

# KARBADIA

## Instruction d'utilisation – Français

**Veillez lire attentivement ce mode d'emploi avant l'utilisation du test**

### UTILISATION PRÉVUE

KarbaDia est un test immunochromatographique rapide, non automatisé, destiné à la détection qualitative des carbapénémases de type KPC, NDM, IMP, VIM et OXA-48 à partir de colonies bactériennes. Ce dispositif est destiné à un usage professionnel en laboratoire et peut contribuer à l'identification de souches bactériennes résistantes aux carbapénèmes associées à ces carbapénémases. Les résultats doivent être interprétés en association avec d'autres données cliniques et de laboratoire, notamment des méthodes complémentaires telles que l'analyse génétique, l'antibiogramme et d'autres analyses microbiologiques.

### RÉSUMÉ

Les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (CRE) représentent une menace importante pour la santé publique en raison de leur résistance aux antibiotiques à large spectre et des options thérapeutiques limitées. Cette résistance est principalement médiée par des carbapénémases, des  $\beta$ -lactamases capables d'hydrolyser les carbapénèmes, classées selon Ambler en classes A, B et D. Les carbapénémases de classe B (MBL), incluant IMP, VIM et NDM, ainsi que celles de classe A (ex. KPC) et de classe D (ex. OXA), sont associées aux entérobactéries et à d'autres bactéries à Gram négatif cliniquement pertinentes. La détection rapide de ces enzymes est essentielle pour l'identification précoce des mécanismes de résistance et pour soutenir la prise de décision thérapeutique et les mesures de contrôle des infections.

### PRINCIPE DE DÉTECTION

KarbaDia est un test immunochromatographique, non-automatisé, de type sandwich permettant la détection qualitative des carbapénémases KPC, NDM, IMP, VIM et OXA-48. Le dispositif comporte cinq lignes de test (K, N, I, V, O) et une ligne de contrôle (C) sur une membrane de nitrocellulose. En présence d'une carbapénémase dans l'échantillon, celle-ci se lie à des anticorps spécifiques conjugués à des particules d'or. Le complexe migre par capillarité et est capturé par des anticorps immobilisés au niveau des lignes de test correspondantes, générant une ou plusieurs lignes colorées. La ligne de contrôle (C) contient des anticorps anti-souris et doit apparaître dans tous les cas, confirmant la validité du test (volume d'échantillon suffisant, migration correcte et intégrité des réactifs). Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une ou plusieurs lignes de test (K/N/I/V/O) en plus de la ligne de contrôle. Un résultat négatif se traduit par la présence de la seule ligne de contrôle.

### COMPOSANTS DU KIT

| Composants                                 | Quantité par kit |
|--|------------------|
| Carbapenem-resistant K.N.I.V.O test rapide | 25               |
| Solution de traitement des échantillons    | 10.0 mL          |
| Tubes compte-gouttes pour échantillons     | 25               |
| Instruction d'utilisation                  | 1                |

**Note:** Ne pas utiliser les composants d'un autre kit

#### Matériel nécessaire mais non fourni

1. Minuteur
2. Anse bactériologique stérile (1  $\mu$ l)
3. Facultatif : Pipettes et embouts stériles & Tubes stériles (1.5 ml)

### STOCKAGE ET DURÉE DE CONSERVATION

1. Stocker à 5-30°C pendant 24 mois, dans un endroit sec et frais.
2. Le test rapide doit être utilisé dans l'heure qui suit l'ouverture du sachet en aluminium. La solution de traitement de l'échantillon doit être conservée à 5-30°C après ouverture et est stable jusqu'à la date de péremption.
3. La date de péremption est imprimée sur les étiquettes.

### PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

1. Type d'échantillon : Colonies bactériennes fraîchement cultivées
2. Milieux de culture validés : Gélose Luria Broth (LB), Trypticase soja agar (TSA), Mueller Hinton agar (MH), Columbia agar + 5 % de sang de cheval, ChromID® ESBL agar, ChromID® CARBA SMART, CHROMagar™ mSuperCARBATM, TSA + 5 % de sang de mouton, Mac Conkey, Hardy CHROM™ CRE agar.
3. Les échantillons à tester doivent être obtenus et manipulés selon les méthodes microbiologiques standard.
4. Éviter toute contamination lors du prélèvement, du transport et de la conservation des échantillons.

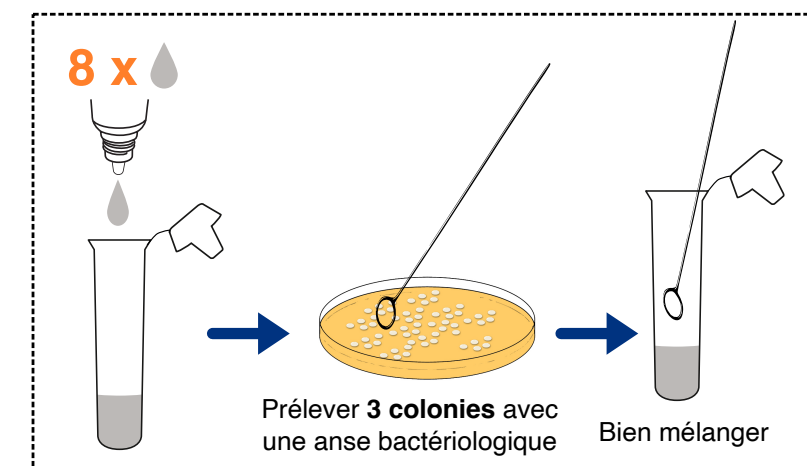
### PROCÉDURE DE TEST

Amener le kit et les échantillons de colonies bactériennes à la température ambiante (15-30°C). Ouvrir l'emballage et retirer la cassette de test. Identifier clairement le test et l'échantillon sur les cassettes de test.

#### 1. Prétraitement de l'échantillon

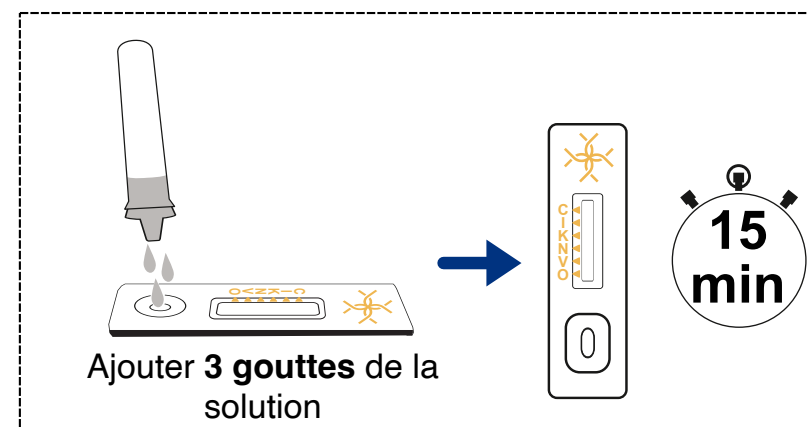
- Ajouter **8 gouttes (200  $\mu$ l)** de solution de traitement de l'échantillon dans un tube compte-gouttes pour échantillon ou un tube à micro-centrifugeuse stérile jetable (non fourni).
- Récolter les bactéries en prélevant **3 colonies** à l'aide d'une anse bactériologique stérile (équivalente à 3 anses d'une capacité de 1  $\mu$ l) et remettez-les en suspension dans le tube contenant la solution de traitement de l'échantillon. Utiliser la même anse bactériologique pour prélever les 3 colonies.
- Bien mélanger.

**Colonies muqueuses :** Utiliser **10 gouttes de la solution de traitement, prélever 3 colonies bactériennes et les remettre en suspension dans la solution, mélanger pendant 3 minutes à l'aide d'un vortex et incuber 10 minutes à température ambiante avant d'effectuer le test.**



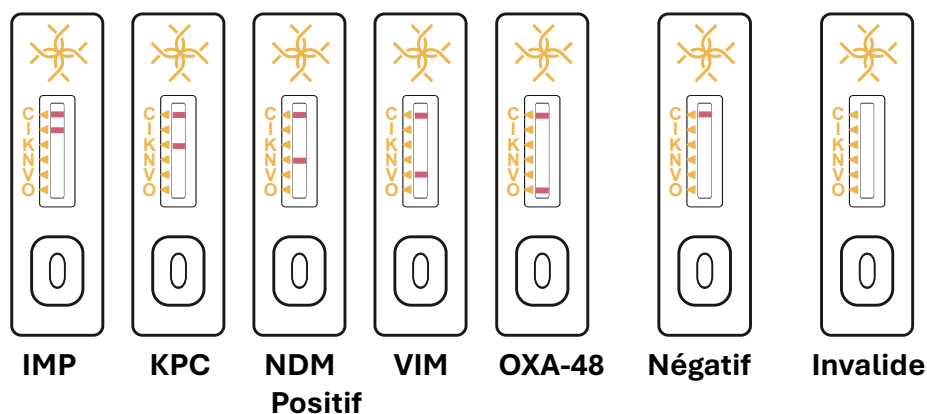
#### 2. Détection

- Retirer le dispositif de test de la pochette en aluminium et le placer sur une paillasse horizontale propre.
- Ajouter **3 gouttes (70  $\mu$ l)** de mélange d'échantillons dans le puits d'échantillon du test (S).
- Attendre **15 minutes** et lire le résultat. Ne pas déplacer le test pendant l'incubation. Ne pas interpréter le résultat **après 20 minutes**.



### INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- + La présence d'une ou de plusieurs lignes rouges dans la zone de test, quelle que soit l'intensité de la ligne de test, indique un résultat positif pour le type de carbapénémase correspondant (K N I O V).
  - Une seule ligne de contrôle (C) indique un résultat négatif.
  - Si la ligne de contrôle (C) n'apparaît pas, le résultat n'est pas valable et le test doit être répété.
1. Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'autres organismes producteurs de carbapénémase.
  2. Un test positif ou négatif n'exclut pas la présence d'autres mécanismes de résistance aux antibiotiques.
  3. L'intensité de la couleur des lignes de test ne peut pas être utilisée pour déterminer la teneur totale en carbapénémase (qualitatif uniquement).



## CONTÔLE QUALITÉ

Un contrôle qualité interne est inclus dans le test. Lorsque la ligne de contrôle se développe, cela confirme que le volume de l'échantillon était suffisant et que la procédure était correcte. Des souches de référence peuvent être utilisées comme contrôle positif externe pour les tests. Si nécessaire, contacter le fabricant pour plus d'informations.

## LIMITES DU TEST

- Le kit est uniquement utilisé pour tester des souches cultivées. Les caractéristiques de performance du test n'ont pas été établies pour les échantillons de souches non bactériennes. La présence ou l'absence de carbapénémase est liée aux bactéries et non aux patients.
- Ce test est qualitatif et ne donne pas de résultat quantitatif.
- Les résultats de ce test doivent être utilisés comme une aide à l'identification rapide des bactéries résistantes aux antibiotiques carbapénèmes. Les résultats doivent être confirmés par des procédures de diagnostic complémentaires. La prise en charge clinique des patients doit être envisagée de manière globale en tenant compte de leurs symptômes, de leurs antécédents médicaux, des autres tests de laboratoire et des réponses au traitement.

## PERFORMANCES

### 1. Limit de détection (LOD)

Les limites de détection (LOD), déterminées avec des protéines recombinantes, de la KPC, du NDM, de l'IMP, du VIM et de l'OXA-48 sont respectivement de 0,50 ng/ml ; 0,20 ng/ml ; 0,20 ng/ml ; 0,30 ng/ml et 0,10 ng/ml.

### 2. Hook effect (effet crochet)

Aucun effet crochet (Hook Effect) n'a été observé avec une concentration allant jusqu'à 1 µg/mL de carbapénémase.

### 3. Substances interférentes et réactions croisées

Aucune réaction croisée avec des bactéries spécifiques n'a été détectée (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*). Aucune réaction avec d'autres antibiorésistances (ESBLs, MCR-1, TEM, SHV et OXA-1) observé. Une analyse des variants détectés a été réalisée et la liste de ces variants est présentée dans le tableau ci-dessous. Les variants qui ne

figurent pas dans ce tableau n'ont pas été évalués ou n'ont peut-être pas été détectés.

| Carbapenemase type | Variant detected  |
|--------------------|---|
| 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. Répétabilité et reproductibilité

La répétabilité et la reproductibilité du test ont été évaluées en interne avec trois lots différents et un coefficient de variation (CV) inférieur à 10 % a été observé.

### 5. Performances cliniques

Au total, 212 isolats cliniques ont été collectés dans des hôpitaux européens (81%) et américains (15%) en 2019 et 2020, dont 19 isolats à carbapénémase négative (9%) et 193 (91%) entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (CRE). Ces isolats ont été prélevés dans diverses sources d'infection, notamment les voies respiratoires, les voies urinaires, les prélèvements intra-abdominaux et les prélèvements de villosités choriales. Tous les isolats ont fait l'objet d'une analyse moléculaire et les résultats discordants ont fait l'objet d'une détermination de la CMI. Les isolats ont été cultivés sur gélose au sang pendant 24 heures à 37°C et analysés à l'aide du test rapide KarbaDia [6].

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

Une évaluation externe réalisée sur 126 isolats de *Klebsiella pneumoniae* (dont 66 souches productrices de carbapénémases) dans un laboratoire de microbiologie clinique (Novara, Italie) a montré une concordance globale de 95.5 % pour la détection des carbapénémases par rapport à la méthode moléculaire de référence (test Xpert® Carba-R) [7]. Une évaluation interne menée sur 84 isolats de bactéries Gram-négatives (ATCC) a démontré une sensibilité de 100% pour les KPC, NDM, VIM et IMP, et une sensibilité de 90% pour les variants OXA-48 (9/10) avec une spécificité de 100 %.

## AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS

- Lisez attentivement le mode d'emploi avant d'utiliser le test.
- Identifier clairement l'échantillon sur les cassettes de test et tubes.
- Ce kit est réservé au diagnostic *in vitro* et à un usage professionnel.
- Ne pas réutiliser les tests.
- Ne pas utiliser le test après la date de péremption
- Lire les résultats du test dans le délai imparti afin d'éviter toute interprétation erronée.
- Ne pas utiliser les composants de différents lots ou différents types de réactifs.
- Éliminer correctement l'échantillon et les réactifs du kit utilisés conformément à la réglementation locale en matière d'élimination des déchets biologiques dangereux.
- Utiliser un équipement de protection lors de l'utilisation du test et de la manipulation des échantillons car ils peuvent contenir des agents infectieux, des composants humains ou animaux.
- La solution de traitement des échantillons contient une solution tampon Tris avec un détergent et un conservateur. Éliminer le produit conformément à la réglementation locale en vigueur et éviter tout contact avec les yeux et la peau.
- Tout incident grave lié au dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

## RÉFÉRENCES

- 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*

## SYMBOLES

|  |                                 |               |  |
|--|---------------------------------|---------------|--|
|  | Fabricant                       |               | Date de péremption                               |
|  | Ne pas réutiliser               | <b>LOT</b>    | Numéro de lot                                    |
|  | Date de fabrication             | <b>EU REP</b> | Représentant européen autorisé                   |
|  | Consulter le mode d'emploi      | <b>IVD</b>    | Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> |
|  | Limite de température           | <b>REF</b>    | Numéro de référence                              |
|  | Suffisant pour <n> Test         | <b>CE</b>     | Marquage CE                                      |
|  | Pas pour test proche du patient |               | Pas pour auto-test                               |

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



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