiente para o teste ≤ 10		Marcação CE
	Não se destina a testes realizados a nível do doente		Não se destina a autotestes



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



ER Egészségügyi, Kereskedelmi és Szolgáltató Kft.
Budafoki út 57/b
1111 Budapest (Hungary)
ujszaszi.istvan@erkft.hu