



ZA Courbouton, secteur 1
35480 GUIPRY - France

Tel : +33(0)2 23 30 17 83
Fax : +33(0)9 71 70 53 10
contact@ngbiotech.com

<https://amr.ngbiotech.com/ng-test-mcr-1/>

ENO016MCR/Rév.220721



NG-TEST®/MCR-1

NG-Test® MCR-1 rapid test for the detection of MCR-1 enzyme responsible for colistin resistance on bacterial colony from culture.

For professional use only.



- EN Instructions for use - 01
- FR Instructions d'utilisation - 06
- CZ Návod k použití - 13
- DE Gebrauchsanweisung - 19
- EL οδηγίες χρήσης - 25
- ES Instrucciones de uso - 31
- IT Istruzioni per l'uso - 37
- SK Návod na použitie - 43
- PT Instruções de Utilização - 49

INTRODUCTION

NG-Test® MCR-1 is a qualitative rapid immunoassay for the detection of the MCR-1 enzyme in a bacterial colony obtained from culture. It is an in vitro diagnostic assay, for professional use only, that aids in the rapid identification of antibiotic-resistant bacteria.

SUMMARY

The presence of Gram-negative multiresistant bacterial strains represents a global and growing threat. They constitute an increase of nosocomial infections in hospital. Polymyxin E (colistin) is an antibiotic considered as a last line of defense against infections caused by resistant strains.

The appearance of the MCR-1 gene (mobilized colistin resistance) in the genome of bacterial plasmids calls into question the use of colistin.

This gene was first discovered in China in 2011 and is present to date in about 18 countries. Global spread is a challenge in terms of sanitary safety. Indeed, the MCR-1 gene coding for the MCR-1 enzyme confers an antimicrobial resistance to colistin. It allows the addition of a phosphoethanolamine residue to lipid A lipopolysaccharide (LPS) bacteria and thus inhibits the attachment of colistin to LPS, thereby affecting its mechanism of operation. This antibiotic resistance enzyme co-exists with others such as carbapenemases and extended-spectrum β -lactamases, thus causing a problem difficult to anticipate.

PRINCIPLE

NG-Test® MCR-1 is a ready for use rapid immunoassay for the detection of the MCR-1 enzyme in a bacterial colony sampled on a solid agar medium after culture (an overnight) and processed in an extraction buffer.

The assay is carried out by dispensing the sample in the cassette well. The sample migrates towards the conjugate pad and, if present, the MCR-1 enzymes react with labelled anti-MCR-1 mouse monoclonal antibodies. The complex migrates through nitrocellulose membrane by capillarity and interacts with the anti-MCR-1 mouse monoclonal antibodies immobilized on the membrane, on the test region "T".

The control line C, is formed by labelled streptavidin and monoclonal antibodies reacting with Biotin-BSA and goat anti-mouse polyclonal antibodies immobilized on the membrane.

If the sample is positive for MCR-1, a red line will appear on the test region "T" and on the control region "C" of the membrane. If not, only one red line will appear on the control region "C".

REAGENTS AND MATERIALS SUPPLIED

Each kit contains :

- 20 Test cassettes in aluminium pouches with desiccant
- 20 Eppendorf tubes
- 20 Disposable pipettes of 100 μ L
- 1 Extraction buffer solution in a plastic bottle (4,5 mL)
- 1 Leaflet

MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

Timer • Single use gloves • Loop • Vortex

PRECAUTIONS

- *In vitro* diagnostic test. For professional use only.
- All the operations must be carried out according to good laboratory practices.
- Do not use after the expiry date.
- The devices must remain in the sealed pouches until they are used.
- Handle the samples as if they were potentially infectious.

- After use, discard the device in an infectious waste container.
- Do not reuse the device.

STORAGE AND STABILITY

Store the devices in their sealed pouches between 4 and 30°C. Do not freeze. Kits are stable until the expiry date indicated on every kit.

CULTURE AND SAMPLING

The samples to be tested shall be obtained and handled according to the standardised microbiology procedures. A colony will be collected in a solid agar-based culture, then will be suspended in the extraction buffer provided into the kit. It is highly recommended to use fresh bacterial colonies for the assay performance to be optimal.

Recommended culture media:

Luria Broth (LB) and LB agar, Trypticase soy agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar and URI-4, Columbia agar + 5% horse blood, ChromIDTM ESBL agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

OPERATING PROCEDURE

- 1 / Wear protective gloves.
- 2 / Bring the kit components at room temperature for at least 10 minutes.

Preparing the sample

- 1 / Dispense 5 drops (150 μ L) of extraction buffer in one of the microtubes provided into the kit.
- 2 / From a solid agar-based culture, collect a colony with a loop, and then suspend it in the microtube containing 150 μ L of extraction buffer.
- 3 / Close the microtube.
- 4 / Vortex to homogenise the mixture before use.

Carrying out the test

- 1 / Open the pouch, and take out the device. Once opened, use the test immediately.
- 2 / Using the provided pipette, add 100 μ L of the prepared mixture (sample must reach the black line indicated on the pipette to accurately aspirate 100 μ L) in the sample well labelled "S".
- 3 / Read the results at 15 minutes and interpret them as indicated below.

NOTE : Do not interpret the test results after 20 minutes, as they may vary possibly causing false positive results.

RESULT INTERPRETATION



NEGATIVE

Negative result

If only one red line appears on the control region (C): the sample does not contain MCR-1 enzyme or non-detectable level of this one and must be interpreted as a negative result.

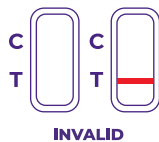


POSITIVE

Positive result

If two red lines appear, one on the control region (C) and one on the test region (T): the sample contains MCR-1 enzyme and must be interpreted as a positive result.

NOTE : The intensity of the red test line(s) may vary depending on the concentration of the MCR-1 enzyme level in the sample. A weak line should be considered as a positive result.

**Invalid result**

If the control line (C) does not appear, the test result is invalid. Insufficient sample volume or an incorrect procedure are the most likely reasons for control line failure.

Deterioration of the test kit may have occurred. Repeat the procedure using a new test. If the problem persists, do not reuse the kit and contact your distributor.

QUALITY CONTROL

An internal control is included in the test. When the control line develops, it confirms the sample volume was sufficient and the procedure was correct.

LIMITATIONS

This test is a qualitative assay, so it cannot yield any quantitative result. This first-line test allows a rapid stratification of the patients. The obtained results must be confirmed with alternative or complementary diagnostic procedures. A positive or a negative test does not rule out the presence of other mechanisms of antibiotic resistance.

PERFORMANCES AND CHARACTERISTICS**Detection limit:**

The detection limit was determined using a purified recombinant MCR-1 enzyme and evaluated at 300 pg/mL.

Validation on a reference strain bank:

NG-Test® MCR-1 was evaluated on 44 clinical strains at NRC Kremlin Bicêtre Paris (National Reference Center), 123 clinical strains at ANSES (National Health Security Agency) Lyon and 117 clinical strains at NRC Clermont Ferrand. A total of 284 strains were evaluated.

Evaluation study:

All results were correlated to the genotype of strains determined by PCR analysis. NG-Test® MCR-1 detects some MCR-2 variants.

Table 1 : Results obtained at NRC Kremlin Bicêtre

		STATUS		
		POSITIVE	NEGATIVE	TOTAL
NG-TEST® MCR-1	POSITIVE	25	0	25
	NEGATIVE	3 (mcr-2)	16	19
	TOTAL	28 (3 mcr-2 detected)	16	44
SENSIVITY	100%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [86.7% ; 100%]		
SPECIFICITY	81.25%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [62.4% ; 94.5%]		

Table 2 : Results obtained at NRC Clermont-Ferrand

		STATUS		
		POSITIVE	NEGATIVE	TOTAL
NG-TEST® MCR-1	POSITIVE	17	0	17
	NEGATIVE	0	100	100
	TOTAL	17	100	117
SENSIVITY	100%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [81.6% ; 100%]		
SPECIFICITY	100%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [96.3% ; 100%]		

Table 3 : Results obtained at ANSES Lyon

		STATUS		
		POSITIVE	NEGATIVE	TOTAL
NG-TEST® MCR-1	POSITIVE	59	0	59
	NEGATIVE	0	64	64
	TOTAL	59	64	123
SENSIVITY	100%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [93.9% ; 100%]		
SPECIFICITY	100%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [94.3% ; 100%]		

Table 4 : Overall results of the three sites for MCR-1










		STATUS		
		POSITIVE	NEGATIVE	TOTAL
NG-TEST® MCR-1	POSITIVE	101	0	101
	NEGATIVE	3 (mcr-2)	180	183
	TOTAL	104	180	284
SENSIVITY	100%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [96.3% ; 100%]		
SPECIFICITY	98.3%	CONFIDENCE INTERVAL 95% [95.3% ; 99.4%]		

BIBLIOGRAPHY

- Gao R et al. Dissemination and Mechanism for the MCR-1 Colistin Resistance. PLoS Pathogens. 2016; 12(11).
- Centers for Disease Control and Prevention. Newly Reported Gene, mcr-1, Threatens Last-Resort Antibiotics. Antibiotic/Antimicrobial Resistance: AR Solutions in Action. 30 November 2016.
- Ye H et al. Diversified mcr-1-harboring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. MBio. 2016; 7(2).
- Paterson DL et al. Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):132-133.
- Hu Y et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2): 146-147.
- Liu YY et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1

in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):161-168.

SYMBOLS

 Content for 20 assays	 Expiry date	 30°C 4°C Temperature limit
 <i>in vitro</i> diagnostic medical device	 Do not re-use	
 Batch number	 Catalogue reference	
 Consult instructions for use	 Manufacturer	

cea

This test was developed in collaboration with the CEA*.

*The French Alternative Energies and Atomic Energy Commission is a key player in research, development and innovation.

INTRODUCTION

NG-Test® MCR-1 est un test rapide immunologique pour la détection de l'enzyme MCR-1 à partir d'une colonie bactérienne après culture. C'est un test de diagnostic *in-vitro* à usage exclusivement professionnel qui aide à l'identification rapide de bactéries résistantes aux antibiotiques.

RÉSUMÉ

La présence de souches bactériennes multirésistantes Gram négatives représente une menace mondiale et croissante. Elles constituent une augmentation des infections nosocomiales en milieu hospitalier. La polymyxine E (colistine) est un antibiotique considéré comme une dernière ligne de défense face aux infections causées par des souches résistantes.

L'apparition du gène MCR-1 (mobilized colistin resistance) dans le génome des plasmides bactériens remet en cause l'utilisation de la colistine.

Ce gène est découvert pour la première fois en Chine en 2011 et est présent à ce jour dans environ 18 pays. Sa propagation au niveau mondial constitue un challenge en termes de sûreté sanitaire. En effet, le gène MCR-1 codant pour l'enzyme MCR-1 confère aux bactéries une résistance à la colistine. Elle permet l'addition d'un résidu phosphoéthanolamine au lipide A des lipopolysaccharide (LPS) des bactéries et inhibe ainsi la fixation de la colistine au LPS, affectant ainsi son mécanisme de fonctionnement. Cette enzyme de résistance aux antibiotiques peut co-exister avec d'autres telles que les carbapénèmes et les β -lactamases à spectre étendu, causant ainsi un problème difficile à anticiper.

PRINCIPE

NG-Test® MCR-1 est effectué à partir d'une colonie bactérienne prélevée sur un milieu gélosé solide après culture (16-24 heures) et traitée dans un tampon d'extraction.

Le test est réalisé en distribuant l'échantillon dans le puit de la cassette. L'échantillon migre au travers du papier conjugué et les enzymes, si elles sont présentes, réagissent avec les anticorps monoclonaux anti-MCR-1 marqués. Le complexe migre à travers la membrane de nitrocellulose par capillarité et interagit avec les anticorps monoclonaux de souris anti-MCR-1 immobilisés sur la membrane au niveau de zone test T. La bande de contrôle (C) se forme par la fixation de la streptavidine marquée et par des anticorps monoclonaux marqués. Ils réagissent avec des anticorps polyclonaux anti-souris de chèvre et de la biotine-BSA immobilisés sur la membrane. Si l'échantillon est positif, une bande rouge apparaîtra à la fois sur la zone test et la zone contrôle. Sinon, une seule bande rouge apparaîtra sur la zone de contrôle.

RÉACTIFS ET MATÉRIEL FOURNIS

Chaque coffret contient :

- 20 cassettes test en sachet aluminium avec dessiccant
- 20 tubes Eppendorf
- 20 pipettes de 100 μ L
- 1 solution tampon d'extraction en flacon plastique (4,5mL)
- 1 notice

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Chronomètre • Gants à usage unique • Oese • Vortex

PRÉCAUTIONS

- Test de diagnostic *in vitro* à usage professionnel.
- Toutes les opérations doivent être réalisées selon les bonnes pratiques de laboratoire.
- Ne pas utiliser après la date d'expiration.
- Les dispositifs doivent rester dans les sachets scellés jusqu'à leur utilisation.
- Manipuler les échantillons comme étant potentiellement infectieux.

- Après usage, jeter le dispositif dans un conteneur approprié pour déchets infectieux.
- Le dispositif ne doit pas être réutilisé.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Conserver les dispositifs dans leur sachet scellé entre 4 et 30°C. Ne pas congeler. Les coffrets sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

CULTURE ET PRÉLÈVEMENT

Les échantillons à tester doivent être obtenus et manipulés selon les méthodes standardisées de microbiologie.

Une colonie sera prélevée à partir d'une culture sur gélose solide, puis mise en suspension dans le tampon d'extraction fourni dans le kit.

Il est fortement recommandé d'utiliser des colonies bactériennes fraîches pour obtenir une performance optimale du test.

Milieux de culture recommandés :

Luria Broth (LB) et LB agar, Trypticase soja agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar et URI-4, Columbia agar + 5 % sang de cheval, ChromIDTM ESB� agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

MODE OPÉRATOIRE

- 1 / Porter des gants de protection.
- 2 / Ramener les composants du kit à température ambiante pendant au moins 10 minutes.

Préparation de l'échantillon

- 1 / Déposer 5 gouttes (150 μ L) de tampon d'extraction dans un des tube eppendorf fourni dans le coffret.
- 2 / À partir de la culture sur gélose solide, prélever une colonie à l'aide d'une oese puis la mettre en suspension dans le tube eppendorf contenant 150 μ L de tampon d'extraction.
- 3 / Fermer le tube eppendorf.
- 4 / Vortexer pour homogénéiser le mélange avant l'utilisation.

Réalisation du test

- 1 / Ouvrir le sachet et retirer le dispositif. Une fois ouvert, le test doit être utilisé immédiatement.
- 2 / À l'aide de la pipette fournie, prélever 100 μ L du mélange préparé (faire monter l'échantillon jusqu'au trait noir indiqué sur la pipette) et les déposer dans le puits échantillon marqué "S".
- 3 / Lire les résultats à 15 minutes et les interpréter comme indiqué ci-dessous.

NOTE : Ne pas interpréter les résultats du test après 20 minutes, les résultats pouvant varier et causant potentiellement des résultats faux positifs.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS



Résultat négatif

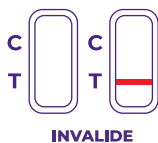
Si une seule bande de couleur rouge apparaît sur la zone contrôle (C) : l'échantillon ne contient pas d'enzyme MCR-1 ou en contient un niveau non détectable et doit être interprété comme un résultat négatif.



Résultat positif

Deux bandes de couleur rouge apparaissent, une sur la zone contrôle (C) et une autre dans la zone test (T) : l'échantillon contient une enzyme MCR-1 et doit être interprété comme un résultat positif.

NOTE : L'intensité de la couleur rouge de la ligne de test (T) varie en fonction de la concentration d'enzyme MCR-1 présente dans l'échantillon. Une ligne d'intensité faible doit être considérée comme un résultat positif.



Résultat invalide

Si la bande de contrôle (C) n'apparaît pas, le résultat du test n'est pas valide. Un volume d'échantillon insuffisant ou une procédure incorrecte sont les raisons les plus fréquentes de l'absence de ligne de contrôle. Une dégradation du coffret peut avoir eu lieu. Répétez la procédure en utilisant un nouveau test. Si le problème persiste, ne pas réutiliser le coffret et contacter votre distributeur.

CONTRÔLE QUALITÉ

Un contrôle de qualité interne est inclus dans le test. L'apparition de la bande de contrôle «C» dans la fenêtre de lecture confirme un volume d'échantillon suffisant et une procédure correcte.

LIMITATIONS

Ce test est qualitatif et en conséquence ne peut pas fournir une valeur quantitative. Ce test doit être utilisé comme une aide pour l'identification rapide de patients porteurs d'une résistance à la colistine. Les résultats obtenus doivent être confirmés par des procédures diagnostiques alternatives ou complémentaires.

Un test positif ou négatif n'écarte pas la présence d'autres mécanismes de résistance aux antibiotiques.

PERFORMANCES ET CARACTÉRISTIQUES

Limite de détection:

La limite de détection a été déterminée à l'aide d'enzymes MCR-1 recombinantes purifiées et évaluée à 300 pg/mL.

Validation clinique :

NG-Test® MCR-1 a été évalué sur 44 souches cliniques au CNR (Centre National de Référence) du Kremlin Bicêtre Paris (France), 123 souches cliniques à l'ANSES de Lyon (France) et 117 souches cliniques au CNR de Clermont Ferrand (France). Au total 284 souches ont été évaluées.

Cross-réactivité :

Tous les résultats ont été corrélés avec le génotype des souches déterminées par analyse PCR. NG-Test® MCR-1 détecte certains variants MCR-2.

Table 1 : Résultats obtenus au CNR du Kremlin Bicêtre

		STATUT		
		POSITIF	NÉGATIF	TOTAL
NG-TEST® MCR-1	POSITIF	25	0	25
	NÉGATIF	3 (mcr-2)	16	19
	TOTAL	28 (3 mcr-2 détectés)	16	44
SENSIBILITÉ		100%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [86.7% ; 100%]	
SPÉCIFICITÉ		81.25%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [62.4% ; 94.5%]	

Table 2 : Résultats obtenus au CNR du Clermont-Ferrand

		STATUT		
		POSITIF	NÉGATIF	TOTAL
NG-TEST® MCR-1	POSITIF	17	0	17
	NÉGATIF	0	100	100
	TOTAL	17	100	117
SENSIBILITÉ		100%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [81.6% ; 100%]	
SPÉCIFICITÉ		100%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [96.3% ; 100%]	

Table 3 : Résultats obtenus à l'ANSES de Lyon

		STATUT		
		POSITIF	NÉGATIF	TOTAL
NG-TEST® MCR-1	POSITIF	59	0	59
	NÉGATIF	0	64	64
	TOTAL	59	64	123
SENSIBILITÉ		100%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [93.9% ; 100%]	
SPÉCIFICITÉ		100%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [94.3% ; 100%]	










Table 4 : Résultats global des trois sites pour MCR-1

		STATUT		
		POSITIF	NÉGATIF	TOTAL
NG-TEST® MCR-1	POSITIF	101	0	101
	NÉGATIF	3 (mcr-2)	180	183
	TOTAL	104	180	284
SENSIBILITÉ		100%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [96.3% ; 100%]	
SPÉCIFICITÉ		98.3%	INTERVALLE DE CONFIANCE 95% [95.3% ; 99.4%]	

BIBLIOGRAPHIE

1. Gao R et al. Dissemination and Mechanism for the MCR-1 Colistin Resistance. PLoS Pathogens. 2016; 12(11).
2. Centers for Disease Control and Prevention. Newly ReportedGene, mcr-1, Threatens Last-Resort Antibiotics. Antibiotic/Antimicrobial Resistance: AR Solutions in Action. 30 November 2016.
3. Ye H et al. Diversified mcr-1-harbouring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. MBio. 2016; 7(2).
4. Paterson DL et al. Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):132-133.
5. Hu Y et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016;16(2): 146-147.
6. Liu YY et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):161-168.

SYMBOLES

	Contenu suffisant pour 20 tests		Date d'expiration		Limites de température de conservation (4°C-30°C)
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Ne pas réutiliser		
	N° de lot		Référence du produit		
	Consulter les instructions d'utilisation		Fabricant		

cea

Ce test a été développé en collaboration avec le CEA[®].

*Le Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives est un acteur français majeur de la recherche technologique et de l'innovation.

ÚVOD

NG-Test® MCR-1 je kvalitativní imunologickým testem k rychlé detekci enzymu MCR-1 z kolonie bakteriálních kultur. Jedná se o *in vitro* diagnostický test určený pouze pro laboratorní použití, který napomáhá k rychlé identifikaci bakterií rezistentních na kolistin.

SOUHRN

Přítomnost gramnegativních multirezistentních bakteriálních kmenů představuje globální a rostoucí hrozbu. Způsobují nárůst nosokomiálních infekcí v nemocnicích. Polymyxin E (kolistin) je antibiotikem považováno za jednu z posledních možností obrany proti infekcím způsobeným rezistentními kmeny.

Přítomnost *mcr-1* genu (mobilizovatelná rezistence ke kolistinu) v DNA bakteriálních plazmidů zpochybňuje použití kolistinu.

Tento gen byl poprvé objeven roku 2011 v Číně a k dnešnímu dni se vyskytuje asi v 18 zemích. Globální šíření je výzva, pokud jde o hygienickou bezpečnost. Gen *mcr-1*, k duje MCR-1 enzym, který je zodpovědný za antimikrobiální rezistenci ke kolistinu. MCR-1 umožňuje vazbu fosfoetanolaminového zbytku na lipid A lipopolysacharidu (LPS) bakterií a tím inhibuje přichycení kolistinu na LPS, čímž ovlivňuje jeho mechanismus působení. Tento enzym pro rezistenci ke kolistinu koexistuje s dalšími enzymy, jako například karbapenemázami a širokospektrými β -laktamázy, čímž vzniká obtížné předvidatelný problém.

PRINCIP

K provedení **NG-Test® MCR-1** testu je potřeba bakteriální kolonie po kultivaci (přes noc) odebrat z pevné agarové půdy a resuspendovat v extrakčním pufru.

Esej se provádí nanesením vzorku do kazetkové jamky. Vzorek migruje směrem ke konjugiční podložce a pokud je přítomen, MCR-1 enzym reaguje se značenými anti-MCR-1 monoklonálními protilátkami. Tento komplex migruje přes nitrocelulózovou membránu díky kapilárními silám a interaguje s anti-MCR-1 myšími monoklonálními protilátkami imobilizovanými na testovací zóně (T).

Kontrolní proužek (C) je tvořen značeným streptavidinem a značenými monoklonálními protilátkami. Ty reagují s biotin-BSA a kožními polyklonálními protilátkami imobilizovanými na membráně, které jsou namířené proti myším protilátkám.

Pokud je vzorek pozitivní na MCR-1, na testovací zóně (T) a na kontrolní zóně (C) membrány se objeví červený proužek. Pokud je testovaný vzorek negativní, objeví se pouze jeden červený proužek v kontrolní zóně (C).

DODÁVANÁ ČINIDLA A MATERIÁLY

Každý sada obsahuje:

- 20 testovacích kazetek v hliníkových obalech s desikantem
- 20 zkumavek Eppendorf
- 20 jednorázových pipet o objemu 100 μ l
- 1 roztok extrakčního pufru v plastové lahvičce (4,5 mL)
- 1 příbalový leták

POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

stopky • ochranné rukavice • bakteriologická klíčka • Vortex

UPOZORNĚNÍ

- Diagnostický test *in vitro*. Pouze pro laboratorní použití.
- Všechny postupy musí být prováděny v souladu se správnou laboratorní praxí.
- Nepoužívejte po uplynutí data expirace.
- Testovací kazety musí zůstat až do použití v uzavřeném hliníkovém obalu.
- Zacházejte se vzorky, jako by byly potenciálně infekční.
- Po použití vyhodte kazety do infekčního odpadu.
- Kazety nepoužívejte opakovaně.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Uchovávejte kazetky v jejich uzavřených obalech mezi 4 až 30°C. Nezamrazovat. Testy jsou stabilní do uplynutí expirace vyznačené na každém obalu. Výrobek je stabilní do uplynutí expirace vyznačeného na krabici kitu.

BAKTERIÁLNÍ KULTURA A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Testované vzorky by měly být odebrány a zpracovávány podle standardních mikrobiologických postupů.

Pomocí klíčky odeberte kolonii z kultury vyrostlé na pevném agaru a následně ji resuspendujte v extrakčním pufru. Pro optimální průběh testu je doporučeno používat čerstvé bakteriální kolonie.

Validovaná kultivační média:

Luria Broth (LB) a LB agar, Trypticase soy agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar a URI-4, Columbia agar + 5% koňská kůže, ChromIDTM ESBL agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

PRACOVNÍ POSTUP

1 / Použijte ochranné rukavice.

2 / Temperujte komponenty kitu při pokojové teplotě po dobu nejméně 10 minut.

Příprava vzorku

1 / Napipetujte 5 kapek (150 μ l) extrakčního pufru do dodávané zkumavky Eppendorf.

2 / Klíčkou odeberte kolonii z kultury vyrostlé na pevném agaru, a následně ji resuspendujte ve zkumavce obsahující extrakční pufr.

3 / Zavřete zkumavku.

4 / Homogenizujte danou směs pomocí vortexu.

Provedení testu

1 / Otevřete obal a vyjměte testovací kazetu. Po otevření obalu proveďte test ihned.

2 / Pomocí dodané pipety odeberte 100 μ l připravené směsi (na pipetě je hranice 100 μ l označena černou čarou) a napipetujte ji do jamky (označené „S“) na kazetě.

3 / Odečtete výsledek za 15 minut, jak je uvedeno níže.

POZNÁMKA: Neodečítejte výsledky po uplynutí doby delší než 20 minut z důvodu možné falešné pozitivivity.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

NEGATIVNÍ

Negativní výsledek

V kontrolní zóně (C) se objeví jeden červený proužek. Vzorek neobsahuje enzym MCR-1 nebo jeho detekovatelnou hladinu a výsledek by měl být interpretován jako negativní.

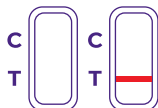


POZITIVNÍ

Pozitivní výsledek

Objeví se dva červené proužky, jeden v kontrolní zóně (C) a druhý v testovací zóně (T) testu. Vzorek obsahuje enzym MCR-1 a výsledek by měl být interpretován jako pozitivní.

POZNÁMKA: Intenzita červeného proužku v testovací oblasti (T) se může lišit v závislosti na množství enzymu MCR-1 ve vzorku. Slabý proužek by měl být považován za pozitivní výsledek.



NEPLATNÝ

Neplatný výsledek

Proužek v kontrolní zóně (C) chybí: výsledek testu je neplatný. Nejčastějšími důvody absence proužku v kontrolní zóně (C) jsou nedostatečný objem vzorku nebo nesprávné provedení postupu testu. Mohlo také dojít k degradaci testovacího kitu. Opakujte postup za použití nového testu (kazety). Pokud problém přetrvává, nepoužívejte daný kit a kontaktujte svého distributora.

KONTROLA KVALITY

Vnitřní kontrola kvality je součástí testu. Přítomnost kontrolního proužku potvrzuje dostatečný objem vzorku a správné provedení testu.

OMEZENÍ

Tento test je kvalitativním, takže nemůže poskytnout žádný kvantitativní výsledek. Test by měl být použit jako usnadnění rychlé identifikace pacientů s infekcí způsobenými bakteriemi rezistentními na kolistin. Dosažený výsledek by měl být potvrzen alternativními nebo komplementárními diagnostickými metodami.

Pozitivní nebo negativní výsledek testu nevylučuje přítomnost jiných mechanismů rezistence ke kolistinu.

DETEKČNÍ CHARAKTERISTIKA

Detekční limit:

Detekční limit byl stanoven za použití purifikovaného rekombinantního enzymu MCR-1 a hodnocen při 300 pg/mL.

Validace na referenčních kmenech:

NG-Test® MCR-1 byl evaluován na 44 klinických kmenech v NRC Kremlin Bicêtre Paris (National Reference Center), 123 klinických kmenech v ANSES (National Health Security Agency) Lyon a 117 klinických kmenech v NRC Clermont Ferrand (National Reference Center).

Bylo vyhodnoceno celkem 284 kmenů.

Skřížená reaktivita:

Všechny výsledky korelovaly s genotypem kmenů stanoveným pomocí PCR.

NG-Test® MCR-1 detkuje některé varianty MCR-2.

Tabulka 1: Výsledky získané v NRC Kremlin Bicêtre

		STATUS		
		POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ	CELKEM
NG-TEST® MCR-1	POZITIVNÍ	25	0	25
	NEGATIVNÍ	3 (mcr-2)	16	19
	CELKEM	28 (detekovány 3 mcr-2)	16	44
SENZITIVA	100%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [86.7% ; 100%]		
SPECIFICITA	81.25%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [62.4% ; 94.5%]		

Tabulka 2: Výsledky získané v NRC Clermont-Ferrand

		STATUS		
		POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ	CELKEM
NG-TEST® MCR-1	POZITIVNÍ	17	0	17
	NEGATIVNÍ	0	100	100
	CELKEM	17	100	117
SENZITIVA	100%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [81.6% ; 100%]		
SPECIFICITA	100%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [96.3% ; 100%]		

Tabulka 3: Výsledky získané v ANSES Lyon

		STATUS		
		POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ	CELKEM
NG-TEST® MCR-1	POZITIVNÍ	59	0	59
	NEGATIVNÍ	0	64	64
	CELKEM	59	64	123
SENZITIVA	100%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [93.9% ; 100%]		
SPECIFICITA	100%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [94.3% ; 100%]		

Tabulka 4: Celkové výsledky ze tří testovacích center

		STATUS		
		POZITIVNÍ	NEGATIVNÍ	CELKEM
NG-TEST® MCR-1	POZITIVNÍ	101	0	101
	NEGATIVNÍ	3 (mcr-2)	180	183
	CELKEM	104	180	284
SENZITIVA	100%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [96.3% ; 100%]		
SPECIFICITA	98.3%	INTERVAL SPOLEHLIVOSTI 95% [95.3% ; 99.4%]		

LITERATURA

- Gao R et al. Dissemination and Mechanism for the MCR-1 Colistin Resistance. PLoS Pathogens. 2016; 12(11).
- Centers for Disease Control and Prevention. Newly Reported Gene, mcr-1, Threatens Last-Resort Antibiotics. Antibiotic/Antimicrobial Resistance: AR Solutions in Action. 30 November 2016.
- Ye H et al. Diversified mcr-1-harboring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. MBio. 2016; 7(2).
- Paterson DL et al. Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):132-133.
- Hu Y et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):146-147.
- Liu YY et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1

in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):161-168.

SYMBOLY



Lze použít
pro 20 testů



In Vitro
diagnostický
zdravotnický
prostředek



Číslo šarže



Viz návod k použití



Datum expirace



Nepoužívejte
opakovaně



Referenční
katalogové číslo



Výrobce



cea

Tento test byl vyvinut ve spolupráci s CEA*.

*Francouzská Komise pro atomovou energii
a alternativní energie a je klíčovým hráčem
ve výzkumu, vývoji a inovacích.

VERWENDUNG

NG-Test® MCR-1 ist ein Immunoassay zum schnellen Nachweis des Enzyms MCR-1 in einer Bakterienkultur. Dies ist ein diagnostisches in vitro-Testverfahren für ausschließlich professionellen Gebrauch für die schnelle Identifizierung von antibiotikaresistenten Bakterien.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Vorkommen von gramnegativen multiresistenten Bakterienstämmen stellt eine wachsende globale Bedrohung dar. Sie führen zu einer Zunahme nosokomialer Infektionen. Polymyxin E (Colistin) ist ein Antibiotikum, das als Reserveantibiotikum bei Infektionen durch resistente Stämme gilt.

Das Auftreten des MCR-1 Gens (Plasmid-vermittelte Colistin-Resistenz) im Genom bakterieller Plasmide stellt die Verwendung von Colistin in Frage.

Dieses Gen wurde 2011 in China entdeckt und kommt bisher in ungefähr 18 Ländern vor. Seine weltweite Verbreitung stellt eine Herausforderung im Bereich Gesundheitssicherheit dar. Das MCR-1 Gen, das dieses Enzym kodiert, verleiht den Bakterien eine Colistin-Resistenz. Sie ermöglichen die Zugabe des Phosphoethanolaminrestes zum Lipid A der Lipopolysaccharide (LPS) der Bakterien und verhindert somit die LPS-Bindung am Colistin und daher seinen Funktionsmechanismus. Außer diesem Antibiotikaresistenz-Enzym existieren noch andere, wie Carbapenemases und Extended Spectrum β -Lactamasen, was zu einem schwer abschätzbaren Problem führen kann.

PRINZIP

Der **NG-Test® MCR-1** wird mit einer Bakterienkultur durchgeführt, die von einer Agarplatte einer Kultur (16-24 Stunden) entnommen und in einem Extraktionspuffer dispergiert wird.

Der Test wird durch Verteilen der Probe in der Mulde der Kassette durchgeführt. Die Probe wandert durch das Konjugationspapier und die Enzyme, falls vorhanden, reagieren mit den markierten monoklonalen MCR-1 Antikörpern. Der Komplex wandert durch Kapillarwirkung durch die Nitrocellulosemembran und interagiert mit den monoklonalen MCR-1 Maus-Antikörpern, die im Bereich des Testbereichs T membrangebunden sind. Das Kontrollband (C) wird durch die Bindung von markiertem Streptavidin und durch markierte monoklonale Antikörper gebildet. Sie reagiert mit den polyklonalen Ziegen-Antikörpern und dem membrangebundenen BSA-Biotin. Ist die Probe positiv, erscheint sowohl im Test- als auch im Kontrollbereich eine rote Linie. Anderenfalls erscheint nur im Kontrollbereich eine rote Linie.

REAGENZEN UND MITGELIEFERTES MATERIAL

Jedes **Test-Set** enthält:

- 20 Testkassetten in Aluminiumbeutel mit Trockenmittel
- 20 Eppendorfgefäße
- 20 Pipetten 100 μ L
- 1 Extraktionspuffer-Lösung in Kunststoffflasche (4,5 mL)
- 1 Bedienungsanleitung

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN

Stoppuhr • Einweghandschuhe • Öse • Vortexmischer

VORSICHTSMAßNAHMEN

- *In vitro*-Diagnostiktest. Nur für den professionellen Gebrauch.
- Alle Maßnahmen sind gemäß guter Laborpraxis durchzuführen.
- Nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Die Produkte müssen bis zu ihrer Verwendung in den verschlossenen Beuteln verbleiben.
- Proben müssen als potenziell infektiös behandelt werden.

- Die gebrauchten Tests nach der Verwendung in einem Behälter für infektiöse Abfälle entsorgen.
- Die Produkte dürfen nicht wiederverwendet werden.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Die Produkte im geschlossenen Beutel bei 4 und 30°C aufbewahren. Die Kits sind bis zum dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nicht einfrieren.

NÄHRMEDIUM UND PROBENGEWINNUNG

Die zu untersuchenden Proben müssen nach mikrobiologischen Standardmethoden gewonnen und behandelt werden. Eine Kolonie wird von einer Agarplatte entnommen und dann in dem im Set enthaltenen Extraktionspuffer suspendiert. Um eine optimale Testleistung zu erzielen, wird dringend empfohlen, frische Bakterienkulturen zu verwenden.

Empfohlene Nährmedien:

Luria Broth (LB) und LB-Agar, Trypticase Soja-Agar (TSA), Mueller-Hinton-Agar und URI-4, Columbia-Agar mit 5% Pferdeblut, ChromIDTM ESBL-Agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski-Laktose-Agar (DRIG).

ARBEITSANWEISUNGEN

- 1 / Schutzhandschuhe tragen.
- 2 / Die Bestandteile des Sets für mindestens 10 Minuten auf Raumtemperatur bringen.

Probenvorbereitung

- 1 / 5 Tropfen (150 μ L) des Extraktionspuffers in ein mitgeliefertes Eppendorfgefäß geben.
- 2 / Von einer Kultur auf einer Agarplatte mittels einer Öse eine Kolonie entnehmen und dann im Eppendorfgefäß mit 150 μ L Extraktionspuffer-Lösung suspendieren.
- 3 / Eppendorfgefäß verschließen.
- 4 / Mit dem Vortexmischer mischen, um die Mischung vor dem Gebrauch zu homogenisieren.

Durchführung des Tests

- 1 / Den Beutel öffnen und das Produkt entnehmen. Den Test sofort nach dem Öffnen verwenden.
- 2 / Mit Hilfe der mitgelieferten Pipette 100 μ L der vorbereiteten Mischung entnehmen (die Probe bis zum auf der Pipette angegebenen schwarzen Strich ansaugen) und in die Probenmulde „S“ geben.
- 3 / Das Ergebnis nach 15 Minuten wie unten angegeben ablesen.

HINWEIS: Testergebnisse nicht nach 20 Minuten interpretieren. Die Ergebnisse können variieren und zu falsch positiven Identifizierungen führen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

NEGATIV

Negatives Ergebnis

Im Kontrollbereich (C) erscheint nur eine rote Linie. Die Probe enthält kein MCR-1 Enzym oder einen nicht nachweisbaren Enzympegel und sollte als negatives Ergebnis interpretiert werden.

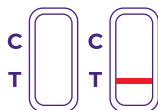


POSITIV

Positives Ergebnis

Im Kontrollbereich (C) werden zwei rote Linien angezeigt und eine weitere im Testbereich (T). Die Probe enthält das MCR-1 Enzym und sollte als positives Ergebnis interpretiert werden.

HINWEIS: Die Intensität der roten Farbe der Testlinie (T) variiert je nach Konzentration MCR-1-Enzyms der Probe. Eine Linie mit geringer Farbintensität sollte als positives Ergebnis interpretiert werden.



UNGÜLTIG

Ungültiges Ergebnis

Wenn die Kontrolllinie (C) nicht angezeigt wird, ist das Testergebnis ungültig. Ein zu geringes Volumen der Probe oder falsche Handhabung sind die häufigsten Ursachen einer fehlenden Kontrolllinie.

Das Set kann auch beschädigt worden sein. Wiederholen Sie den Vorgang mit einem neuen Test. Wenn das Problem weiterhin besteht, das Set nicht wiederverwenden und Ihren Händler kontaktieren.

QUALITÄTSKONTROLLE

Im Test ist eine interne Kontrolle enthalten. Die Anzeige der Kontrolllinie „C“ im Display bestätigt ein ausreichendes Probenvolumen und eine korrekte Vorgehensweise.

EINSCHRÄNKUNGEN

Dieser Test ist qualitativ und kann daher keinen quantitativen Wert liefern. Dieser Test sollte als Hilfsmittel bei der schnellen Identifizierung von Patienten mit Colistin-Resistenz eingesetzt werden. Die erzielten Ergebnisse müssen durch alternative oder zusätzliche Diagnoseverfahren bestätigt werden.

Ein positiver oder negativer Test schließt das Vorhandensein anderer Antibiotika-Resistenz-Mechanismen nicht aus.

TESTLEISTUNGEN UND EIGENSCHAFTEN

Nachweisgrenze:

Die Nachweisgrenze wurde mittels eines gereinigten rekombinanten MCR-1 Enzyms festgestellt und bei 300 pg/ml bewertet.

Klinische Validierung:

Der NG-Test® MCR-1 wurde am CNR (Nationales Referenzzentrum am Universitätsklinikum Kremlin Bicêtre in Paris) an 44 klinischen Stämmen, an 123 klinischen Stämmen am ANSES in Lyon (frz. Behörde für Lebensmittelsicherheit, Umwelt- und Arbeitsschutz) und an 117 klinischen Stämmen an der Universitätsklinik von Clermont Ferand (CNR) untersucht.

Insgesamt wurden 284 Stämme untersucht.

Kreuz Reaktivität:

Alle Ergebnisse wurden mit dem Genotyp der mittels PCR-Analyse ermittelten Stämme korreliert. Im MCR-1 NG-Test wurden verschiedene MCR-2 Varianten nachgewiesen.

Tabelle 1: Ergebnisse des CNR Kremlin Bicêtre

		STATUS		
		POSITIV	NEGATIV	GESAMT
NG-TEST® MCR-1	POSITIV	25	0	25
	NEGATIV	3 (mcr-2)	16	19
	GESAMT	28 (3 mcr-2 nachgewiesen)	16	44
SENSITIVITÄT	100%	KONFIDENZINTERVALL 95% [86.7% ; 100%]		
SPEZIFITÄT	81.25%	KONFIDENZINTERVALL 95% [62.4% ; 94.5%]		

Tabelle 2: Ergebnisse des CNR von Clermont-Ferrand

		STATUS		
		POSITIV	NEGATIV	GESAMT
NG-TEST® MCR-1	POSITIV	17	0	17
	NEGATIV	0	100	100
	GESAMT	17	100	117
SENSITIVITÄT	100%	KONFIDENZINTERVALL 95% [81.6% ; 100%]		
SPEZIFITÄT	100%	KONFIDENZINTERVALL 95% [96.3% ; 100%]		

Tabelle 3: Ergebnisse des ANSES von Lyon

		STATUS		
		POSITIV	NEGATIV	GESAMT
NG-TEST® MCR-1	POSITIV	59	0	59
	NEGATIV	0	64	64
	GESAMT	59	64	123
SENSITIVITÄT	100%	KONFIDENZINTERVALL 95% [93.9% ; 100%]		
SPEZIFITÄT	100%	KONFIDENZINTERVALL 95% [94.3% ; 100%]		









Tabelle 4: Gesamtergebnis der drei Institute für MCR-1

		STATUS		
		POSITIV	NEGATIV	GESAMT
NG-TEST® MCR-1	POSITIV	101	0	101
	NEGATIV	3 (mcr-2)	180	183
	GESAMT	104	180	284
SENSITIVITÄT	100%	KONFIDENZINTERVALL 95% [96.3% ; 100%]		
SPEZIFITÄT	98.3%	KONFIDENZINTERVALL 95% [95.3% ; 99.4%]		

LITERATUR

1. Gao R et al. Dissemination and Mechanism for the MCR-1 Colistin Resistance. PLoS Pathogens. 2016; 12(11).
2. Centers for Disease Control and Prevention. Newly ReportedGene, mcr-1, Threatens Last-Resort Antibiotics. Antibiotic/Antimicrobial Resistance: AR Solutions in Action. 30 November 2016.
3. Ye H et al. Diversified mcr-1-harbouring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. MBio. 2016; 7(2).
4. Paterson DL et al. Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):132-133.
5. Hu Y et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016;16(2): 146–147.
6. Liu YY et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):161-168.

SYMBOL

 <p>Inhalt ausreichend für 20 Tests</p>	 <p>Mindesthaltbarkeitsdatum</p>	 <p>Temperaturgrenze</p>
 <p>In-Vitro-Diagnostikum</p>	 <p>Einmalige Verwendung</p>	
 <p>Chargennummer</p>	 <p>Katalogverweis</p>	
 <p>Gebrauchsanleitung lesen</p>	 <p>Hersteller</p>	



Dieser Test wurde in Zusammenarbeit mit dem CEA* entwickelt.

*Das Commissariat für Atomenergie und alternative Energien (Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives) ist ein wichtiger französischer Akteur in Forschung, Entwicklung und Innovation.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

NG-Test® MCR-1 είναι μία ταχεία ποιοτική ανοσοενζυμική μέθοδος ανίχνευσης του ενζύμου MCR-1 σε μία αποικία βακτηρίων που λαμβάνεται από καλλιέργεια. Είναι μία διαγνωστική μέθοδος in vitro για επαγγελματική χρήση μόνον, που οδηγεί στην ταχεία ταυτοποίηση ανθεκτικών σε αντιβιοτικά βακτηρίων.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρουσία αρνητικών κατά Gram πολυανθεκτικών βακτηριακών στελεχών αποτελεί μία παγκόσμια και αυξανόμενη απειλή. Τα βακτήρια αυτά συντελούν στην αύξηση των νοσοκομειακών μολύνσεων στο νοσοκομείο. Το αντιβιοτικό της Polymyxin E (colistin) θεωρείται ως το τελευταίο μέσον αντίστασης έναντι μολύνσεων που οφείλονται σε ανθεκτικά στελέχη.

Η εμφάνιση του γονιδίου της MCR-1 (που κωδικοποιεί την ανθεκτικότητα στην Colistin) στο γονιδίωμα βακτηριακών πλασμιδίων οδηγεί στην αμφισβήτηση της χρήσης της colistin.

Το γονίδιο αυτό ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά στη Κίνα το 2011 και σήμερα βρίσκεται σε περίπου 18 χώρες. Η παγκόσμια εξάπλωσή του αποτελεί μία πρόκληση όσον αφορά την υγειονομική ασφάλεια.

Πράγματι, το γονίδιο της MCR-1 που κωδικοποιεί το ένζυμο MCR-1 αποδίδει μία αντιμικροβιακή ανθεκτικότητα στην colistin. Επιτρέπει την προσηγή μιας ομάδας φωσφοαιθανολαμίνης στο λιπίδιο A του λιποπολυσαχαρίτη (LPS) των βακτηρίων και έτσι εμποδίζει την σύνδεση της colistin στο LPS, οπότε επηρεάζεται ο μηχανισμός της λειτουργίας της. Η ανθεκτικότητα στο αντιβιοτικό του ενζύμου αυτού συνυπάρχει και με άλλα όπως των καρμπαπενεμικών και των ευρέως φάσματος β-λακταμικών οδηγώντας σε ένα δυσεπίλυτο πρόβλημα.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Για να εκτελέσετε το test **NG-Test® MCR-1**, λαμβάνετε την αποικία βακτηρίων από το θρεπτικό υλικό στερεού άγαρ μετά την καλλιέργεια (ολονύκτια) και την επεξεργάζεστε με το ρυθμιστικό διάλυμα εκχύλισης.

Η μέθοδος γίνεται με την τοποθέτηση του δείγματος στην θέση στην κασέτα. Το δείγμα οδεύει προς την ζώνη του συζεύγματος και αν υπάρχει το ένζυμο MCR-1 αντιδρά με τα σημασμένα μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του ενζύμου MCR-1.

Το σύμπλοκο οδεύει μέσω της μεμβράνης από νιτροκυτταρίνη με τριχοειδείς δυνάμεις και αλληλεπιδρά με μονοκλωνικά αντισώματα ποικίλου έναντι του ενζύμου MCR-1 που έχουν ακινητοποιηθεί στη ζώνη του test T.

Η γραμμή ποιοτικού ελέγχου (C) σχηματίζεται από σημασμένη στρεπταβιδίνη και σημασμένα μονοκλωνικά αντισώματα που αντιδρούν με biotin-BSA και πολυκλωνικά αντισώματα κατ'οίκον έναντι ποικίλου που έχουν ακινητοποιηθεί στην μεμβράνη.

Αν το δείγμα είναι θετικό στο MCR-1, μία κόκκινη ζώνη εμφανίζεται στη θέση του test (T) και άλλη μία ζώνη στη θέση ποιοτικού ελέγχου (C) στην μεμβράνη. Αν το δείγμα είναι αρνητικό εμφανίζεται μία μόνον ζώνη στη θέση ποιοτικού ελέγχου (C).

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

Κάθε κιτ περιλαμβάνει:

- 20 κασέτες δοκιμής σε σακούλα αλουμινίου με αφυγραντικό
- 20 σωληνάρια τύπου Eppendorf
- 20 πιπέτες των 100μL
- 1 ρυθμιστικό διάλυμα εκχύλισης σε μία πλαστική φιάλη (4.5 mL)
- 1 φυλλάδιο

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Χρονόμετρο • Γάντια μιας χρήσης • Κρίκιο • Vortex

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Διαγνωστικό test in vitro. Για επαγγελματική χρήση μόνον.
- Όλοι οι χειρισμοί της μεθόδου θα πρέπει να γίνονται σύμφωνα με καλές εργαστηριακές πρακτικές.
- να μην χρησιμοποιείται μετά τον χρόνο λήξης.
- οι μηχανισμοί θα πρέπει να παραμένουν στα σφραγισμένα σακουλάκια τους έως ότου χρησιμοποιηθούν.
- να χειρίζεστε τα δείγματα ως δυνητικά μολυσματικά.
- μετά την χρήση των κασέτων πετάτε τις σε κάδο μολυσματικών απορριμμάτων.
- να μην ξαναχρησιμοποιήσετε την κασέτα.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Αποθηκεύστε τις συσκευές στα σφραγισμένα σακουλάκια τους στους 4-30°C. Μην τις καταψύξετε. Το κιτ είναι σταθερό έως τον αναγραφόμενο χρόνο λήξης στην ετικέτα του κιτ.

ΚΑΛΙΕΡΓΕΙΑ ΚΑΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Τα προς έλεγχο δείγματα θα πρέπει να λαμβάνονται και να χειρίζονται σύμφωνα με πρότυπες μικροβιολογικές τεχνικές. Η συλλογή της αποικίας γίνεται μετά από καλλιέργεια σε θρεπτικό υλικό στερεού άγαρ και αμέσως μετά θα πρέπει να εναιωρηθεί στο ρυθμιστικό διάλυμα εκχύλισης, που παρέχεται στο κιτ. Συνιστάται να συλλέγονται φρέσκες βακτηριακές αποικίες για άριστη απόδοση της μεθόδου.

Προτεινόμενα θρεπτικά υλικά:

Ζυμός Luria (LB) και LB agar, Trypticase soy agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar και URI-4, Columbia agar + 5% horse blood, ChromIDTM ESB agar, Chrom IDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

1 / Φοράτε προστατευτικά γάντια.

2 / Αφίστε τα συστατικά του κιτ σε θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον 10 λεπτά.

Προετοιμασία του δείγματος

1 / Βάλτε 5 σταγόνες (150μL) του ρυθμιστικού διαλύματος εκχύλισης σε ένα παρεχόμενο σωληνάριο τύπου Eppendorf.

2 / Στην καλλιέργεια σε θρεπτικό υλικό στερεού άγαρ συλλέγουμε μία αποικία με ένα κρίκιο και μετά την εναωρούμε στο σωληνάριο που περιέχει το ρυθμιστικό διάλυμα εκχύλισης.

3 / Κλείνουμε το καπάκι του σωληναρίου.

4 / Ανακινούμε με vortex για την ομογενοποίηση του μίγματος, πριν τη χρήση του.

Αιξαγωγική του test

1 / Ανοίξτε το σακουλάκι και βγάλτε την κασέτα. Η κασέτα θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί αμέσως μετά.

2 / Με την πιπέτα τη συλλέξετε 100μL από το ομογενοποιημένο μίγμα (γεμίστε έως το μάρκο σημάδι της πιπέτας για το όγκο των 100μL) και βάλτε τον σωστό όγκο στη θέση με την ένδειξη S.

3 / Διαβάστε τα αποτελέσματα σε 15 λεπτά όπως περιγράφεται παρακάτω.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Μην ερμηνεύετε τα αποτελέσματα της δοκιμής μετά από 20 λεπτά, διότι μπορεί να ποικίλουν προκαλώντας ψευδώς θετικά αποτελέσματα.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ



ΑΡΝΗΤΙΚΟ

Αρνητικό αποτέλεσμα

Μία μοναδική κόκκινη ζώνη εμφανίζεται στη θέση ποιοτικού ελέγχου (C). Το δείγμα δεν περιέχει το ένζυμο MCR-1 ή οποιαδήποτε ανιχνεύσιμη συγκέντρωση και θα πρέπει να ερμηνευτεί ως αρνητικό αποτέλεσμα.

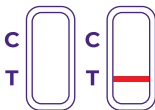


VIM ΘΕΤΙΚΟ

Θετικό αποτέλεσμα

Δύο κόκκινες ζώνες εμφανίζονται, μία στη θέση ποιοτικού ελέγχου (C) και μία στη θέση του τέστ (T). Το δείγμα περιέχει το ένζυμο MCR-1 και ερμηνεύεται ως θετικό αποτέλεσμα.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η ένταση της κόκκινης ζώνης στη θέση του τέστ T είναι δυνατόν να διαφέρει ανάλογα με την συγκέντρωση του ενζύμου MCR-1 στο δείγμα. Αχνή ζώνη θα πρέπει να ερμηνεύεται ως θετικό αποτέλεσμα.



ΑΚΥΡΟ

Άκυρο αποτέλεσμα

Αν η γραμμή του μάρτυρα (C) δεν εμφανίζεται, η δοκιμή δεν είναι έγκυρη. Οι πιο πιθανές αιτίες για την αποτυχία της γραμμής του μάρτυρα είναι ο ανεπαρκής όγκος δείγματος ή η λανθασμένη διαδικασία.

Θα μπορούσε να έχει συμβεί αλλοίωση του κιτ. Επαναλάβετε την διαδικασία χρησιμοποιώντας ένα καινούριο τεστ. Αν το πρόβλημα επιμένει μην ξαναχρησιμοποιήσετε το κιτ και επικοινωνήστε με τον αντιπρόσωπο σας.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Ενας εσωτερικός μάρτυρας περιλαμβάνεται στο τεστ. Αν εμφανίζεται η ζώνη ποιοτικού ελέγχου πιστοποιείται ο επαρκής όγκος του δείγματος και ότι η διαδικασία ακολουθήθηκε σωστά.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το τεστ είναι ποιοτικό και δεν μπορεί να δώσει οποιοδήποτε ποσοτικό αποτέλεσμα. Το τεστ θα πρέπει να χρησιμοποιείται σαν ένα βοήθημα για την ταχεία ταυτοποίηση ασθενών που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά της colistin. Τα λαμβανόμενα αποτελέσματα θα πρέπει να επιβεβαιώνονται με εναλλακτικές ή συμπληρωματικές διαγνωστικές τεχνικές. Ένα θετικό ή αρνητικό αποτέλεσμα δεν θα πρέπει να αποκλείει την παρουσία άλλων μηχανισμών αντοχής στα αντιβιοτικά.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΠΙΔΟΣΗΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Όριο ανίχνευσης:

Το όριο ανίχνευσης καθορίστηκε με χρήση ενός καθαρού ανασυνδιασμένου ενζύμου MCR-1 και υπολογίστηκε σε 300 pg/ml.

Επικύρωση με τράπεζες στελεχών αναφοράς:

Το τεστ NG-Test® MCR-1 αξιολογήθηκε σε 44 κλινικά στελέχη στο NRC Kremlin Bicetre Paris (National Reference Center), σε 123 κλινικά στελέχη στο ANSES (National Health Security Agency) Lyon και 117 κλινικά στελέχη στο NRC Clermont Ferrand (National Reference Center).

Συνολικά αξιολογήθηκαν 284 στελέχη.

Διασταυρούμενες αντιδράσεις:

Όλα τα αποτελέσματα συσχητίστηκαν με τον γονότυπο των στελεχών που καθορίστηκαν

με ανάλυση PCR.

Το τεστ NG-Test® MCR-1 ανιχνεύει ορισμένες ποικιλίες του MCR-2.

Πίνακας 1: Αποτελέσματα από το NRC Kremlin Bicetre Paris

		ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ		
		ΘΕΤΙΚΟ	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΣΥΝΟΛΟ
NG-TEST® MCR-1	ΘΕΤΙΚΟ	25	0	25
	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	3 (mcr-2)	16	19
	ΣΥΝΟΛΟ	28 (ανιχνεύθηκαν 3 mcr-2)	16	44
ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ	100%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [86.7% ; 100%]		
ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ	81.25%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [62.4% ; 94.5%]		

Πίνακας 2: Αποτελέσματα από το NRC Clermont Ferrand

		ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ		
		ΘΕΤΙΚΟ	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΣΥΝΟΛΟ
NG-TEST® MCR-1	ΘΕΤΙΚΟ	17	0	17
	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	0	100	100
	ΣΥΝΟΛΟ	17	100	117
ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ	100%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [81.6% ; 100%]		
ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ	100%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [96.3% ; 100%]		

Πίνακας 3: Αποτελέσματα από το ANSES Lyon

		ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ		
		ΘΕΤΙΚΟ	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΣΥΝΟΛΟ
NG-TEST® MCR-1	ΘΕΤΙΚΟ	59	0	59
	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	0	64	64
	ΣΥΝΟΛΟ	59	64	123
ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ	100%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [93.9% ; 100%]		
ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ	100%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [94.3% ; 100%]		

Πίνακας 4: Συνολικά αποτελέσματα από τα τρία Κέντρα

		ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ		
		ΘΕΤΙΚΟ	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΣΥΝΟΛΟ
NG-TEST [®] MCR-1	ΘΕΤΙΚΟ	101	0	101
	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	3 (mcr-2)	180	183
	ΣΥΝΟΛΟ	104	180	284

ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ	100%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [96.3% ; 100%]
ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ	98.3%	διάστημα εμπιστοσύνης 95% [95.3% ; 99.4%]

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Gao R et al. Dissemination and Mechanism for the MCR-1 Colistin Resistance. PLoS Pathogens. 2016; 12(11).
- Centers for Disease Control and Prevention. Newly Reported Gene, mcr-1, Threatens Last-Resort Antibiotics. Antibiotic/Antimicrobial Resistance: AR Solutions in Action. 30 November 2016.
- Ye H et al. Diversified mcr-1-harboring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. MBio. 2016; 7(2).
- Paterson DL et al. Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):132-133.
- Hu Y et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2): 146-147.
- Liu YY et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):161-168.

ΣΥΜΒΟΛΑ

	Περιεχόμενο για 20 δοκιμασίες		Ημερομηνία λήξης		30°C Όριο θερμοκρασίας 4°C
	<i>in vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν		Να μην επαναχρησιμοποιείται		
	Αριθμός παρτίδας		Αναφορά καταλόγου		
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		Κατασκευαστής		

Αυτή η δοκιμή αναπτύχθηκε σε συνεργασία με τη CEA*.

*Η Γαλλική Επιτροπή Ατομικής Ενέργειας και Εναλλακτικών Πηγών Ενέργειας αποτελεί βασικό πρωταγωνιστή στους τομείς της έρευνας, της ανάπτυξης και της καινοτομίας.

INTRODUCCIÓN

NG-Test® MCR-1 es una prueba rápida inmunológica para la detección de la enzima MCR-1 en una colonia bacteriana después del cultivo. Es una prueba de diagnóstico in vitro para uso exclusivamente profesional que ayuda a la identificación rápida de bacterias resistentes a los antibióticos.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La existencia de cepas bacterianas Gram negativas multiresistentes representa una amenaza global creciente. Son la causa del incremento de infecciones nosocomiales hospitalarias. La polimixina E (colistina) es un antibiótico considerado de último recurso contra infecciones causadas por cepas resistentes.

La aparición del gen MCR-1 (mobilized colistin resistance) de resistencia a la colistina en el genoma de plásmidos bacterianos cuestiona el uso de colistina. Este gen se descubrió en China en 2011 y actualmente se encuentra en 18 países. Evitar la propagación a otros países es una prioridad de salud pública global. De hecho, el gen MCR-1 que codifica la enzima MCR-1 confiere a la bacteria resistencia a la colistina, añadiendo un residuo de fosfoetanolamina al lípido A del lipopolisacárido (LPS) de la bacteria, de modo que inhibe la unión de colistina al LPS y afecta su mecanismo de operación. Este enzima de resistencia antibiótica coexiste con otros como carbapenemasas y β-lactamasas de espectro ampliado (BLEA), causando un grave problema difícil de prevenir.

PRINCIPIO

NG-Test® MCR-1 se lleva a cabo a partir de una colonia bacteriana obtenida en medio de cultivo de agar sólido tras 16 a 24 horas de incubación y procesada en un tampón de extracción.

La prueba se realiza entonces dispensando la muestra en el pozo del cassette. La muestra migra a través del papel conjugado y las enzimas, si están presentes, reaccionan con los anticuerpos monoclonales anti-MCR-1 marcados. El complejo migra a través de la membrana de nitrocelulosa por capilaridad e interactúa con los anticuerpos monoclonales de rata anti-MCR-1 inmovilizados en la zona de test (T). La línea de control (C) se forma por la fijación de la estreptavidina marcada y anticuerpos monoclonales marcados. Estos reaccionan con anticuerpos policlonales anti-ratón de cabra y biotina-BSA inmovilizados en la membrana. Si la muestra es positiva, aparecerá una línea roja tanto en la zona de test (T) como en la zona de control (C). De lo contrario, solo aparecerá una línea roja en la zona de control (C).

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

Cada kit contiene:

- 20 placas envasadas individualmente en aluminio con desecante
- 20 tubos Eppendorf
- 20 pipetas desechables de 100 µL
- 1 botella de solución de tampón de extracción (4,5 mL)
- 1 folleto

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Cronómetro • Guantes desechables • Asa • Vórtex

PRECAUCIONES

- Test de diagnóstico in vitro. Sólo para uso profesional.
- El procedimiento debe llevarse a cabo siguiendo las buenas prácticas de laboratorio.
- No utilizar si ha caducado.
- No abrir los estuches de las placas hasta su uso.
- Manipular las muestras como potencialmente infecciosas.
- Tras su uso, eliminar la placa en un contenedor de residuos infecciosos.

- No reutilizar la placa.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Conservar las placas en sus envases debidamente cerrados a 4-30°C. Las placas son estables hasta la fecha de caducidad indicada en cada estuche. La caja es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

CULTIVO Y MUESTREO

Las muestras que se van a analizar deben obtenerse y manipularse según procedimientos estandarizados de microbiología.

En una placa de cultivo de agar sólido, se toma una colonia con un asa y se suspende en el tampón de extracción.

Es altamente recomendable emplear colonias frescas para la obtención de resultados óptimos.

Medios de cultivo recomendados:

Caldo Luria (LB) y LB agar, Trypticase soy agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar y URI-4, Columbia agar + 5% con sangre de caballo, ChromIDTB ESBL agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

PROCEDIMIENTO OPERATIVO

1 / Emplear guantes.

2 / Dejar los componentes del kit a temperatura ambiente al menos 10 minutos.

Preparación de la muestra

1 / Dispensar 5 gotas (150 µL) de tampón de extracción en un tubo Eppendorf (incluido en el kit).

2 / En la placa de cultivo de agar sólido, tomar una colonia con un asa y suspenderla en el tubo que contiene el tampón de extracción.

3 / Cerrar el tubo con el tapón.

4 / Homogeneizar la mezcla con el vortex.

Realización de la prueba

1 / Abrir el envase, extraer la placa y realizar el análisis de inmediato.

2 / Tomar 100 µl de la mezcla con la pipeta (la muestra debe llegar a la línea negra de la pipeta para tomar exactamente 100 µL) y dispensar el volumen adecuado en el pozo de la muestra identificado como "S".

3 / Leer los resultados a los 15 minutos e interpretarlos tal como se indica a continuación.

NOTA: No leer el test pasados 20 minutos. Los resultados pueden variar causando potencialmente falsos positivos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS



NEGATIVO

Resultado negativo

Sólo aparece una línea coloreada en la zona de control (C): la muestra no contiene enzima MCR-1 o el nivel que se detecta de enzima debe interpretarse como resultado negativo.

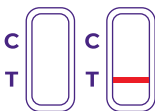


POSITIVO

Resultado positivo

Aparecen dos líneas coloreadas, una en la zona de control (C) y otra en la zona de test (T): la muestra contiene enzima MCR-1 y debe interpretarse como resultado positivo.

NOTA: La intensidad de la línea de test (T) puede variar dependiendo del nivel de enzima MCR-1 en la muestra. Una línea de baja intensidad debe considerarse como un resultado positivo.



NO VÁLIDO

Resultado no válido

Si no aparece la línea de control (C), el resultado se considera no válido. Las causas suelen ser volumen insuficiente de muestra o un procedimiento incorrecto. También puede deberse a un deterioro en el kit. Repetir el procedimiento con una nueva placa. Si persiste el problema, no volver a utilizar el kit y contactar con el distribuidor.

CONTROL DE CALIDAD

La prueba incluye un control interno. Si aparece la línea de control, se confirma que el volumen de muestra ha sido suficiente y que el procedimiento ha sido correcto.

LIMITACIONES

Esta es una prueba cualitativa por lo que no puede proporcionar resultados cuantitativos.

Esta prueba de cribado permite una rápida clasificación de pacientes. Los resultados obtenidos deben ser confirmados mediante procedimientos diagnósticos alternativos o complementarios. Un resultado positivo o negativo no descarta la presencia de otros mecanismos de resistencia antibiótica.

ESPECIFICACIONES TÉCNICAS**Límite de detección:**

El límite de detección se determinó empleando enzimas recombinantes purificado MCR-1 y se evaluó en 300 pg/mL.

Validación clínica:

NG-Test® MCR-1 se evaluó en 44 cepas clínicas en el CNR Kremlin Bicêtre (Centro Nacional de Referencia) Paris (Francia), 123 cepas clínicas en ANSES (National Health Security Agency) Lyon (Francia) y 117 cepas clínicas en el CNR Clermont Ferrand (Centro Nacional de Referencia). Se evaluaron un total de 284 cepas.

Reacciones cruzadas:

NG-Test® MCR-1 Todos los resultados se correlacionaron con el genotipo de cepas determinado por PCR.

NG-Test® MCR-1 detecta algunas variantes de MCR-2.

Tabla 1: Resultados obtenidos en CNR Kremlin Bicêtre

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	25	0	25
	NEGATIVO	3 (mcr-2)	16	19
	TOTAL	28 (3 mcr-2)	16	44
SENSIBILIDAD		100%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [86.7% ; 100%]	
ESPECIFICIDAD		81.25%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [62.4% ; 94.5%]	

Tabla 2: Resultados obtenidos en CNR Clermont-Ferrand

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	17	0	17
	NEGATIVO	0	100	100
	TOTAL	17	100	117
SENSIBILIDAD		100%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [81.6% ; 100%]	
ESPECIFICIDAD		100%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [96.3% ; 100%]	

Tabla 3: Resultados obtenidos en ANSES Lyon

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	59	0	59
	NEGATIVO	0	64	64
	TOTAL	59	64	123
SENSIBILIDAD		100%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [93.9% ; 100%]	
ESPECIFICIDAD		100%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [94.3% ; 100%]	

Tabla 4: Resultados totales de MCR-1 para los tres centros

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG•TEST® MCR-1	POSITIVO	101	0	101
	NEGATIVO	3 (mcr-2)	180	183
	TOTAL	104	180	284
SENSIBILIDAD		100%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [96.3% ; 100%]	
ESPECIFICIDAD		98.3%	INTERVALO DE CONFIANZA 95% [95.3% ; 99.4%]	

BIBLIOGRAFÍA

1. Gao R et al. Dissemination and Mechanism for the MCR-1 Colistin Resistance. PLoS Pathogens. 2016; 12(11).
2. Centers for Disease Control and Prevention. Newly Reported Gene, MCR-1, Threatens Last-Resort Antibiotics. Antibiotic/Antimicrobial Resistance: AR Solutions in Action. 30 November 2016.
3. Ye H et al. Diversified mcr-1-harbouring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. MBio. 2016; 7(2).
4. Paterson DL et al. Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):132-133.
5. Hu Y et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2): 146-147.
6. Liu YY et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):161-168.

SÍMBOLOS



Contenido para
20 pruebas



Fecha de
caducidad



Producto
de diagnóstico
in vitro



No reutilizar



Número de lote



Referencia



Consultar
instrucciones
de uso



Fabricante



Esta prueba fue desarrollada en colaboración
con la CEA (Comisión de Energía Atómica)*.

*La Comisión francesa de Energía Atómica es
un actor clave en investigación, desarrollo
e innovación

INTRODUZIONE

NG-Test® MCR-1 è un test rapido immunologico per la rilevazione dell'enzima MCR-1 a partire da una singola colonia batterica ottenuta da coltura. È un test diagnostico in vitro per uso esclusivamente professionale che aiuta nella rapida identificazione di batteri resistenti agli antibiotici.

SOMMARIO

La presenza di ceppi batterici Gram-negativi multiresistenti rappresenta una minaccia globale e crescente. Tali ceppi contribuiscono all'aumento delle infezioni nosocomiali. La polimixina E (colistina) è un antibiotico considerato di ultima istanza nella difesa contro le infezioni causate da ceppi multiresistenti.

La rilevazione del gene MCR-1 (mobilized colistin resistance) nel genoma dei plasmidi batterici mette in discussione l'uso della colistina. Questo gene è stato scoperto per la prima volta in Cina nel 2011 ed è presente fino ad oggi in circa 18 paesi. La diffusione di ceppi resistenti in altre parti del mondo potrebbe costituire una grande sfida per la salute pubblica. Infatti, il gene MCR-1, che codifica per l'enzima MCR-1, conferisce resistenza alla colistina. Permette l'aggiunta di un residuo di fosfoetanolamina al lipide A lipopolisaccaride (LPS), e quindi inibisce l'attacco della colistina al LPS alterando in tal modo il suo meccanismo di funzionamento. Questo enzima potrebbe coesistere con altri enzimi, come le carbapenemasi e le β -lattamasi a spettro esteso, causando così un difficile problema che dovrà essere affrontato in anticipo.

PRINCIPIO

NG-Test® MCR-1 è effettuato a partire da una colonia batterica prelevata su un terreno di coltura agarizzato (solido) dopo 16-24 ore di incubazione, e trattata in un tampone di estrazione.

Poi il test viene eseguito dispensando il campione nel pozzetto della cassetta. Il campione migra attraverso la striscia coniugata, e gli enzimi se presenti, reagiscono con gli anticorpi monoclonali anti-MCR-1 marcati. Il complesso migra per capillarità attraverso la membrana di nitrocellulosa e interagisce con gli anticorpi di topo monoclonali anti-MCR-1 immobilizzati sulla membrana. La linea di controllo (C) è formata dal legame della streptavidina marcata e dagli anticorpi monoclonali marcati. Reagiscono con anticorpi policlonali di capra anti-topo e biotina-BSA immobilizzati sulla membrana. Se il campione è positivo, una linea rossa apparirà sia nell'area di test (T) che nell'area di controllo (C). Altrimenti, solo una linea rossa apparirà nell'area di controllo (C).

REAGENTI E MATERIALI FORNITI

Ciascun kit contiene:

- 20 Test card confezionate in sacchetti di alluminio sigillati con un agente essiccante
- 20 provette Eppendorf
- 20 Pipette da 100 μ L
- 1 soluzione buffer di estrazione in un flaconcino di plastica (4,5 mL)
- 1 Foglio di Istruzioni per l'Uso

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Timer • Guanti monouso • Anse • Vortex

PRECAUZIONI

- Test diagnostico in vitro. Solo per uso professionale.
- Tutte le operazioni devono essere condotte in conformità con la buona pratica di laboratorio.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza.
- La card deve essere conservata nel proprio involucro sigillato fino al momento dell'utilizzo.

- Manipolare i campioni come se fossero potenzialmente infettivi.
- Dopo l'utilizzo, smaltire le card e i reagenti in un contenitore per rifiuti infettivi.
- Non riutilizzare le card.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare le card nel loro involucro sigillato a una temperatura compresa tra 4 e 30°C. Non congelare. I kit sono stabili fino alla data di scadenza indicata su ciascun kit.

PRELIEVO DEI CAMPIONI

I campioni da analizzare devono essere ottenuti e manipolati in accordo con le procedure microbiologiche standardizzate.

Con un'ansa prelevare una colonia cresciuta su agar solido e risospenderla nel tampone d'estrazione fornito nel kit.

Per prestazioni ottimali, si raccomanda vivamente l'uso di colonie batteriche fresche.

Terreni di coltura raccomandati:

Luria Broth (LB) e LB agar, Trypticase soy agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar e URI-4, Columbia agar + 5% horse blood, ChromIDTM ESBL agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

PROCEDURA OPERATIVA

1 / Indossare guanti protettivi.

2 / Prima di eseguire l'analisi, consentire a tutti i componenti del kit di raggiungere la temperatura ambiente per almeno 10 minuti.

Preparazione del campione

1 / Dispensare 5 gocce (150 μ L) di tampone d'estrazione in una provetta Eppendorf fornita.

2 / Con un'ansa, prelevare una colonia cresciuta su agar solido, quindi risospenderla nella provetta Eppendorf contenente il tampone d'estrazione.

3 / Chiudere la provetta Eppendorf con il tappo.

4 / Prima dell'uso, omogeneizzare la soluzione mediante Vortex.

Esecuzione del test

1 / Aprire l'involucro ed estrarre la card. Una volta aperta la confezione, utilizzare subito la card.

2 / Utilizzando la pipetta fornita, dispensare 100 μ L di soluzione preparata (il campione deve raggiungere la linea nera indicata sulla pipetta per poter trasferire 100 μ L) nel pozzetto campione marcato con la lettera "S".

3 / Leggere i risultati dopo 15 minuti come indicato di seguito.

NOTA: non interpretare i risultati del test dopo che siano trascorsi 20 minuti. I risultati possono variare potenzialmente causando falsi positivi.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI



NEGATIVO

Risultato negativo

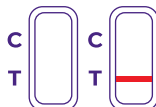
Appare solo una linea rossa nella regione controllo (C). Il campione non contiene l'enzima MCR-1 o contiene MCR-1 a livelli non rilevabili e deve essere interpretato come risultato negativo.



Risultato positivo

Appaiono due linee: una nella regione controllo (C) e una nella regione test (T). Il campione contiene l'enzima MCR-1 e deve essere interpretato come risultato positivo.

NOTA: l'intensità della linea rossa Test potrebbe variare in relazione al livello di enzima presente nel campione. Una linea a bassa intensità dovrebbe essere considerata un risultato positivo.



Risultato non valido

Se la linea di controllo (C) non appare, il risultato del test non è valido. Le cause principali potrebbero essere dovute all'insufficiente quantità di campione o ad una procedura non corretta. Potrebbe anche essersi verificato un deterioramento del kit. Ripetere la procedura utilizzando un nuovo test.

Se il problema persiste, non riutilizzare il kit e contattare il distributore.

CONTROLLO QUALITÀ

Nel test è incluso un controllo interno. Quando si sviluppa la linea di controllo, ciò sta a significare che il volume del campione era sufficiente e la procedura corretta.

LIMITI

Questo test è un test qualitativo, pertanto non è in grado di fornire risultati quantitativi. Questo test di prima-linea permette una rapida classificazione dei pazienti. I risultati ottenuti devono essere confermati con specifiche colture su agar e allestendo il test di sensibilità in MIC, Minima Concentrazione Inibente.

Un test positivo non esclude la presenza di altri meccanismi di antibiotico-resistenza.

PERFORMANCE E CARATTERISTICHE

Limite di rilevazione:

Il limite di rilevazione è stato determinato utilizzando l'enzima MCR-1 purificato ricombinante e valutato a 300 pg/mL.

Validazione clinica:

Il test **NG-Test® MCR-1** è stato valutato su 44 ceppi clinici al CNR Kremlin Bicêtre Paris-France (Centro di riferimento Nazionale), 123 ceppi clinici presso ANSES (National Health Security Agency) Lyon e 117 ceppi clinici al CNR Clermont Ferrand (Centro di riferimento Nazionale).

Sono stati valutati in tutto 284 ceppi.

Cross-reattività:

Tutti i risultati sono stati correlati al genotipo dei ceppi determinato mediante analisi PCR.

NG-Test® MCR-1 rileva alcune varianti MCR-2.

Tabella 1: Risultati ottenuti al CNR Kremlin Bicêtre

		STATUS		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTALE
NG-TEST® MCR-1	POSITIVO	25	0	25
	NEGATIVO	3 (mcr-2)	16	19
	TOTALE	28 (3 mcr-2)	16	44
SENSIBILITÀ	100%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [86.7% ; 100%]		
SPECIFICITÀ	81.25%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [62.4% ; 94.5%]		

Tabella 2: Risultati ottenuti al CNR Clermont-Ferrand

		STATUS		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTALE
NG-TEST® MCR-1	POSITIVO	17	0	17
	NEGATIVO	0	100	100
	TOTALE	17	100	117
SENSIBILITÀ	100%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [81.6% ; 100%]		
SPECIFICITÀ	100%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [96.3% ; 100%]		

Tabella 3: Risultati ottenuti all'ANSES Lyon

		STATUS		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTALE
NG-TEST® MCR-1	POSITIVO	59	0	59
	NEGATIVO	0	64	64
	TOTALE	59	64	123
SENSIBILITÀ	100%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [93.9% ; 100%]		
SPECIFICITÀ	100%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [94.3% ; 100%]		










Tabella 4: Risultati complessivi dei tre siti per MCR-1

		STATUS		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTALE
NG-TEST® MCR-1	POSITIVO	101	0	101
	NEGATIVO	3 (mcr-2)	180	183
	TOTALE	104	180	284
SENSIBILITÀ	100%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [96.3% ; 100%]		
SPECIFICITÀ	98.3%	INTERVALLO DI CONFIDENZA 95% [95.3% ; 99.4%]		

BIBLIOGRAFIA

1. Gao R et al. Dissemination and Mechanism for the MCR-1 Colistin Resistance. PLoS Pathogens. 2016; 12(11).
2. Centers for Disease Control and Prevention. Newly ReportedGene, mcr-1, Threatens Last-Resort Antibiotics. Antibiotic/Antimicrobial Resistance: AR Solutions in Action. 30 November 2016.
3. Ye H et al. Diversified mcr-1-harbouring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. MBio. 2016; 7(2).
4. Paterson DL et al. Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):132-133.
5. Hu Y et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016;16(2): 146–147.
6. Liu YY et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):161-168.

SIMBOLI

	Contenuto per 20 test		Data scadenza	
	Dispositivo medico diagnostici <i>in vitro</i>		Non riutilizzare	
	Numero di lotto		Riferimento catalogo	
	Consultare le istruzioni per l'uso		Produttore	

cea

Questo test è stato sviluppato in collaborazione con il CEA*.

*Il Commissariato per l'energia atomica e le energie alternative è un attore chiave nella ricerca, nello sviluppo e nell'innovazione.

ÚVOD

NG-Test® MCR-1 je kvalitatívnym rýchlym imunostanovením na detekciu MCR-1 enzýmu v bakteriálnej kolónii z skanej z kultivácie.

Test je určený iba pre in vitro diagnostické použitie, určené iba pre profesionálne použitie, ktorého cieľom je rýchla identifikácia baktérierezistentných voči antibiotikám.

SUMAR

Prítomnosť gramnegatívnych multirezistentných bakteriálnych kmeňov predstavuje globálnu a rastúcu hrozbu. Predstavujú zvýšenie nozokomiálnych infekcií v nemocnici. Polymyxin E (colistín) je antibiotikum, ktoré sa považuje za poslednú obrannú líniu proti infekciám spôsobeným rezistentnými kmeňmi.

Objavenie génu MCR-1 (mobilizovaná rezistencia na colistín) v genóme bakteriálnych plazmidov sponchýbňuje použitie colistínu.

Tento gén bol prvýkrát objavený v Číne v roku 2011 a doteraz sa nachádza v približne 18 krajinách. Globálne rozšírenie je výzov, pokiaľ ide o sanitárnu bezpečnosť. Gén MCR-1, ktorý kóduje enzým MCR-1, skutočne poskytuje antimikrobiálnu rezistenciu voči colistínu. Umožňuje prídanie fosfoetanolamínov ho zvyšku k lipopolysacharidovému (LPS) baktérii m lipidu A, čím ovplyvňuje jeho mechanizmus pôsobenia. Tento enzým rezistencie voči antibiotikám koexistuje s ďalšími, ako sú karbapenemázami a beta-laktamázy s rozšíreným spektrom, čo spôsobuje ťažkosti v predvídaní.

PINCIP

NG-Test® MCR-1 je rýchly imunotest pripravený na použitie, je určený na detekciu MCR-1 enzýmu v bakteriálnej kolónii, ktorý vznikol kultiváciou na agare (cez noc) a bol prenesený do extrakčného pufru.

Pri testovaní sa napipetuje vzorka do jamky na kazetu. Vzorka migruje k podložke s konjugátom a pokiaľ sú prítomné MCR-1 enzýmy, tak reaguje s označenými anti-MCR-1 myšimi monoklonálnymi protilátkami. Komplex migruje po nitrocelulózovej membráne kapilárnymi silami a reaguje s anti-MCR-1 myšími monoklonálnymi protilátkami immobilizovanými na membráne v testovacej oblasti „T“.

Kontrolná čiara C je tvorená značeným streptavidínom a monoklonálnymi protilátkami reagujúcimi s biotín-BSA a kozími anti-myšími polyklonálnymi protilátkami immobilizovanými na membráne.

Pokiaľ je vzorka pozitívna na MCR-1, v testovacej oblasti „T“ sa objaví červená čiara a tiež v kontrolnej oblasti „C“. Pokiaľ je vzorka negatívna, objaví sa iba jedna čiara v kontrolnej oblasti „C“.

REAGENCIA A MATERIÁL DODANÝ V SÚPRAVE

Každá súprava obsahuje:

- 20 testovacích kaziet v aluminiíovom obale s vysušacím balíčkom
- 20 Eppendorfiiek
- 20 jednorazových 100 µl pipiet
- 1 roztok extrakčného pufru v plastovej fľaške (4,5 ml)
- 1 návod na použitie

MATERIÁL POTREBNÝ, ALE NIE JE SUČASŤOU SÚPRAVY

stopky • jednorazové rukavice • vortex • očko

UPOZORNENIA

- In vitro diagnostický test. Iba pre profesionálne použitie.
- Všetky operácie musia byť vykonané v sáde so správnou laboratórnou praxou.
- Nepoužívajte po dátume expirácie.
- Kazeta musí až do použitia zostať v obale.
- So vzorkami zaobchádzajte ako s potenciálne infekčnými.

- Po použití kazetu zlikvidujte ako infekčný odpad.
- Kazetu nepoužite opakovane.

USKLADNENIE A STABILITA

Testovacie platničky skladujte v neporušenom obale medzi 4 a 30°C. Nezamrazujte. Súprava je stabilná do dátumu expirácie, ktorý je uvedený na obale súpravy.

KULTIVÁCIA A VZORKOVANIE

Vzorky na testovanie sa získajú podľa štandardných mikrobiologických postupov. Kolónia sa získava kultiváciou na agare, potom sa suspenduje v extrakčnom pufru, ktorý sa nachádza v súprave. Veľmi sa odporúča používať čerstvé kolónie baktérií na to, aby bolo testovanie optimálne.

Odporúčané médiá kultivácie:

Luria Broth (LB) a LB agar, Trypticase soja agar (TSA), Mueller Hinton (MH) agar a URI-4, Columbia agar +5% konskej krvi, ChromIDTM ESBL agar, ChromIDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG) agar.

PRACOVNÝ POSTUP

- 1 / Dajte si jednorazové rukavice.
- 2 / Nechajte súpravu vytemperovať pri izbovej teplote aspoň 10 minút.

Príprava vzorky:

- 1 / Do jednej z eppendorfiiek zo súpravy nakvapkajte 5 kvapiek (150µL) extrakčného pufru.
- 2 / Z kultivácie na agare odoberte pomocou očka kolóniu a potom ju suspendujte v eppendorfke obsahujúcej 150µL extrakčného pufru.
- 3 / Zavrite eppendorfiuku.
- 4 / Pred použitím pre homogenizáciu vortextujte.

Vykonalenie testu:

- 1 / Otvorte obal a vyberte kazetu. Po otvorení ihneď vykonajte test.
- 2 / Pomocou pipety zo súpravy napipetujte 100µL pripravenej zmesi (vzorka musí byť po čiernej čiarku, ktorá indikuje, že pipeta nasala presne 100µL) do jamky pre vzorku, ktorá je označená „S“.
- 3 / Výsledok odčítajte po 15 minútach a interpretujte ho podľa postupu.

POZNÁMKA: Neinterpretujte výsledok po 20 minútach, keďže potom môžete získať falošne pozitívny výsledok.

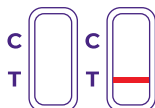
INTERPRETÁCIA VÝSLEDKU**NEGATÍVNY****Negatívny výsledok**

Pokiaľ sa objaví iba jedna červená čiara v kontrolnej oblasti (C): vzorka neobsahuje žiadny MCR-1 enzým, alebo iba v nedetekovateľnom množstve, a výsledok je interpretovaný ako negatívny.

**POZITÍVNY****Pozitívny výsledok**

Pokiaľ sa v kontrolnej oblasti (C) objaví jedna čiara a jedna čiara v testovacej oblasti (T): vzorka obsahuje MCR-1 enzým a výsledok je interpretovaný ako pozitívny.

POZNÁMKA: Intenzita červenej čiary (čiary) môže byť rôzna v závislosti od koncentrácie MCR-1 enzýmu prítomného vo vzorke. Aj slabá čiara musí byť považovaná za pozitívny výsledok.



NEPLATNÝ

Neplatný výsledok

Pokiaľ sa v kontrolnej oblasti (C) neobjaví červená čiara, výsledok testu je neplatný. Najčastejším dôvodom býva nedostatočný objem vzorky alebo nedodržený pracovný postup. Tiež môže byť poškodená testovacia súprava. Test zopakujte s novou kazetou. Pokiaľ problém pretrváva, súpravu už nepoužívajte a kontaktujte distribútora.

KONTROLA KVALITY

V teste je zahrnutá interná kontrola kvality. Pokiaľ sa objaví kontrolná čiara, potvrdzuje táto, že bolo použité dostatočné množstvo vzorky a že pracovný postup bol dodržaný.

OBMEDZENIA

Tento test je kvalitatívnym stanovením, takže dostanete iba kvalitatívny výsledok. Tento test sa používa s cieľom rýchlej identifikácie pacientov s rezistenciou na colistín antibiotiká. Získané výsledky musia byť potvrdené alternatívnymi alebo komplementárnymi diagnostickými postupmi. Pozitívny alebo negatívny výsledok nevyučuje prítomnosť iných mechanizmov antibiotickej rezistencie.

CHARAKTERISTIKY TESTU**Detekčný limit:**

Detekčný limit bol stanovený pomocou purifikovaného rekombinantného MCR-1 enzýmu a bol stanovený na 300 pg/mL.

Validácia na referenčnej kmeňovej banke:

NG-Test® MCR-1 bol hodnotený na 44 klinických kmeňoch v NRC Kremlin Bicêtre Paris (Národné referenčné centrum), 123 klinických kmeňoch v ANSES (Národné agentúra pre zdravotnú bezpečnosť) Lyon a 117 klinických kmeňoch v NRC Clermont Ferrand. Celkovo bolo hodnotených 284 kmeňov.

Skřížená reaktivita:

Všetky výsledky boli korelované s genotypom kmeňov stanovených PCR analýzou. NG-Test® MCR-1 detekuje niektoré varianty MCR-2.

Tabuľka 1: Výsledky získané v NRC Kremlin Bicêtre

NG•TEST® MCR-1	STAV		
	POZITÍVNE	NEGATÍVNE	CELKOM
	POZITÍVNE	25	0
NEGATÍVNE	3 (mcr-2)	16	19
CELKOM	28 (3 mcr-2 detekované)	16	44

CITLIVOSŤ	100%	INTERVAL SPOĽAHLIVOSŤ 95% [86.7% ; 100%]
ŠPECIFICKOSŤ	81.25%	INTERVAL SPOĽAHLIVOSŤ 95% [62.4% ; 94.5%]

Tabuľka 2: Výsledky získané v NRC Clermont-Ferrand

NG•TEST® MCR-1	STAV		
	POZITÍVNE	NEGATÍVNE	CELKOM
	POZITÍVNE	17	0
NEGATÍVNE	0	100	100
CELKOM	17	100	117

CITLIVOSŤ	100%	INTERVAL SPOĽAHLIVOSŤ 95% [81.6% ; 100%]
ŠPECIFICKOSŤ	100%	INTERVAL SPOĽAHLIVOSŤ 95% [96.3% ; 100%]

Tabuľka 3: Výsledky získané v ANSES Lyon

NG•TEST® MCR-1	STAV		
	POZITÍVNE	NEGATÍVNE	CELKOM
	POZITÍVNE	59	0
NEGATÍVNE	0	64	64
CELKOM	59	64	123

CITLIVOSŤ	100%	INTERVAL SPOĽAHLIVOSŤ 95% [93.9% ; 100%]
ŠPECIFICKOSŤ	100%	INTERVAL SPOĽAHLIVOSŤ 95% [94.3% ; 100%]

Tabuľka 4: Celkové výsledky pre MCR-1 získané na troch miestach

NG•TEST® MCR-1	STAV		
	POZITÍVNE	NEGATÍVNE	CELKOM
	POZITÍVNE	101	0
NEGATÍVNE	3 (mcr-2)	180	183
CELKOM	104	180	284

CITLIVOSŤ	100%	INTERVAL SPOĽAHLIVOSŤ 95% [96.3% ; 100%]
ŠPECIFICKOSŤ	98.3%	INTERVAL SPOĽAHLIVOSŤ 95% [95.3% ; 99.4%]

LITERATÚRA

- Gao R et al. Dissemination and Mechanism for the MCR-1 Colistin Resistance. PLoS Pathogens. 2016; 12(11).
- Centers for Disease Control and Prevention. Newly Reported Gene, mcr-1, Threatens Last-Resort Antibiotics. Antibiotic/Antimicrobial Resistance: AR Solutions in Action. 30 November 2016.
- Ye H et al. Diversified mcr-1-harboring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. MBio. 2016; 7(2).
- Paterson DL et al. Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):132-133.
- Hu Y et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2): 146-147.
- Liu YY et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1

in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):161-168.

SYMBOLY



Obsah pre
20 analýz



Dátum
expirácie



30°C

Teplotný limit



Diagnostická
zdravotnícka
pomôcka *in vitro*



Nepoužívajte
opakovane



Číslo šarže



Katalógový
odkaz



Pozrite si návod
na použitie



Výrobca



Tento test bol vyvinutý v spolupráci s CEA*

*Francúzska komisia pre alternatívne energie a atómovú energiu je kľúčovým hráčom vo výskume, vývoji a inováciách.

USO PRETENDIDO

O **NG-Test® MCR-1** é um imunoenensaio qualitativo rápido para a deteção da enzima MCR-1 em colónia bacteriana obtida a partir de cultura. É um ensaio de diagnóstico in vitro, apenas para uso profissional, que ajuda na identificação rápida de bactérias resistentes a antibióticos.

RESUMO

A presença de estirpes bacterianas multiresistentes Gram-negativas representa uma ameaça crescente e global. Estas constituem um aumento de infeções nosocomiais em meio hospitalar. A Polimixina E (colistina) é um antibiótico considerado como uma última linha de defesa contra infeções causadas por estirpes resistentes.

O aparecimento do gene MCR-1 (resistência à colistina mobilizada) no genoma de plasmídeos bacterianos coloca em questão o uso da colistina.

Este gene foi descoberto pela primeira vez na China em 2011 e está presente até hoje em cerca de 18 países. A disseminação global é um desafio em termos de segurança sanitária. De facto, o gene MCR-1 que codifica a enzima MCR-1 confere uma resistência antimicrobiana à colistina. Permite a adição de um resíduo de fosfoetanolamina às bactérias de lipopolissacarídeos (LPS) tipo A e inibe desta forma a ligação da colistina ao LPS, afetando assim o seu mecanismo de funcionamento. Esta enzima de resistência a antibióticos coexiste com outras, como as carbapenemases e as β-lactamases de espectro alargado, causando um problema difícil de prever.

PRINCÍPIO

O **NG-Test® MCR-1** é um imunoenensaio rápido pronto a utilizar, para a deteção da enzima MCR-1 em colónia bacteriana amostrada num meio de ágar sólido após cultura (uma noite) e processada num tampão de extração.

O ensaio é realizado distribuindo a amostra no poço da cassetete. A amostra migra em direção ao bloco conjugado e, se presente, as MCR-1 enzimas reagem com anticorpos monoclonais marcados de murganho anti-MCR-1. O complexo migra através da membrana de nitrocelulose por capilaridade e interage com os anticorpos monoclonais de murganho anti-MCR-1 imobilizados na membrana, na região de teste "T".

A linha de controlo C, é formada por estreptavidina marcada e anticorpos monoclonais que reagem com biotina-BSA e anticorpos policlonais de cabra anti murganho imobilizados na membrana.

Se a amostra for positiva para MCR-1, irá aparecer uma linha vermelha na região de teste "T" e na região de controlo "C" da membrana. Caso contrário, apenas irá aparecer uma linha vermelha na região de controlo "C". Caso contrário, apenas vai aparecer uma linha vermelha na zona de controlo.

REAGENTES E MATERIAIS FORNECIDOS

Cada kit contém:

- 20 Cassettes de teste em bolsas de alumínio com dessecante
- 20 Tubos Eppendorf
- 20 Pipetas descartáveis de 100µL
- 1 Solução tampão de extração num frasco de plástico (4,5 mL)
- 1 Instruções de utilização

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Temporizador • Luvas de uso único • Ansa • Vórtex

PRECAUÇÕES

- Teste de diagnóstico in vitro. Apenas para uso profissional.
- Todas as operações devem ser realizadas de acordo com as boas práticas de laboratório.
- Não utilize após o prazo de validade.
- Os dispositivos devem permanecer nas bolsas seladas até que sejam usados.

- Manuseie as amostras como se fossem potencialmente infecciosas.
- Após o uso, descarte o dispositivo num contentor de resíduos infecciosos.
- Não reutilize o dispositivo de transferência.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Guarde os dispositivos nos seus sacos selados entre 4 e 30°C. Não congelar. Os kits são estáveis até a data de validade indicada em todos os kits.

CULTURA E AMOSTRAGEM

As amostras a serem testadas devem ser obtidas e manuseadas de acordo com os procedimentos microbiológicos padronizados. Uma colónia irá ser colhida de uma cultura sólida à base de ágar, seguidamente será suspensa no tampão de extração fornecido no kit. É altamente recomendável utilizar colónias bacterianas frescas para que o desempenho do ensaio seja o ideal.

Meios de cultura recomendados:

Luria Broth (LB) e ágar LB, ágar Trypticase soja (TSA), ágar Mueller Hinton (MH) e URI-4, ágar Columbia + 5% sangue de cavalo, ágar ChromIDTM ESB, ágar ChromIDR CARBA SMART, Drigalski (DRIG).

PROCEDIMENTO OPERACIONAL

- 1 / Utilizar luvas de proteção.
- 2 / Trazer os componentes do kit à temperatura ambiente durante pelo menos 10 minutos.

Preparação da amostra

- 1 / Dispensar 5 gotas (150µL) de tampão de extração num dos microtubos fornecidos no kit.
- 2 / A partir de uma cultura sólida à base de ágar, recolha uma colónia com uma ansa e, em seguida, suspenda-a no microtubo que contém 150µL de tampão de extração.
- 3 / Feche o microtubo.
- 4 / Vórtex para homogeneizar a mistura antes de usar.

Execução do ensaio

- 1 / Abra a bolsa e retire o dispositivo. Depois de aberto, use o teste imediatamente.
- 2 / Usando a pipeta fornecida, adicione 100µL da mistura preparada (a amostra deve alcançar a linha preta indicada na pipeta para aspirar com precisão 100µL) no poço da amostra identificado com "S".
- 3 / Leia os resultados após 15 minutos e interprete-os como indicado abaixo.

NOTA: Não interprete os resultados do teste após 20 minutos, pois estes possivelmente podem variar, causando resultados falsos positivos.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS



NEGATIVO

Resultado negativo

Se apenas aparecer uma linha vermelha na região de controlo (C); a amostra não contém a enzima MCR-1 ou nível não detetável desta e deve ser interpretado como um resultado negativo.

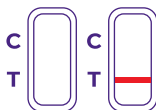


POSITIVO

Resultado positivo

Se duas linhas vermelhas aparecerem, uma na região de controle (C) e outra na região de teste (T): a amostra contém a enzima MCR-1 e deve ser interpretada como um resultado positivo.

NOTA : A intensidade da(s) linha(s) de teste vermelha pode variar dependendo da concentração do nível de enzima MCR-1 na amostra. Uma linha fraca deve ser considerada como um resultado positivo.



INVÁLIDO

Resultado inválido

Se a linha de controle (C) não aparecer, o resultado do teste é inválido. Volume de amostra insuficiente ou um procedimento incorreto são os motivos mais prováveis de falha na linha de controle.

Podem ter ocorrido deterioração do kit de teste. Repita o procedimento usando um novo teste. Se o problema persistir, não reutilize o kit e entre em contato com seu distribuidor.

CONTROLO DE QUALIDADE

Está incluído um controlo interno no teste. Quando a linha de controlo se desenvolve, confirma que o volume da amostra foi suficiente e o procedimento estava correto.

LIMITAÇÕES

Este teste é um ensaio qualitativo, por isso não pode produzir qualquer resultado quantitativo.

Este teste deve ser usado como uma ajuda para a identificação rápida de doentes com resistência a antibióticos colistínicos. Os resultados obtidos devem ser confirmados com procedimentos de diagnóstico alternativos ou complementares.

Um teste positivo ou negativo não exclui a presença de outros mecanismos de resistência a antibióticos.

DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS**Limite de deteção:**

O limite de deteção foi determinado utilizando uma enzima MCR-1 recombinante purificada e avaliada a 300 pg/mL.

Validação num banco de estirpe de referência:

O NG-Test® MCR-1 foi avaliado em 44 estirpes clínicas no NRC Kremlin Bicêtre Paris (Centro de Referência Nacional), 123 estirpes clínicas na ANSES (Agência Nacional de Segurança da Saúde) Lyon e 117 estirpes clínicas no NRC Clermont Ferrand.

Foram avaliadas um total de 284 estirpes.

Reatividade cruzada:

Todos os resultados foram correlacionados com o genótipo das estirpes determinadas pela análise de PCR.

O NG-Test® MCR-1 deteta algumas variantes do MCR-2.

Tabela 1: Resultados obtidos no NRC Kremlin Bicêtre

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG-TEST® MCR-1	POSITIVO	25	0	25
	NEGATIVO	3 (mcr-2)	16	19
	TOTAL	28 (3 mcr-2 detetados)	16	44

SENSIBILIDADE	100%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [86.7% ; 100%]
ESPECIFICIDADE	81.25%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [62.4% ; 94.5%]

Tabela 2: Resultados obtidos no NRC Clermont-Ferrand

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG-TEST® MCR-1	POSITIVO	17	0	17
	NEGATIVO	0	100	100
	TOTAL	17	100	117

SENSIBILIDADE	100%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [81.6% ; 100%]
ESPECIFICIDADE	100%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [96.3% ; 100%]

Tabela 3: Resultados obtidos na ANSES Lyon

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG-TEST® MCR-1	POSITIVO	59	0	59
	NEGATIVO	0	64	64
	TOTAL	59	64	123

SENSIBILIDADE	100%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [93.9% ; 100%]
ESPECIFICIDADE	100%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [94.3% ; 100%]

Tabela 4: Resultados gerais dos três locais para o MCR-1

		ESTADO		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
NG-TEST® MCR-1	POSITIVO	101	0	101
	NEGATIVO	3 (mcr-2)	180	183
	TOTAL	104	180	284

SENSIBILIDADE	100%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [96.3% ; 100%]
ESPECIFICIDADE	98.3%	INTERVALO DE CONFIANÇA 95% [95.3% ; 99.4%]

BIBLIOGRAFIA

1. Gao R et al. Dissemination and Mechanism for the MCR-1 Colistin Resistance. PLoS Pathogens. 2016; 12(11).
2. Centers for Disease Control and Prevention. Newly ReportedGene, mcr-1, Threatens Last-Resort Antibiotics. Antibiotic/Antimicrobial Resistance: AR Solutions in Action. 30 November 2016.
3. Ye H et al. Diversified mcr-1-harboring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. MBio. 2016; 7(2).
4. Paterson DL et al. Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):132-133.
5. Hu Y et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. Lancet Infect Dis. 2016;16(2): 146–147.
6. Liu YY et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016; 16(2):161-168.

SÍMBOLES

	Conteúdo para 20 testes		Prazo de validade		Limite de temperatura
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Não reutilizar		
	Número de lote		Referência de catálogo		
	Consulte as instruções de utilização		Fabricante		



Este teste foi desenvolvido em colaboração com o CEA.*

*A Comissão de Energias Alternativas e Energia Atómica Francesa é um participante fundamental em investigação, desenvolvimento e inovação.

For products sold in Australia:

Distributor: Cell biosciences
Pty Ltd
PO Box 243, Heidelberg, VIC 3084
Fax: 03 8678 3956
Mobile: 0394 167 177
Web: www.cellbiosciences.com.au

Note: any serious incident that occurs in
relation to the device should be reported
to the manufacturer and to the
Therapeutic Goods Agency.

TGA:

TGA, PO Box 100, Woden ACT 2606,
Australia.
Website: <https://www.tga.gov.au/>
Email: info@tga.gov.au
Fax: 02 6203 1605