

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, non automatizzato, destinato alla rilevazione qualitativa delle carbapenemasi di tipo KPC, NDM, IMP, VIM e OXA-48 a partire da colonie batteriche. Il dispositivo è destinato all'uso professionale in laboratorio e può contribuire all'identificazione di ceppi batterici resistenti ai carbapenemi associati a queste carbapenemasi. I risultati devono essere interpretati in combinazione con altri dati clinici e di laboratorio, inclusi metodi complementari quali analisi molecolari, test di sensibilità agli antibiotici e altre analisi microbiologiche.

SOMMARIO

Le Enterobacteriaceae resistenti ai carbapenemi (CRE) rappresentano una rilevante minaccia per la salute pubblica a causa della loro resistenza agli antibiotici ad ampio spettro e delle limitate opzioni terapeutiche disponibili. Questa resistenza è principalmente mediata dalle carbapenemasi, β -lattamasi in grado di idrolizzare i carbapenemi, classificate secondo Ambler nelle classi A, B e D. Le carbapenemasi di classe B (metallo- β -lattamasi, MBL), incluse IMP, VIM e NDM, nonché quelle di classe A (es. KPC) e di classe D (es. OXA-48), sono associate alle Enterobacteriaceae e ad altri batteri Gram-negativi clinicamente rilevanti. La rilevazione rapida di questi enzimi è essenziale per l'identificazione precoce dei meccanismi di resistenza e per supportare le decisioni terapeutiche e le misure di controllo delle infezioni.

PRINCIPIO DI RILEVAMENTO

KarbaDia è un test immunocromatografico a sandwich per la rilevazione qualitativa delle carbapenemasi KPC, NDM, IMP, VIM e OXA-48. Il dispositivo contiene cinque linee di test (K, N, I, V, O) e una linea di controllo (C) su una membrana di nitrocellulosa. In presenza di una carbapenemasi nel campione, questa si lega ad anticorpi specifici coniugati a particelle d'oro. Il complesso migra per capillarità ed è catturato da anticorpi immobilizzati a livello delle linee di test corrispondenti, generando una o più linee colorate. La linea di controllo (C) contiene anticorpi anti-topo e deve comparire in tutti i casi, confermando la validità del test (volume di campione sufficiente, corretta migrazione e integrità dei reagenti). Un risultato positivo è indicato dalla comparsa di una o più linee di test (K/N/I/V/O) oltre alla linea di controllo (C). Un risultato negativo è indicato dalla sola presenza della linea di controllo.

COMPONENTI DEL KIT

Componenti	Quantità per kit
Test per la resistenza ai carbapenemi 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 dei kit non possono essere sostituiti.

Materiali richiesti ma non forniti

1. Timer
2. Ansa di inoculazione (5 μ l)
3. Opzionale: Provette sterili monouso per microcentrifuga (1,5 ml)

CONDIZIONI DI STOCCAGGIO E DURATA DI CONSERVAZIONE

1. Conservare a 5-30°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 5-30°C dopo l'apertura ed è stabile fino alla data di scadenza.
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 soia agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar, Columbia agar + 5 % sangue di cavallo, ChromID® ESB� 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

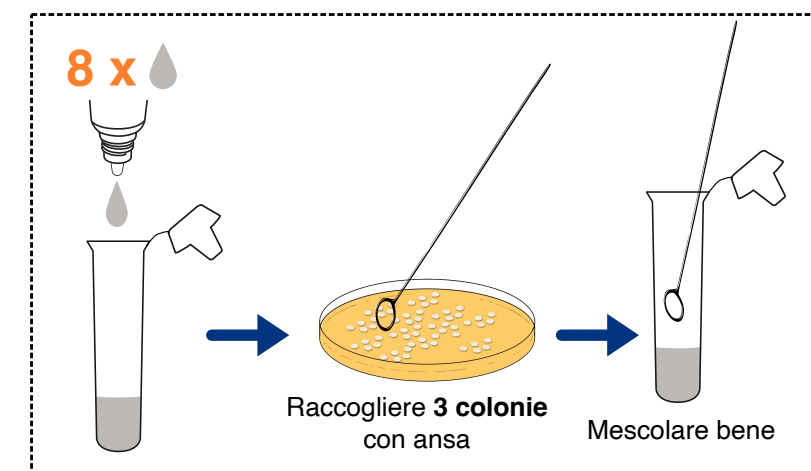
PROCEDURA DI PROVA

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 e sulla provetta.

1. Pre-trattamento del campione

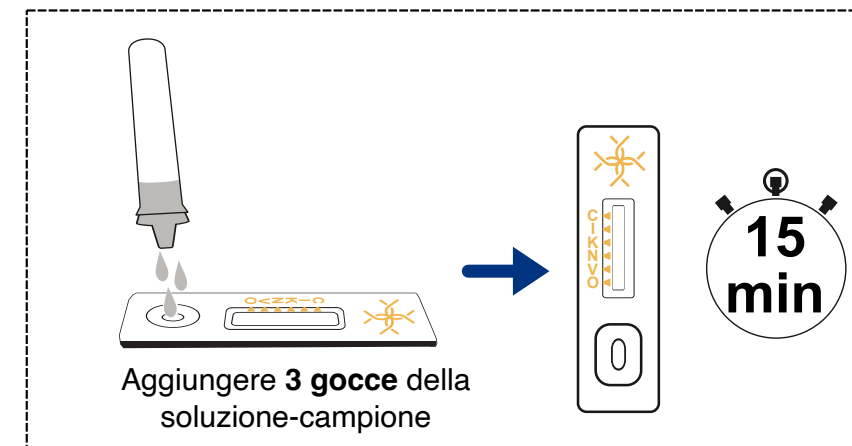
- Aggiungere **8 gocce (200 μ l)** di soluzione di trattamento del campione in una provetta con contagocce per campioni o in una provetta da microcentrifuga sterile monouso (non fornita)
- Raccogliere i batteri prelevando **3 colonie** con ansa batteriologica monouso (equivalente a 3 anse con capacità 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 colonia 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

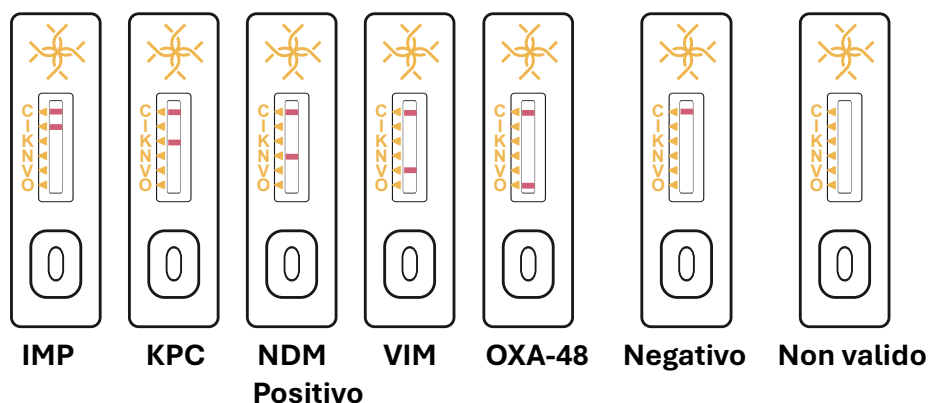
- Estrarre il dispositivo di prova dalla busta di alluminio e posizionarlo su un banco orizzontale pulito.
- Aggiungere **3 gocce (70 μ l)** della miscela campione nel pozzetto di analisi (S).
- Attendere **15 minuti** e leggere il risultato. Non spostare il test durante l'incubazione. Non interpretare 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. Le varianti non incluse in questa tabella non sono state valutate o potrebbero non essere state rilevate.

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

Una valutazione esterna condotta su 126 isolati di *Klebsiella pneumoniae* (tra cui 66 ceppi produttori di carbapenemasi) presso un laboratorio di microbiologia clinica (Novara, Italia) ha evidenziato una concordanza complessiva del 95,5% nella rilevazione della carbapenemasi rispetto al metodo molecolare di riferimento (test Xpert® Carba-R). Una valutazione interna condotta su 84 isolati batterici Gram-negativi provenienti dall'ATCC ha dimostrato una sensibilità del 100% per i marcatori KPC, NDM, VIM e IMP e una sensibilità del 90% per OXA-48 (9/10), con una specificità del 100%.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Leggere attentamente le istruzioni per l'uso prima di utilizzare il test.
- Identificare chiaramente l'ID del campione sulle test et provetta.
- 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 soluzione di trattamento del campione contiene una soluzione tampone Tris con un detergente e un conservante. Smaltire il prodotto in conformità con 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. Infect. 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
- Camaggi et al. Rilevazione rapida di *Klebsiella pneumoniae* produttrice di carbapenemasi: confronto tra test molecolare, MALDI-TOF MS e test immunocromatografici a flusso laterale, AMCLI 2026, Poster P247

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

